

Research Article

The Effect of a Combination of Penicillin, Ciprofloxacin, Tetracycline, and Lincomycin Antibiotics on Reducing Regurgitation and Treating Segmental Contraction in the Eastern Leech (*Hirudo orientalis*)

Sepide Firouzbakhsh ¹, Mohammad Sudagar ^{*1}, Sajedeh Heydari ¹, Mobin Maghsoudlou Kamali ¹, Mahyar Yousefi Siahkalroudi ²

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

² Department of Aquatic Animal Disease Specialty, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Key Words

Eastern leech
Antibiotic combination
Regurgitation
Ciprofloxacin
Tetracycline
Lincomycin

Abstract

Introduction: Regurgitation of blood and body constriction are among the main causes of mortality in leech breeding and rearing farms. This study was conducted to determine the effect of a selected antibiotic combination on reducing the incidence of regurgitation and body constriction in the eastern medicinal leech (*Hirudo orientalis*).

Materials & Methods: The experiment was carried out over four weeks using 90 specimens of *H. orientalis*. The leeches were divided into three groups: control (without antibiotic), Treatment 1 (cosmetic-sized leeches exposed to the combined antibiotic solution), and Treatment 2 (medical-sized leeches exposed to the combined antibiotic solution). Each treatment was conducted in triplicate. The antibiotic mixture consisted of penicillin, ciprofloxacin, tetracycline, and lincomycin at doses of 1, 1, 2, and 4 g, respectively. From this mixture, 2 g was weighed, dissolved in 2.5 L of water, and then 260 mL of the resulting solution was added to each treatment. The final concentrations of antibiotics in the treatment solution were as follows: penicillin and ciprofloxacin each at 11.5 mg/L, tetracycline at 23 mg/L, and lincomycin at 46 mg/L. Daily observations included locomotor activity, regurgitation, body constriction, and recovery to the normal state.

Results: The results showed that regurgitation after feeding was completely stopped in Treatments 1 and 2, whereas it was continuously observed in the control group. Improvement in body constriction symptoms was observed in approximately 20% of leeches in Treatments 1 and 2, showing signs of reduced swelling, color normalization, and recovery to the natural condition. However, 80% of the leeches still showed mild to moderate symptoms. The results also indicated that the recovery rate in cosmetic-sized leeches was faster than in medical-sized ones. Data were analyzed using ANOVA to determine the significance of differences ($\alpha = 0.05$).

Conclusion: The findings demonstrate the beneficial effects of the antibiotic combination in controlling symptoms associated with bacterial infections in leeches, particularly regurgitation.

Article info

* Corresponding Author's email:
sudagar_m@gau.ac.ir

Received: 1 December 2025

Reviewed: 11 January 2026

Revised: 6 March 2026

Accepted: 11 April 2026

مقاله علمی - پژوهشی

اثر ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین بر بالا آوردن خون و بندی شدن بدن در زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*)

سپیده فیروزبخش^۱، محمد سوداگر^{۲*}، ساجده حیدری^۱، مبین مقصودلوکمالی^۱، مهیار یوسفی‌سیاه‌کلرودی^۲

^۱ گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
^۲ گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: بالا آوردن خون و بندی شدن بدن زالوها از جمله عوامل اصلی در بروز مرگ‌ومیر در مزارع تکثیر و پرورش زالوها می‌باشد. این مطالعه با هدف تعیین اثر ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی بر بالا آوردن خون و بندی شدن بدن در گونه زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*) انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در مدت ۳ ماه با استفاده از ۹۰ قطعه زالوی شرقی در سه گروه تقسیم شدند: گروه شاهد (بدون آنتی‌بیوتیک)، تیمار ۱ (زالوهای کبریتی-آرایشی در معرض محلول آنتی‌بیوتیک ترکیبی) و تیمار ۲ (زالوهای طبی در معرض محلول آنتی‌بیوتیک ترکیبی). هر تیمار در ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده شامل: پنی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین به ترتیب با مقادیر ۱، ۱، ۲ و ۴ گرم ترکیب شدند. از این ترکیب، ۲ گرم توزین و در ۲/۵ لیتر آب حل گردید؛ سپس ۲۶۰ میلی‌لیتر از محلول حاصل برداشته و به هر تیمار افزوده گردید. دوز هر آنتی‌بیوتیک در محلول نهایی شامل: پنی‌سیلین و سیپروفلوکساسین هر یک با دوز ۱۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر، تتراسایکلین با دوز ۲۳ میلی‌گرم بر لیتر و لینکومایسین با دوز ۴۶ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید. مشاهدات روزانه شامل: فعالیت‌های حرکتی، بالا آوردن خون، بندی شدن بدن و بازگشت به وضعیت طبیعی ثبت گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که بالا آوردن خون پس از تغذیه زالوها، در تیمار ۱ و ۲ به طور کامل متوقف شد، در حالی که بالا آوردن خون در گروه شاهد به طور مستمر مشاهده گردید. بهبود علائم بندی شدن بدن، در حدود ۲۰ درصد از زالوها در تیمار ۱ و ۲ مشاهده و علائم التهابی شامل: کاهش تورم، تغییر رنگ و بازگشت به حالت طبیعی را نشان دادند. حدود ۸۰ درصد از زالوها هم‌چنان دارای علائم خفیف تا متوسط بودند. نتایج نشان داد سرعت بهبودی در زالوهای کبریتی و آرایشی سریع‌تر از زالوهای طبی بود. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA برای تعیین معنی‌داری تفاوت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند ($\alpha=0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان‌دهنده اثرات مفید ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده بر بندی شدن بدن و به خصوص بالا آوردن خون می‌باشد.

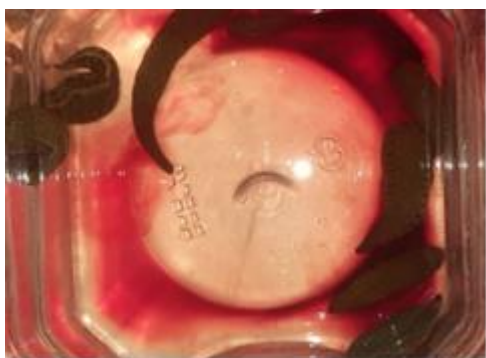
زالوی شرقی
بالا آوردن خون
پنی‌سیلین
سیپروفلوکساسین
تتراسایکلین
لینکومایسین

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
sudagar_m@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۰ آذر ۱۴۰۴
تاریخ داوری: ۲۱ دی ۱۴۰۴
تاریخ اصلاح: ۱۵ اسفند ۱۴۰۴
تاریخ پذیرش: ۲۲ فروردین ۱۴۰۵

مقدمه

آن‌ها در کنترل عفونت‌های باکتریایی زالوها انجام شده است. استفاده از داروهایی مانند: سفتریاکسون (۱۸)، لینکومایسین (۱۹)، آموکسی‌سیلین، سیپروفلوکساسین (۲۰) و هم‌چنین، عصاره‌های گیاهی، به‌صورت منفرد یا ترکیبی، در برخی از این مطالعات گزارش شده است (۲۱). با این وجود، اطلاعات موجود در خصوص تأثیر این ترکیبات بر شاخص‌های فیزیولوژیک و رفتاری زالوها، به‌ویژه در گونه زالوی شرقی، هنوز ناکافی و پراکنده است. هم‌چنین، مقایسه اثربخشی درمان در میان اندازه‌های مختلف زالوهای پرورشی کم‌تر مورد بررسی قرار گرفته است. از جمله آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در حوزه آبرزی پروری، می‌توان به پنی‌سیلین سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین اشاره کرد. پنی‌سیلین به‌عنوان یکی از نخستین آنتی‌بیوتیک‌های کشف‌شده، با مهار آنزیم ترانس‌پپتیداز، ساخت دیواره سلولی باکتری‌های گرم‌مثبت را متوقف می‌سازد و اثر باکتری‌کشی دارد (۲۲). سیپروفلوکساسین، از گروه فلوروکینولون‌ها، با مهار آنزیم‌های دخیل در همانندسازی DNA باکتریایی، موجب توقف رشد باکتری‌ها می‌شود (۲۳، ۲۴). تتراسایکلین با مهار سنتز پروتئین باکتریایی، فعالیت باکتريواستاتیک داشته و به دلیل طیف گسترده اثربخشی، یکی از پرکاربردترین داروها در درمان بیماری‌های باکتریایی آبرزیان محسوب می‌شود (۲۵، ۲۶). لینکومایسین از طریق اتصال به زیرواحد ۵۰S ریبوزوم باکتریایی، مانع ترجمه پروتئین و رشد سلول‌های باکتری می‌گردد و براساس شرایط، اثر باکتريواستاتیک یا باکتريوسیدال دارد (۱۹). کاربرد هم‌زمان این آنتی‌بیوتیک‌ها با ایجاد اثرات هم‌افزایی، می‌تواند اثربخش بودن درمان را به‌طور معنی‌داری ارتقا داده و خطر ایجاد مقاومت باکتریایی را کاهش دهد.



شکل ۱: بالا آوردن خون پس از تغذیه در پت زالوی شرقی

Figure 1: Vomiting blood after feeding in container of the eastern leech

مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر ترکیب چهار آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین بر کاهش علائم بالا آوردن خون و بندی شدن بدن در زالوی شرقی انجام شده است. در این تحقیق، واکنش دو گروه زالوهای کبریتی-آرایشی و زالوهای طبی به درمان با این ترکیب مقایسه گردید تا روند بهبودی و

زالدورمانی یکی از کهن‌ترین شیوه‌های درمان در طب سنتی است که از دوران باستان تاکنون در درمان بیماری‌ها و کاهش درد و التهاب در بدن انسان کاربرد داشته است (۱، ۲). در سال‌های اخیر، با شناسایی ترکیبات زیست‌فعال موجود در بزاق زالو مانند: هیرودین، کالین، هیالورونیداز و فاکتورهای ضدالتهاب، کاربرد این موجودات در پزشکی مدرن، به‌ویژه در زمینه جراحی پلاستیک، ترمیم زخم، جراحی عروق و اعصاب بار دیگر مورد توجه قرار گرفته است (۳، ۴، ۵). در میان گونه‌های مختلف زالو، زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*) به دلیل ویژگی‌های درمانی و بومی ایران بودن، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۶، ۷). زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*) به دلیل کاربردهای گسترده در طب سنتی و نوین به یکی از منابع با ارزش در تجارت جهانی آبرزیان تبدیل شده و تقاضای چشمگیری در بازارهای داخلی و خارجی دارد (۸، ۹). با این حال، تکثیر و پرورش زالوی شرقی با چالش‌هایی همراه است که از جمله آن‌ها می‌توان به بالا آوردن خون (شکل ۱) و اختلالات ریخت‌شناختی مانند بندی شدن بدن اشاره کرد. این پدیده‌ها معمولاً در پاسخ به عوامل استرس‌زا از جمله: تغییرات دمایی، افت اکسیژن، آلودگی‌های باکتریایی و تراکم بالا رخ می‌دهند (۱۰، ۱۱). پس از تغذیه زالوها با خون، برخی تغییرات فیزیولوژیکی در بدن آن‌ها مشاهده می‌شود. بالا آوردن خون پس از تغذیه، منجر به تغییر در کیفیت آب، افزایش آمونیاک و کاهش اکسیژن محلول می‌گردد که در نهایت بر سلامت و بقای زالوها اثر منفی دارد (۱۲، ۱۳). هم‌چنین، بندی شدن بدن به پدیدار شدن ناهنجاری‌هایی در بندهای بدن زالو گفته می‌شود که ممکن است به‌صورت تورم، چین خوردگی، جمع‌شدگی یا بیرون‌زدگی‌های غیرعادی در بخش‌هایی از بدن مشاهده شود و معمولاً با افت عملکرد حرکتی و تغذیه‌ای زالو همراه است. زالوهای مبتلا به ناهنجاری‌های ریخت‌شناختی معمولاً دچار اختلالات رفتاری از جمله: کاهش فعالیت‌های حرکتی، کاهش کارایی در فرآیند تغذیه از خون و افت توانایی در چسبندگی به سطح بدن میزبان می‌گردند (۱۴، ۱۶). شناسایی عوامل مؤثر بر این اختلالات و تدوین راهکارهای پیشگیرانه و درمانی از ضرورت‌های اساسی برای بهبود بازدهی در صنعت تکثیر و پرورش زالوها می‌باشد (۱۵، ۱۶). استفاده از آنتی‌بیوتیک به عنوان یکی از روش‌های رایج در درمان عفونت‌های باکتریایی، امروزه در مزارع تکثیر و پرورش زالو مورد توجه قرار گرفته است. با این وجود، به دلیل تنوع گونه‌های باکتریایی و به وجود آمدن مقاومت دارویی، بهره‌گیری از ترکیبات آنتی‌بیوتیکی به‌صورت هم‌زمان می‌تواند اثربخشی بیش‌تری نسبت به استفاده از یک داروی منفرد داشته باشد (۱۷). در سال‌های اخیر، مطالعات مختلفی پیرامون کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها یا ترکیب

میزان اثربخشی ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها در هر گروه مشخص گردد. یافته‌های حاصل می‌تواند مبنای تدوین پروتکل‌های استاندارد بهداشتی و درمانی در صنعت تکثیر و پرورش زالو قرار گیرد و به ارتقاء کیفیت و سلامت فرآیند پرورش کمک نماید. همچنین، نتایج تحقیق حاضر می‌تواند زمینه‌ساز انجام مطالعات گسترده‌تر در حوزه کنترل و درمان بیماری‌های باکتریایی در زالوی شرقی گردد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان آزمایش: این پژوهش در مرکز تحقیقات آبی

پروری شهید ناصر فضلی برآبادی، دانشکده شیلات و محیط‌زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان از فروردین تا تیر ۱۴۰۴ انجام شد.

تهیه زالو: در این پژوهش، تعداد ۹۰ قطعه زالوی شرقی به سه گروه شامل: اندازه‌های کبریتی-آرایشی، طبی و هم‌چنین گروه شاهد تقسیم شدند. زالوهای طبی دارای اندازه بزرگ‌تر نسبت به زالوهای کبریتی-آرایشی هستند. هر تیمار در ۳ تکرار در پت‌های ۱۰ لیتری با میزان آب ۳ لیتر مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌ها از یک مرکز تکثیر و پرورش زالوی معتبر تهیه گردیدند تا از یکسان بودن شرایط زیستی و سلامت اولیه اطمینان حاصل گردد. پس از انتقال زالوها به مرکز تحقیقات آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی، نمونه‌ها در یک دوره‌سازگاری قرار گرفتند تا اثرات ناشی از جابه‌جایی و استرس حمل و نقل به حداقل برسد. شرایط نگهداری شامل دمای مناسب آب، کیفیت شیمیایی مطلوب و تهویه کافی به‌طور مستمر بررسی گردید (جدول ۱).

جدول ۱: برخی از فاکتورهای کیفی آب مورد آزمایش

Table 1: Some of the tested water quality factors

The tested water quality factors	
Ambient temperature (degrees Celsius)	25±1
photoperiod	10 hours of light and 14 hours of darkness
pH	7.2±0.02
Water change	Once daily

تهیه خون: جهت تغذیه زالوها، حدود ۴ لیتر خون گاو استریل شده تهیه گردید. به‌منظور پیشگیری از انعقاد خون در طول مراحل حمل و نقل تا زمان تغذیه زالوها، از هیپارین به‌عنوان عامل ضدانعقاد خون استفاده گردید. به این منظور، یک ویال یک گرمی هیپارین با دوز معادل ۱۶۵۰ IU به‌ازای هر لیتر خون افزوده شد (۲۷، ۲۸، ۱۲). خون در شرایط دمایی کنترل‌شده در یخچال (دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد و تا زمان مصرف از تماس با نور مستقیم و نوسانات دمایی شدید محافظت گردید (۲۹).

تغذیه زالو: به‌منظور تغذیه زالوها، از ۰/۷ متر روده استریل‌شده گاو استفاده گردید. پس از انتقال خون تازه گاو به داخل روده، دو انتهای روده بسته تا از نشت خون جلوگیری شود. روده‌های آماده‌شده درون ظرفی حاوی آب گرم قرار گرفتند و دمای خون با استفاده از دماسنج اندازه‌گیری شد تا اطمینان حاصل شود که دما به ۳۷ درجه سانتی‌گراد، یعنی محدوده مطلوب برای تحریک اشتهای زالوها رسیده است. پس از رسیدن خون به دمای مناسب، روده‌های حاوی خون به داخل ظروف نگهداری زالوها منتقل شدند (۲۸). زالوها با استفاده از آروارهای سه‌شاخه که هر کدام دارای حدود ۱۰۰ دندان میکروسکوپی هستند، به سطح روده حاوی خون متصل شده و فرآیند تغذیه را آغاز کردند (۲۹، ۳۰). پس از اتمام مرحله تغذیه، زالوهای تغذیه‌شده به‌منظور جلوگیری از ایجاد پدیده هم‌نوع‌خواری از سایر زالوها جدا گردیدند (۳۱، ۱۸).

تهیه محلول آنتی‌بیوتیک‌ها: به‌منظور تهیه محلول آنتی‌بیوتیک‌ها، مقادیر مشخصی از پنی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین (هر گرم کیمیا لینکو ۴۰، حاوی ۴۵۴ میلی‌گرم لینکومایسین هیدروکلراید معادل ۴۰۰ میلی‌گرم لینکومایسین خالص است که از شرکت داروسازی کیمیا فام تهیه گردید). به‌ترتیب ۱، ۱، ۲ و ۴ گرم وزن شد. از مخلوط حاصل، ۲ گرم برداشته و در ۲/۵ لیتر آب حل گردید. سپس به هر تیمار، ۲۶۰ میلی‌لیتر از محلول آماده‌شده افزوده شد (۲۰). براین اساس، پس از افزودن محلول آنتی‌بیوتیک به دو لیتر آب هر تیمار، دوز نهایی آنتی‌بیوتیک‌ها شامل: پنی‌سیلین و سیپروفلوکساسین هر کدام با دوز ۱۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر، تتراسایکلین با دوز ۲۳ میلی‌گرم بر لیتر و لینکومایسین با دوز ۴۶ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردیدند.

طراحی آزمایش: ۹۰ قطعه زالوی شرقی به نه گروه ۱۰ تایی

تقسیم شدند؛ گروه شاهد: بدون مواجهه با آنتی‌بیوتیک‌ها (با ۳ تکرار)، تیمار ۱: زالوهای کبریتی-آرایشی در مواجهه با محلول آنتی‌بیوتیک‌ها (با ۳ تکرار) و تیمار ۲: زالوهای طبی در مواجهه با آنتی‌بیوتیک‌ها (با ۳ تکرار). به‌دلیل آن که پس از تغذیه، بالا آوردن خون و بندی شدن بدن در زالوها اتفاق می‌افتد، در این پژوهش بلافاصله پس از تغذیه زالوها با خون، مواجهه با آنتی‌بیوتیک‌ها در تیمارهای مورد آزمایش شروع و به‌مدت ۴ هفته ادامه یافت. هر روز آب پت‌ها تعویض و آب تازه کلرزدایی شده به آن‌ها اضافه می‌گردید (۱۸، ۳۲). فعالیت‌های حرکتی و بالا آوردن خون در زالوها به‌صورت روزانه مورد مشاهده و ثبت قرار گرفت. هم‌چنین، ارزیابی‌های بصری با هدف ارزیابی علائم بالینی از جمله: میزان تورم، تغییر رنگ نواحی پوست، بازگشت به وضعیت فیزیولوژیک طبیعی و روند بهبود علائم به‌صورت منظم ثبت گردید. در طول دوره، مشاهده شرایط زیستی

با استفاده از بسته نرم افزاری Office 2016 و نرم افزار Excel رسم خواهد شد.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که زالوهای تحت درمان با ترکیب آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین، علائم بالا آوردن خون از خود نشان ندادند (جدول ۲). این در حالی است که این رفتار به صورت مکرر در زالوهای گروه شاهد مشاهده شد. این یافته‌ها بیانگر اثربخش بودن ترکیب آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین در کنترل علائم مرتبط با عفونت‌های باکتریایی در جلوگیری از بالا آوردن خون است. در ارزیابی علائم التهابی مرتبط با بندی شدن بدن زالوها، تنها حدود ۲۰٪ از زالوهای تحت درمان با ترکیب آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین بهبودی کامل را نشان دادند (جدول ۳). در این زالوها، تورم، تغییر رنگ و بندی شدن بدن به طور کامل برطرف گردید (شکل ۳). با این حال، درصد قابل توجهی از زالوها (۸۰٪) هم چنان دارای علائم التهابی خفیف تا متوسط بودند. علاوه بر این، مقایسه روند بهبودی میان زالوی مورد مطالعه (زالوی طبی و زالوی کبریتی-آرایشی) نشان داد که پاسخ درمانی در زالوهای اندازه کبریتی-آرایشی سریع‌تر و قابل توجه‌تر بوده است (جدول ۴). به نظر می‌رسد، تفاوت‌های فیزیولوژیک و اندازه زالوها در حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند مؤثر باشد.

شامل: دما، نور و کیفیت آب ثابت نگه داشته شد تا تأثیر عوامل محیطی بر رفتار زالوها به حداقل برسد (۳۳، ۱۹). علاوه بر آن، برای افزایش دقت، از تصویربرداری روزانه جهت مستندسازی روند تغییرات فیزیکی استفاده شد. تعدادی از زالوهای بندی شده در شکل ۲ نشان داده شده‌اند.



شکل ۲: تصویر زالوهای شرقی با بدن بندی شده

Figure 2: The image of the eastern leeches with the deformed body

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از بسته نرم افزار SPSS (Version 22) انجام خواهد شد. داده‌ها ابتدا از نظر نرمال بودن با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی می‌شوند. طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح آماری کاملاً تصادفی بوده و توزیع داده‌های مورد بررسی با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون بهینه استفاده می‌شود. هم چنین، نمودارها

جدول ۲: نتایج مربوط به بالا آوردن خون پس از تغذیه

Table 2: Results of vomiting blood after feeding

Experimental group	Observation of vomiting blood	Incident Percentage	Description
Control	Observed (continuous)	up	Continuous throughout the trial period
Treatment 1 (match-cosmetic)	not observed	0	Complete cessation
Treatment 2 (Medical)	not observed	0	Complete cessation

جدول ۳: نتایج مربوط به بندی شدن بدن و بهبودی

Table 3: Results of body segmentation and symptoms of improvement

Experimental group	Improvement in quality and its process	The state of inflammatory symptoms	Percentage of mild to moderate symptoms	Percentage of complete recovery
Control	No improvement observed	Continuation of swelling, abnormal discoloration, and failure to return to normal state	100	0
Treatment 1 (match-cosmetic)	Faster recovery and faster return to normal conditions	Exiting segmentation mode in improved cases	80	20
Treatment 2 (Medical)	Slower recovery than treatment 1	Relative reduction in swelling and improvement in body color in some leeches	80	20

جدول ۴: مقایسه سرعت بهبودی بین اندازه‌های مختلف زالو

Table 4: Comparison of rate of healing between leech sizes

Size of leech	Speed of recovery	Statistical result (ANOVA, $\alpha=0.05$)
Treatment 1 (match-cosmetic)	Faster	Significant difference
Treatment 2 (Medical)	Slower	Significant difference

نشان داد حدود ۹۰-۷۰ درصد زالوها پس از استفاده از سفتریاکسون بهبود یافتند. لذا، استفاده از سفتریاکسون می‌تواند علاوه بر جلوگیری از بالا آوردن خون، سبب کاهش بندگی شدن در زالوی شرقی گردد. اگرچه ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش، مانع از بالا آوردن خون در زالوها گردید ولی کارایی و عملکرد سفتریاکسون را نداشت و تنها سبب درمان ۲۰ درصد از زالوهای بندگی گردید که با تحقیق بالا هم سو نبوده است. علت آن را شاید بتوان به تداخل دارویی آنتی‌بیوتیک‌ها نسبت داده و چون زالوها دارای میکروبیوم طبیعی خاصی هستند که به گوارش و سلامت عمومی‌شان کمک می‌کند، ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است میکروبیوم طبیعی را نابود کرده و دیس‌بیوز (اختلال میکروبی) ایجاد کند، که منجر به بندگی شدن بدن، بی‌اشتهایی، آلودگی آب و مرگ زودرس زالوها شود (۱۸). در پژوهشی دیگر تاثیر آنتی‌بیوتیک لینکومایسین بر بندگی شدن بدن در زالوی شرقی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این پژوهش برای پیشگیری از بندگی شدن بدن، درمان و جلوگیری از تلفات در زالوی شرقی از داروی لینکومایسین استفاده گردید. بدین منظور تعداد ۹۰ قطعه زالوی شرقی در اندازه‌های کبریتی، آرایشی و طبی هر کدام به تعداد ۳۰ قطعه، در سه تکرار، در پت‌هایی با حجم سه لیتر آب، توزیع، سپس لینکومایسین به میزان ۲ میلی‌گرم بر لیتر، پس از خون‌دهی زالوها، به ظروف افزوده گردید. نتایج نشان داد پس از گذشت چهار هفته ۹۰ درصد زالوهای کبریتی، ۸۰ درصد زالوهای آرایشی و ۶۰ درصد زالوهای طبی بندگی شده با استفاده از لینکومایسین بهبود یافتند. بنابراین، استفاده از لینکومایسین می‌تواند سبب کاهش بندگی شدن بدن و تلفات در زالوی شرقی گردد (۱۹). یافته‌های این پژوهش با نتایج ما در خصوص بالا آوردن خون هم‌راستا بوده ولی در روند بهبود بندگی شدن بدن زالوی شرقی هم‌سو نبوده است. علت شاید به دلیل آن باشد که استفاده هم‌زمان از یک آنتی‌بیوتیک باکتری استاتیک (مثل لینکومایسین) و یک آنتی‌بیوتیک مانند: پنی‌سیلین ممکن است باعث کاهش اثر باکتری‌کشی پنی‌سیلین شود. زیرا عملکرد پنی‌سیلین وابسته به تقسیم فعال سلولی است و لینکومایسین رشد باکتری را مهار می‌کند. با این حال، این موضوع به نوع باکتری، دوز و شرایط درمانی هم بستگی دارد. تداخل اثر باکتری‌کشی پنی‌سیلین و باکتری‌استاتیک لینکومایسین ممکن است باعث بروز مقاومت باکتریایی شود یا روند درمان را مختل کند. برخی از گونه‌های باکتری در حضور هر دو دارو ممکن است به شکل مقاوم در آمده و زالو دچار عفونت مزمن شود. علاوه بر این، زالوها توانایی متابولیسم و دفع داروها را مانند مهره‌داران ندارند، بنابر این اگر هر دو دارو هم‌زمان تجویز شوند، ممکن است مواد فعال آن‌ها در بدن



شکل ۳: زالوهای شرقی درمان شده

Figure 3: Treated eastern leeches

بحث

در تحقیقی، جهت پیشگیری از بالا آوردن خون در زالو، از آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون، پس از خون‌دهی به زالوها، استفاده شد. در طول دوره درمان و پس از آن، بالا آوردن خون در زالوها مشاهده نگردید. بنابراین، استفاده از سفتریاکسون می‌تواند سبب جلوگیری از بالا آوردن خون در زالوی شرقی گردد که نتایج این تحقیق با نتایج حاصل از تحقیق ما هم‌راستا بوده است (۱۸، ۳۲). در پژوهشی دیگر پس از تغذیه زالوها با خون، از آنتی‌بیوتیک لینکومایسین به مدت ۷ روز استفاده گردید که پس از آن بالا آوردن خون در زالوها مشاهده نگردید که با نتایج ما از این پژوهش هم‌خوانی دارد (۱۹). در تحقیقی دیگر تاثیر ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، آموکسی‌سیلین و سیپروفلوکساسین بر زالوی شرقی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از هر نوبت تغذیه زالوها با خون، غلظت‌های مشخص شده آنتی‌بیوتیک به تیمارهای مورد آزمایش اضافه گردید. یافته‌های پژوهش بیانگر اثربخش بودن ترکیب این آنتی‌بیوتیک‌ها بر کاهش میزان بالا آوردن خون و تلفات در زالوی شرقی در اندازه‌های مختلف بوده است که با یافته‌های پژوهش حاضر و استفاده از ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان زالو هم‌خوانی دارد (۲۰، ۱۸). در پژوهشی دیگر تاثیر ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، آموکسی‌سیلین و سیپروفلوکساسین بر زالوی شرقی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از هر نوبت تغذیه زالوها با خون، غلظت‌های مشخص شده آنتی‌بیوتیک‌ها به تیمارهای مورد آزمایش افزوده شد. یافته‌ها بیانگر اثربخش بودن مخلوط این آنتی‌بیوتیک‌ها بر کاهش بندگی شدن بدن و تلفات در زالوی شرقی در اندازه‌های مختلف بوده است (۲۰). یافته‌های این پژوهش با نتایج تحقیق ما در خصوص بالا آوردن خون هم‌راستا بوده است ولی در روند بهبود بندگی شدن بدن زالوها اختلاف داشته است. در تحقیق دیگری، جهت پیشگیری از بندگی شدن بدن و بهبود زالوها، از سفتریاکسون پس از خون‌دهی به زالوها، استفاده گردید. بعد از گذشت دو هفته، کاهش میزان بندگی شدن بدن زالوها و تلفات مشاهده گردید. نتایج

- Crude Leech Saliva Based on Its Anticancer, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Effects. *Molecular Biology*. 47(5): 328. <https://doi.org/10.3390/cimb47050328>.
3. **Firouzbakhsh, S. and Sudagar, M., 2024.** Review of reproduction and cocoon laying in leeches. *Ornamental Aquatics Journal*. 11(4): 53-64. doi: 10.22034/11.4.53 (In Persian)
 4. **Witwit, L.J., Ali, L.O. and Abbas, A.M., 2024.** A Critical Review of *Hirudo medicinalis* and Historical Aspects of Leech Therapy. *Medical Journal of Ahl al-Bayt University*. 3(1): 154-170. <https://doi.org/10.66068/mjaabu.v3i1.50>
 5. **Karasartova, D., Arslan-Akveran, G., Sensoz, S., Mumcuoglu, K.Y. and Taylan-Ozkan, A., 2025.** *Hirudo verbana* Microbiota Dynamics: A Key Factor in Hirudotherapy-Related Infections. *Microorganisms*. 13(4): 918. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13040918>
 6. **Saglam, N., 2018.** The effects of environmental factors on leeches. *Advances in Agriculture and Environmental Science*. 1(1): 00001. doi: 10.30881/aeoa.00001
 7. **Darabi-Darestani, K., Sari, A., Sarafrazi, A. and Utevsy, S., 2018.** Entrapped by the uneven central and Middle Eastern terrains: Genetic status of populations of *Hirudo orientalis* (Annelida, Clitellata, Hirudinida) with a phylogenetic review of the genus *Hirudo*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 121: 52-60. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.12.024>
 8. **Bidmal, H. and Sudagar, M., 2020.** Effect of two water-moss and peat soil environments on cocoon number, cocoon weight, and mortality rate of eastern leech (*Hirudo orientalis*). *Plasma and Biomarkers Journal*. 13(4): 39-48. ISSN: 9880-1735 (In Persian)
 9. **Ceylan, M., 2023.** Hirudinea Fauna of Lake Karagöl (Sındırgı-Bahkesir) and Lake Gölçük (BigadiçBahkesir): A New Record for Türkiye. *Acta Aquatica Turcica*. 19(3): 209-217. <https://doi.org/10.22392/actaquat.1068061>.
 10. **Kvist, S., Manzano-Marin, A., de Carle, D., Trontelj, P. and Siddall, M.E., 2020.** Draft genome of the European medicinal leech *Hirudo medicinalis* (Annelida, Clitellata, Hirudiniformes) with emphasis on anti coagulants. *Scientific reports*. 10(1): 9885. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-66749-5>.
 11. **Wang, H., Meng, F.M., Jin, S.J., Gao, J.W., Tong, X.R. and Liu, Z.C., 2022.** A new species of medicinal leech in the genus *Hirudo* Linnaeus, 1758 (Hirudiniformes, Hirudinidae) from Tianjin City, China. *ZooKeys*. 1095: 83. doi: 10.3897/zookeys1095.74071
 12. **Manav, M., Ceylan, M. and Büyükçapar, H.M., 2019.** Investigation of reproductive efficiency, growth

زالو تجمع یابند و موجب آسیب بافتی، اختلال حرکتی یا مرگ شوند (۲۰). نتایج هم چنین نشان داد روند بهبود بندگی شدن بدن در زالوهای کبریتی بهتر از آرایشی و طبی می باشد که با تحقیق حاضر هم خوانی دارد.

نتیجه گیری: به طور کلی، یافته های این پژوهش نشان دهنده اثربخش بودن ترکیب آنتی بیوتیک های پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین در کنترل علائم ناشی از عفونت در زالوها، به ویژه در کنترل بالا آوردن خون پس از تغذیه است (جدول ۲). نتایج نشان دادند که فقط در حدود ۲۰٪ از زالوهای تحت درمان، بهبودی کامل مشاهده شد و ۸۰٪ از زالوها هم چنان دارای علائم التهابی بودند (جدول ۳). این وضعیت می تواند بیانگر ضرورت تکرار یا تداوم درمان در بازه های زمانی طولانی تر برای دستیابی به بهبودی کامل در تمامی نمونه ها باشد. میزان پاسخ درمانی در زالوهای بزرگ تر (اندازه طبی) در مقایسه با اندازه (کبریتی-آرایشی) به طور معنی داری کم تر بود. این کاهش پاسخ می تواند ناشی از کاهش نفوذپذیری داروهای آنتی بیوتیکی در بافت های حجیم تر مرتبط با اندازه یا افزایش بار میکروبی در اندازه های بزرگ تر زالو باشد. هم چنین ارتباط معنی داری بین افزایش اندازه زالو و شدت بروز علائم بالینی مشاهده شد، به گونه ای که افزایش اندازه بدن زالوها با تشدید علائم کندی روند بهبودی در آنها و کاهش کارایی درمان همراه بود. این یافته ها بیانگر وجود رابطه ای مستقیم و معکوس بین اندازه زالو و پاسخ به درمان با ترکیب آنتی بیوتیک های پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و لینکومایسین می باشد. با این وجود، جهت بهبود کامل پاسخ التهابی و بازگشت به شرایط فیزیولوژیک طبیعی، انجام مطالعات تکمیلی شامل بررسی دوزهای متفاوت، مدت زمان درمان و استفاده از پروتکل های حمایتی بیش تر، ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

این اثر تحت حمایت مادی بنیاد ملی علم ایران (INSF) برگرفته شده از طرح شماره «۴۰۴۱۹۲۹» انجام شده است.

منابع

1. **Lemke, S. and Vilcinskis, A., 2020.** European medicinal leeches-new roles in modern medicine. *Biomedicine*. 8(5): 99. <https://doi.org/10.3390/biomedicine8050099>
2. **Bilden, A., Sabancılar, İ., Yalçın Azarkan, S., Karadağlı, K., Kaya, S., Kahraman, M. and Çiçek, M., 2025.** Investigating the Therapeutic Potential of

- medicinalis*, using ciprofloxacin feeding. *Clinical microbiology and infection*. 16(6): 563-567. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02868. x.
22. **Macy, E. and Adkinson, Jr.N.F., 2023.** The evolution of our understanding of penicillin allergy: 1942-2022. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 11(2): 405-413. <http://doi.org/10.1016/j.jaip.2022.09.006>
 23. **Miranda, C.D., Godoy, F.A. and Lee, M.R., 2018.** Current status of the use of antibiotics and the antimicrobial resistance in the Chilean salmon farms. *Frontiers in microbiology*. 9: 1284. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01284>
 24. **Shariati, A., Arshadi, M., Khosrojerdi, M.A., Abedinzadeh, M., Ganjalishahi, M., Maleki, A. and Khoshnood, S., 2022.** The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. *Frontiers in public health*. 10: 1025633. <http://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1025633>
 25. **Leichtweis, J., Vieira, Y., Welter, N., Silvestri, S., Dotto, G.L. and Carissimi, E., 2022.** A review of the occurrence, disposal, determination, toxicity, and remediation technologies of the tetracycline antibiotic. *Process Safety and Environmental Protection*. 160:25-40. <http://doi.org/10.1016/j.psep.2022.01.085>
 26. **Yuan, X., Lv, Z., Zhang, Z., Han, Y., Liu, Z. and Zhang, H., 2023.** A review of antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and resistance genes in aquaculture: Occurrence, contamination, and transmission. *Toxics*. 11(5): 420. <http://doi.org/10.3390/toxics11050420>
 27. **Bidmal, H., Sudagar, M. and Shakouri, M., 2021.** Effect of goat and sheep blood on sexual maturation, survival, and cocoon and larva production in the eastern leech (*Hirudo orientalis*). *Journal of Animal Environment*. 13(4): 301-306. doi: 10.22034/AEJ.2020.232247.2268 (In Persian)
 28. **Firouzbakhsh, S. and Sudagar, M., 2025.** A review of the importance of leech and its saliva enzymes. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*. 14(1): 1-20. doi: 10.22069/JAPU.2024.22381.1867 (In Persian)
 29. **Unalli, O.S. and Ozarda, Y., 2021.** Stability of hematological analytes during 48 hours of storage at three temperatures using the Cell-Dyn hematology analyzer. *Journal of Medical Biochemistry*. 40(3): 252. doi: 10.5937/jomb0-27945
 30. **Kovalenko, M.V. and Utevsy, S.Y., 2015.** Comparative structural analysis of jaws of selected blood-feeding and predacious arhynchobdellid leeches (Annelida: Clitellata: Hirudinida). *Zoomorphology*. 134: 33-43. Doi: 10.1007/s00435-014-0245-4
 31. **Kutschera, U. and Roth, M., 2005.** Cannibalism in a population of the medicinal leech (*Hirudo medicinalis* 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>.
 13. **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>.
 14. **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
 15. **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). *Scientific Reports*. 11(10940): 1-13. <http://doi.org/10.1038/s41598-021-90421-1>.
 16. **Doğan, S., Farzali, S., Karimova, B. and Sağlam, N., 2024.** Evaluation of Methylene Blue as an Effective Antiseptic for Medicinal Leeches (*Hirudo verbana*). *Turkiye Parazitoloji Dergisi*. 48(2): 96-104. doi: 10.4274/tpd.galenos.2024.85047
 17. **Marden, J.N., McClure, E.A., Beka, L. and Graf, J., 2016.** Host matters: Medicinal leech digestive-tract symbionts and their pathogenic potential. *Frontiers in Microbiology*. 7: 1569. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01569>
 18. **Firouzbakhsh, S., Heidari, S., Maghsudlo Kamali, M. and Sudagar, M., 2025.** The effect of Ceftriaxone on deformation and vomiting in the oriental leech *Hirudo orientalis*. *Journal of Ornamental Aquatics*. 12(1): 25-35. doi: 10.22034.12.1.25 (In Persian)
 19. **Heydari, S., Firouzbakhsh, S., Maghsudlo Kamali, M., Yousefi Siahkalroudi, M. and Sudagar, M., 2026.** The effect of lincomycin antibiotic on body segmentation and vomiting in the eastern leech (*Hirudo orientalis*). *Journal of Aquaculture Development*. 20(2): 80-94. doi: 10.71901/jad-2026-1-892 (In Persian)
 20. **Maghsudlo Kamali, M., Sudagar, M., Yousefi Siahkalroudi, S., Mazandarani, M. and Khajavi, F., 2025.** Evaluation of the effects of Amoxicillin, Ceftriaxone, and Ciprofloxacin on segmentation and vomiting in Eastern leech (*Hirudo orientalis*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*. (In press). (In Persian)
 21. **Mumcuoglu, K.Y., Huberman, L., Cohen, R., Temper, V., Adler, A., Galun, R. and Block, C., 2010.** Elimination of symbiotic *Aeromonas* spp. from the intestinal tract of the medicinal leech, *Hirudo*

- L.). *Biology Bulletin*. 32: 626-628. <http://doi.org/10.1007/s10525-005-0154-7>.
- 32. Bidmal, H., Sudagar, M. and Shakouri, M., 2022.** Effect of camel and frog blood on sexual maturation, survival, and cocoon and larva production in the eastern leech (*Hirudo orientalis*). *Journal of Animal Environment*. 16(1). doi:10.22034/AEJ.2020.232247.2268 (In Persian)
- 33. Kalateh Jari, P. and Sudagar, M., 2018.** Review on optimal conditions for breeding and propagation of medicinal leeches (*Hirudo* spp.). *Caspian Sea Aquatics Journal*. 3(1). <https://doi.org/10.17420/ap71.549>