

## The effect of the antibiotic lincomycin on body deformity and blood vomiting in the oriental leech *Hirudo orientalis*

Sajede Heidary<sup>1</sup>, Sepide Firouzbakhsh<sup>1\*</sup>, Mobin Maghsudlo Kamali<sup>1</sup>, Mahyar Yousefi Siahkalroudi<sup>2</sup>, Mohammad Sudagar<sup>\*1</sup>

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

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

Received: 8 March 2025

Accepted: 28 May 2025

### Extended Abstract:

**Introduction:** In recent years, medicinal leeches have garnered considerable interest in medical therapies, disease treatment, and the cosmetic industry due to their unique biological properties. Among these features, the ability to secrete and deliver therapeutic enzymes into the host during blood feeding has positioned leeches as valuable organisms in biomedical applications (Petrauskiene *et al.*, 2011; Montinari and Minelli, 2022). With the increasing global demand, natural populations of leeches have declined significantly, leading to the development and expansion of leech farming as a sustainable alternative (Firouzbakhsh and Sudagar, 2025). Despite its potential, leech aquaculture faces several challenges. Leeches are highly sensitive to environmental conditions, microbial infections, and physiological disorders. Common complications such as blood regurgitation and body deformities are frequently observed under suboptimal conditions. These issues not only reduce the overall productivity and market value of the leeches but also pose a risk of spreading pathogens to healthy populations (Grafskaia *et al.*, 2019; Kwak *et al.*, 2021; Firouzbakhsh *et al.*, 2025). Regurgitation of ingested blood can lead to water contamination, oxygen depletion, and increased mortality within culture systems. Given these concerns, effective disease management and health-promoting strategies are crucial for the success of leech farming. The present study investigates the therapeutic potential of lincomycin, a lincosamide antibiotic, in reducing mortality and preventing body deformities and blood regurgitation in the Eastern medicinal leech (*Hirudo orientalis*). The findings of this research may contribute to the development of improved health management protocols in leech aquaculture systems.

**Materials and Methods:** In this study, a total of 90 specimens of the Eastern medicinal leech (*Hirudo orientalis*) were assigned to three treatment groups: matchstick leeches (Treatment 1), cosmetic leeches (Treatment 2), and medical-grade leeches (Treatment 3). Each treatment included three replicates, with 10 leeches placed in separate plastic containers per replicate. The leeches were maintained under controlled conditions at a temperature of  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  (Aminov *et al.*, 2021). Approximately three liters of bovine blood were procured from certified sources for feeding purposes. To prevent coagulation during transportation and before feeding, heparin was added as an anticoagulant at a dose of 1650 IU per liter of blood, using one-gram vials of pharmaceutical-grade heparin (Manav *et al.*, 2019; Firouzbakhsh *et al.*, 2025). Each container was filled with three liters of dechlorinated water, to which the lincomycin antibiotic was added at a concentration of 2 mg/L. The water in each container was completely replaced every 24 hours, and the

same concentration of lincomycin was re-administered after each water change (Bidmal *et al.*, 2021; Firouzbakhsh *et al.*, 2025).

**Results and Discussion:** Following the feeding of *Hirudo orientalis* leeches with fresh blood, daily examinations revealed the appearance of various body deformities in a subset of individuals. These abnormalities presented as irregular body shapes, including sausage-like, beaded, hourglass, and amphora forms. Additionally, regurgitation of blood post-feeding was observed in some cases, though this symptom was notably less frequent in matchstick-type and cosmetic leeches compared to medicinal ones. This may suggest a higher physiological sensitivity in larger leeches, possibly related to size, age, or metabolic rate. These symptoms are believed to result from a combination of factors, including post-feeding stress, microbial contamination—either from the blood source or the surrounding aquatic environment—and imbalances in environmental conditions such as temperature or oxygen levels. Such disturbances can significantly disrupt the leech's physiological stability and may threaten their survival if left untreated (Wang *et al.*, 2022). To manage these complications, treatment with the antibiotic lincomycin was initiated at a concentration of 2 mg/L for seven consecutive days. During this period, the water in the holding tanks (pet systems) was completely replaced every 24 hours, and the antibiotic was re-administered at the same dose after each water change. Environmental conditions, including a stable water temperature of 22–24°C, indirect lighting, and continuous aeration, were carefully maintained throughout the treatment period. Signs of recovery became apparent toward the end of the second week. These improvements included the gradual disappearance of body deformities, cessation of blood regurgitation, a noticeable reduction in visible microbial contamination in the water, and increased motility and responsiveness in the leeches. Final evaluation four weeks after the start of treatment showed recovery rates of 90% in matchstick-type leeches, 80% in cosmetic leeches, and 60% in medicinal leeches. The reduced response in medicinal leeches may be attributed to their larger body mass or differing physiological demands. Statistical analysis confirmed that lincomycin significantly reduced the occurrence of post-feeding deformities and regurgitation symptoms. In a related study, ceftriaxone was used as a prophylactic measure at a dose of 1 g/L immediately after feeding. After two weeks, both body deformities and mortality rates were significantly reduced. Recovery rates ranged between 70% and 90%, and no regurgitation was observed in treated leeches (Firouzbakhsh *et al.*, 2025).

**Conclusion:** Emphasizing adherence to health protocols, improving water quality management, and implementing treatment procedures can help improve the health and survival of leeches. The ultimate goal is to utilize leeches as sustainable resources in the aquaculture, medical, and pharmaceutical industries through the use of modern and scientific methods. Information on blood clotting and how to treat it is very limited, making it difficult to access the literature. Therefore, the use of lincomycin can help breeders reduce the rate of blood clotting and vomiting in leeches.

**Conflict of Interest:** There is no conflict of interest between the authors of the article.

**Acknowledgment:** The authors of the article are grateful for the support of their respected colleagues.

**Keywords:** Oriental leech, Banding, blood vomiting, lincomycin

---

\* Corresponding Author: [sepide.firouzbakhsh\\_s02@gau.ac.ir](mailto:sepide.firouzbakhsh_s02@gau.ac.ir) [sudagar\\_m@gau.ac.ir](mailto:sudagar_m@gau.ac.ir)

## "مقاله پژوهشی"

## تأثیر آنتی بیوتیک لینکومایسین بر بندی شدن بدن و بالا آوردن خون در زالوی شرقی *Hirudo orientalis*

ساجده حیدری<sup>۱</sup>، سپیده فیروزبخش<sup>۱\*</sup>، مبین مقصودلو کمالی<sup>۱</sup>، مهیار یوسفی سیاهکلرودی<sup>۲</sup>، محمد  
سوداگر<sup>۱\*</sup>

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزبان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
۲- گروه بیماری های آبزبان، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱/۱۹

### چکیده

زالوها به دلیل استفاده در درمان بسیاری از بیماری ها در علوم پزشکی سنتی و مدرن مورد توجه قرار گرفته اند. زالوها در محیط پرورشی عمدتاً از خون پستانداران تغذیه می نمایند. پس از فرآیند تغذیه، برخی از زالوها ممکن است اقدام به بالا آوردن خون نمایند؛ هم چنین، تعدادی از زالوها دچار بندی شدن بدن می گردند. در این پژوهش برای پیشگیری از بالا آوردن خون و بندی شدن بدن، درمان و جلوگیری از تلفات در زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*) از داروی لینکومایسین استفاده گردید. بدین منظور تعداد ۹۰ قطعه زالوی شرقی در اندازه های کبریتی، آرایشی و طبی هر کدام به تعداد ۳۰ قطعه، در سه تکرار، در پت های با حجم سه لیتر آب، توزیع گردیدند. سپس لینکومایسین به میزان دو میلی گرم بر لیتر، پس از خون دهی زالوها، به ظروف افزوده گردید. این عمل به مدت هفت روز ادامه یافت. بعد از گذشت دو هفته، کاهش بندی شدن بدن زالوها و بهبود زالوهای بندی شده و هم چنین، کاهش تلفات مشاهده گردید. نتایج نشان داد پس از گذشت چهار هفته ۹۰ درصد زالوهای کبریتی، ۸۰ درصد زالوهای آرایشی و ۶۰ درصد زالوهای طبی با استفاده از لینکومایسین بهبود یافتند. هم چنین، پس از استفاده از لینکومایسین، بالا آوردن خون در زالوها بعد از تغذیه مشاهده نگردید. مطالعه حاضر نشان داد استفاده از لینکومایسین می تواند علاوه بر جلوگیری از بالا آوردن خون، سبب کاهش بندی شدن بدن و تلفات در زالوی شرقی گردد.

**کلمات کلیدی:** زالوی شرقی، بندی شدن، بالا آوردن خون، لینکومایسین

\*عهده دار مکاتبات: sudagar\_m@gau.ac.ir, sepide.firozbxsh\_s02@gau.ac.ir

## مقدمه

استفاده از زالو برای درمان به قرن‌ها قبل بر می‌گردد که می‌توان آثار استفاده از زالوها را در نقاشی‌های روی دیوار مقبره‌های مصر باستان مشاهده کرد. در سال‌های اخیر، کاربرد زالو در علوم پزشکی و درمان بیماری‌ها و همچنین، در صنعت آرایشی و بهداشتی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌است. زالوها در تمام قاره‌ها و دریاها به غیر از قطب جنوب یافت می‌شوند و می‌توان آن‌ها را در آب شیرین، مصب رودخانه‌ها و اکوسیستم‌های دریایی و هر اکوسیستم مرطوب دیگری مانند محیط خاکی اطراف رودها یافت (Saglam, 2018). تمایل زالوها به آب‌های کم عمق و راکد، به آن‌ها این امکان را می‌دهد که زیر گیاهان، چوب‌ها و سنگ‌ها پناه گرفته و زندگی نمایند. به طور کلی زالوها تمایل به انتخاب مکان‌هایی با نور کم و رطوبت بالا، برای تولیدمثل و کوکون گذاری دارند (Utevsky and Utevsky, 2018; Sawyer, 2020). تغذیه مناسب زالوها به طور قابل توجهی بر میزان کوکون گذاری و بر نرخ تبدیل تخم‌ها به لارو در هر کوکون تأثیرگذار است (Firouzbakhsh and Sudagar, 2025; Bidmal and Utevsky, 2019). ویژگی‌های زیستی زالوها از جمله توانایی مکیدن خون و انتقال آنزیم‌های مفید به داخل بدن میزبان، آن‌ها را به یکی از گونه‌های ارزشمند تبدیل کرده‌است. بزاق زالوها دارای ترکیبات متنوعی است. معروف‌ترین ترکیب زیست فعال موجود در بزاق زالو هیرودین نام دارد (Montinari and Minelli, 2022). هیرودین برای اولین بار در اوایل سال ۱۸۸۴ یافت شد، زمانی که داروشناس اتریشی به نام هایکرفت، دریافت که عصاره به دست آمده از *Hirudo medicinalis* دارای مواد

ضد انعقاد خون است (Firouzbakhsh and Sudagar, 2024). زالوهایی که از ترشحات بزاق آن‌ها در علوم پزشکی مدرن و سنتی برای درمان بیماری‌های انسان استفاده می‌گردد عبارتند از: *Hirudo medicinalis* (Ceylan et al., 2024; Lemke and Vilcinskas, 2020). استفاده از این زالوها تحت شرایط کنترل شده و بهداشتی انجام می‌گیرد تا اطمینان حاصل شود که از نظر استفاده در علوم پزشکی ایمن و موثر هستند (Firouzbakhsh and Sudagar, 2024; Utevsky and Trontelj, 2016). زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*) توسط Utevsky و Trontelj در سال ۲۰۰۵ معرفی شد و یکی از سه گونه زالوی درمانی مورد استفاده در ایران است (Ceylan, 2023). همچنین، این گونه در کشورهای ازبکستان، آذربایجان و قزاقستان گزارش شده است. به دلیل خواص درمانی، در درمان بیماری‌ها در طب سنتی و مدرن کاربرد دارد (Vaughan, 2009). ترشحات بزاق این زالو موجب بهبود گردش خون و کاهش خطر لخته شدن می‌گردد (Marchiori et al., 2024; Kun et al., 2022). این ترشحات، حتی در دوزهای پایین، می‌توانند باعث تقویت سیستم ایمنی، کاهش التهاب و بهبود برخی بیماری‌های مزمن مانند میگرن و کمردرد شوند (Dudhrejija et al., 2023; Sudagar and Firouzbakhsh, 2024). زالوها، به ویژه در مرحله بهبودی پس از جراحی، به عنوان ابزار موثری برای بهبود گردش خون و کاهش عوارض پس از عمل جراحی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Bidmal et al., 2022; Collier et al., 2016; Ceylan, 2023). افزایش تقاضا برای استفاده از زالو در صنایع مختلف، جمعیت آن‌ها در زیستگاه‌های طبیعی کاهش یافته است

برای جلوگیری از آسیب به بافت‌ها و حفظ هموستاز، اقدام به دفع بخشی از خون می‌نمایند (Manav *et al.*, 2019). بالا آوردن خون باعث تغییر رنگ آب، آلودگی آب، کاهش اکسیژن و در نهایت باعث افزایش تلفات در زالوها می‌گردد (Kwak *et al.*, 2012; Ceylan and Erbatur, 2021). استرس ناشی از عواملی مانند: تغییرات محیطی (تغییر دما و نور)، جابه‌جایی، تحریکات خارجی، آلودگی محیط و شرایط نامناسب نگهداری زالو می‌تواند بر رفتار تغذیه‌ای زالوها تأثیر گذار باشد (Dong *et al.*, 2016; Ceylan and Erbatur, 2012; Ceylan *et al.*, 2021). همچنین، کیفیت خون مصرفی می‌تواند بر سلامت زالوها تأثیر گذاشته و منجر به پدیده بالا آوردن خون پس از تغذیه گردد. زالوهایی که خون بالا می‌آورند، ممکن است ناقل عوامل بیماری‌زا مانند: باکتری‌ها و ویروس‌ها باشند؛ در صورتی که این خون به زالوی دیگری منتقل شود، می‌تواند سبب تلفات در زالوها گردد (Mane *et al.*, 2021).

بندی شدن بدن یا دفرمگی بدن زالوها، می‌تواند ناشی از عوامل محیطی، تغذیه‌ای، میکروبی، بیولوژیکی و ژنتیکی باشد. تغییرات شدید محیطی مانند: دما، pH، کیفیت پایین آب، آلودگی خون مصرفی، روش‌های نامناسب تغذیه و آلودگی‌های شیمیایی می‌تواند موجب ایجاد استرس در زالوها شده، بر فرآیندهای فیزیولوژیکی زالوها تأثیر گذاشته و در نهایت منجر به بندی شدن بدن آن‌ها شوند (Saglam, 2018). این تغییرات ممکن است به ایجاد اشکالی مانند: تسیخی، سوسیسی، خمره‌ای، ساعت شنی و... در زالوها منجر گردند. همچنین، عفونت‌های میکروبی، به‌ویژه باکتریایی می‌تواند بر رشد طبیعی زالوها اثر گذاشته و

(Firouzbakhsh and Sudagar, 2025). بنابراین، در حال حاضر، پرورش زالو یکی از حوزه‌های پرطرفدار در زیست‌فناوری و صنایع مرتبط با تولیدات پزشکی می‌باشد. با توجه به نیازهای داخل کشور در حوزه طب سنتی و تولید محصولات درمانی، آرایشی و بهداشتی و دیگر فرآورده‌های جانبی حاصل از زالو، این موجودات پتانسیل بالایی برای صادرات به کشورهای مختلف دارند (Bidmal and Sudagar, 2020; Sudagar and Firouzbakhsh, 2024). تمایل کارآفرینان برای ورود به عرصه تولید زالو نشان‌دهنده فرصت‌های موجود در این صنعت می‌باشد. یافتن راهکارهایی که منجر به تولید منظم، بهینه و با هزینه‌های کمتر شود، بسیار ارزشمند و حائز اهمیت می‌باشد. در پرورش زالو به دلیل حساسیت بالای زالوها به شرایط محیطی و بیماری‌ها، همواره با چالش‌هایی همراه بوده است که در صورت مدیریت نادرست، می‌تواند منجر به کاهش بازدهی و افزایش هزینه‌های تولید گردد (Grafaskaia *et al.*, 2019).

زالوها به‌عنوان موجودات بی‌مهره آبی، دارای اندام گوارشی حجیم نسبت به بدن خود هستند که به آن‌ها این قابلیت را می‌دهد تا مقادیر قابل توجهی از خون میزبان را مکیده و برای چند ماه در بدن خود ذخیره نمایند (Dong *et al.*, 2016). این جانداران با استفاده از ساختارهای دهانی مخصوص، که شامل دندان‌های کوچک و یک بادکش‌کننده خون در قسمت قدامی است، خون را به داخل چینه دان خود منتقل می‌کنند. ظرفیت چینه دان زالوها می‌تواند به چندین برابر وزن بدن آن‌ها برسد (Nieoczym *et al.*, 2023). با این حال، جذب حجم زیاد خون می‌تواند منجر به افزایش فشار داخلی در آن‌ها گردد. در چنین شرایطی، زالوها

اتفاق بیافتد (Firouzbakhsh *et al.*, 2025). داروی لینکومایسین می‌تواند با کاهش مشکلات پرورشی، بهره‌وری در تولید زالو را افزایش دهد. لینکومایسین به عنوان یک داروی کارآمد، با کاهش عفونت‌ها و بهبود وضعیت سلامت زالوها، به کاهش تلفات و بهبود عملکرد کلی زالوها می‌تواند کمک نماید.

لینکومایسین، یک آنتی‌بیوتیک از خانواده لینکوزامیدها می‌باشد که با اتصال به زیر واحد 5S<sub>0</sub> ریبوزوم، سنتز پروتئین در سلول‌های باکتری را مهار می‌کند. این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها، مطابق با غلظت دارو، نوع باکتری و تعداد آن، می‌توانند خاصیت باکتریواستاتیک (مهار رشد باکتری) یا باکتریسیدال (کشتن باکتری) داشته باشند (Wijayanti *et al.*, 2024). لینکومایسین به‌ویژه بر باکتری‌های گرم مثبت مانند: *Streptococcus*، *Staphylococcus*، *Clostridium* و *Mycoplasma* موثر است. این دارو با ترکیبات ضدباکتریایی و ضدعفونی‌کننده خود، تأثیرات چشمگیری بر جلوگیری از بالا آوردن خون، کاهش دفرمگی بدن و کنترل تلفات زالوها دارد (Cheng *et al.*, 2020). لینکومایسین با از بین بردن باکتری‌های مضر و تقویت سیستم ایمنی زالوها، به بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده کمک کرده و از بروز ناهنجاری جلوگیری می‌کند (Costa *et al.*, 2022).

هدف از این تحقیق، تعیین تأثیر مصرف داروی لینکومایسین بر کاهش تلفات، پیشگیری از بروز دفرمگی بدن (بندی شدن) و بالا آوردن خون در زالوی شرقی است. این تحقیق برای ارتقای سلامت زالوها، افزایش بهره‌وری، بهبود شرایط نگهداری و تولیدمثل آن‌ها انجام گرفت. با توجه به چالش‌های عمده‌ای که صنعت پرورش زالو با آن مواجه است، این تحقیق

باعث ایجاد دفرمگی در بدن زالوها گردند. دفرمگی می‌تواند بر روی ساختار عضلات و بافت‌های نرم زالوها تأثیر گذاشته و منجر به تغییر الگوی حرکتی، کاهش توانایی حرکت و جست‌وجوی غذا گردد (Cai *et al.*, 2024). بندی شدن بدن زالوها می‌تواند منجر به اختلال در عملکردهای حیاتی مانند تغذیه، هضم و تنفس شده؛ زالوها را نسبت به تغییرات محیطی مانند: دما، تغییرات نوری و شوری آب آسیب‌پذیر نماید که این مشکلات می‌تواند بر روی رشد و زنده ماندن زالوها تأثیرگذار باشد (Ceylan *et al.*, 2024). علاوه بر این، به دلیل مشکلات جسمی و عدم کارایی در فرآیند تولیدمثل، میزان تولیدمثل در زالوهای دفرمه شده کاهش می‌یابد. توجه به شرایط نگهداری و تغذیه زالوها برای جلوگیری از بندی شدن بدن، برای پرورش دهندگان زالو ضروری می‌باشد (Aminov *et al.*, 2021).

زالوهای که به مشکلاتی مانند: بندی شدن (دفرمگی بدن)، بالا آوردن خون و دیگر عوارض دچار می‌شوند، نه تنها ارزش اقتصادی خود را از دست می‌دهند، بلکه می‌توانند به عنوان منبع انتقال بیماری‌های مختلف به سایر زالوها عمل نمایند. این مشکلات می‌توانند بر سلامتی و بهره‌وری زالوهای یک مزرعه پرورشی تأثیر منفی بگذارند. تلفات گسترده در زالوها، یکی از چالش‌های اساسی در صنعت پرورش زالو می‌باشد (Kvist *et al.*, 2020). به علاوه، بالا آوردن خون در زالوها، یکی از مشکلاتی است که بر سلامت و بهره‌وری زالوها تأثیر منفی می‌گذارد و می‌تواند به کاهش وزن، ضعف عمومی، کاهش تولیدمثل و مرگ و میر آن‌ها منجر گردد. این تلفات ممکن است به دلایلی مانند: ضعف سیستم ایمنی، کیفیت پایین آب، تغذیه نامناسب و گسترش بیماری

### تهیه خون

به‌منظور تغذیه زالوها، حدود سه لیتر خون گاو از مراکز مجاز تهیه گردید. به منظور جلوگیری از انعقاد خون در طول مراحل حمل‌ونقل و تا زمان تغذیه زالوها، از یک ویال یک گرمی هپارین با دوز معادل ۱۶۵۰ IU به ازای هر لیتر خون به عنوان عامل ضدانعقاد استفاده شد ( Firouzbakhsh *et al.*, 2025; Manav *et al.*, 2019).

### خون‌دهی به زالو

ر فرآیند خون‌دهی به زالوها، از حدود دو متر روده خشک و استریل‌شده گاو استفاده شد. پس از انتقال خون به درون روده‌ها و بستن دو انتهای آن‌ها به‌منظور جلوگیری از نشت، روده‌های حاوی خون درون آب گرم از پیش آماده‌شده قرار گرفتند. زالوها در دمای تقریبی ۳۷ درجه سانتی‌گراد تمایل بیشتری به تغذیه از خون دارند (Bidmal *et al.*, 2021). پس از رسیدن دمای خون به محدوده مطلوب، روده‌های آماده‌شده به داخل پت‌های نگهداری زالوها منتقل گردیدند (شکل ۱). حدود ۲۰ دقیقه پس از آغاز تغذیه، زالوهای تغذیه‌شده از زالوهای تغذیه‌نشده به‌منظور پیشگیری از بروز پدیده هم‌نوع‌خواری تفکیک شدند (Kutschera and Roth, 2005). به‌منظور حذف باقی‌مانده خون از سطح بدن زالوها و جلوگیری از آلودگی و بروز شوک دمایی، زالوها در ظروف حاوی آب با دمای حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد شستشو داده شدند ( Firouzbakhsh *et al.*, 2025; Bidmal *et al.*, 2022).

تلاش دارد تا با ارزیابی کارایی داروی لینکومایسین به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی مؤثر، راهکارهایی علمی برای کنترل عوامل بیماری‌زا، کاهش عوارض فیزیولوژیکی و ارتقای کیفیت پرورش زالوی شرقی ارائه نماید.

### مواد و روش‌ها

#### مکان و زمان آزمایش

این پژوهش، در مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان از اردیبهشت تا بهمن ۱۴۰۳ انجام گرفت.

#### تهیه زالو

در این پژوهش، از ۹۰ قطعه زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*) در سه اندازه (کبریتی، آرایشی و طبی)، به تعداد ۳۰ قطعه در هر گروه، استفاده گردید. زالوها از مرکز معتبر تهیه و به مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی منتقل گردیدند. زالوها در این مرکز، در آب کلرزدایی شده و در دمای  $23 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند ( Aminov *et al.*, 2021). همچنین، آب پت‌های نگهداری زالوها به‌طور روزانه و هر ۲۴ ساعت یک‌بار تعویض گردید (Bidmal *et al.*, 2021).



شکل ۱: پت حاوی خون تازه گاو (A). ویال هپارین برای جلوگیری از انعقاد خون در زمان جابه جایی تا خون دهی به زالوها (B). روده خشک استریل گاو (C). تغذیه زالوها از خون ریخته شده داخل روده گاو (D)

Figure 1: Containers with fresh cow blood (A). Heparin vial to prevent blood coagulation during transport until leech feeding (B). Sterile dried cow intestine (C). Leeches feeding on the blood poured into the cow's intestine (D)

بالا آوردن خون و بندی شدن (دفرمگی) بدن زالوها در هر تیمار و تکرار مورد مطالعه قرار گرفت و مستندسازی تصویری از مشاهدات صورت پذیرفت.

### نتایج

پس از تغذیه زالوها با استفاده از خون تازه، بررسی‌های روزانه به مدت ۷ روز نشان داد که در تعدادی از زالوها، علائم دفرمگی بدن (بندی شدن) مشاهده گردید. این ناهنجاری‌ها شامل فرم‌های سوسیسی، تسبیحی، ساعت شنی و خمره‌ای بودند که با دقت از نظر ظاهری مستندسازی تصویری شدند (شکل ۲).

### آماده سازی و استفاده از لینکومایسین

در این تحقیق، تعداد ۹۰ قطعه زالوی شرقی در سه گروه تیماری شامل زالوی کبریتی (تیمار ۱)، زالوی آرایشی (تیمار ۲) و زالوی طبی (تیمار ۳) مورد بررسی قرار گرفتند. هر تیمار شامل سه تکرار بود و در هر تکرار، ۱۰ قطعه زالو در پت‌های جداگانه توزیع شدند. در هر پت، ۳ لیتر آب کلرزدایی شده ریخته شد و سپس آنتی‌بیوتیک لینکومایسین با دوز ۲ میلی‌گرم در لیتر به آب افزوده گردید. آب پت‌ها هر ۲۴ ساعت یک‌بار به صورت کامل تعویض و مجدداً مقدار تعیین شده از دارو به آن افزوده شد (Firouzbakhsh *et al.*, 2025; Bidmal *et al.*, 2021). این روند به مدت ۷ روز متوالی ادامه یافت. در طول دوره آزمایش، بروز علائمی نظیر:

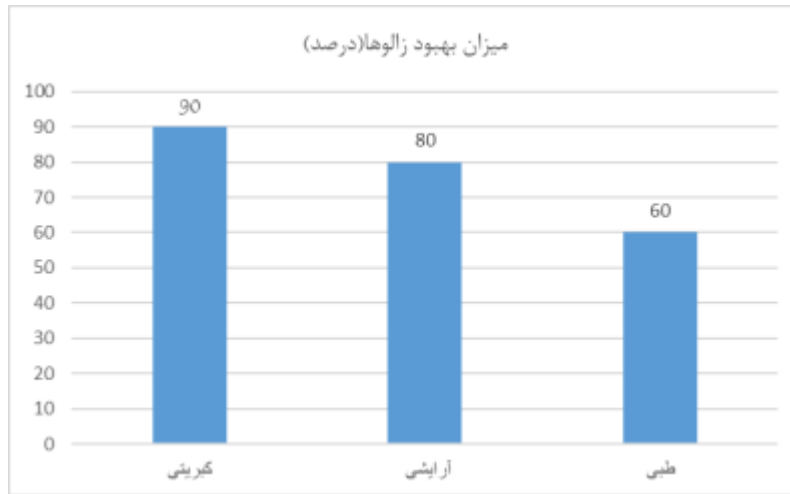


شکل ۲. بندی شدن بدن زالوی شرقی یک هفته پس از خون‌دهی

Figure 2: Segmentation of the Eastern leech's body one week after blood feeding

آب بود. بطورکلی بالا آوردن خون در زالوها مشاهده گردید، که در زالوهای کبریتی و آرایشی بالا آوردن خون پس از خون‌دهی نسبت به زالوهای طبی کمتر بود. پس از دو هفته، علائم بیماری در زالوها کاهش یافته و روند بهبودی مشاهده گردید (شکل ۴).

ارزیابی نهایی پس از چهار هفته نشان داد که میزان بهبودی در زالوهای کبریتی ۹۰ درصد، آرایشی ۸۰ درصد و طبی ۶۰ درصد بوده است (شکل ۳). این نشانه‌ها شامل: از بین رفتن بندهای تشکیل شده در بدن زالوها، بالا نیاوردن خون، مشاهده آلودگی اندک در آب پت زالوها، سرحال بودن و حرکت فعال زالوها در



شکل ۳. بهبود زالوها در تیمارهای مورد آزمایش

Figure 3: Recovery of leeches in the tested treatments



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

Figure 4: Eastern leeches undergoing treatment with lincomycin after two weeks.

همچنین، مشاهده شد که بالا آوردن خون با افزایش اندازه زالو افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق نشان داد که بین اندازه زالو و روند درمان رابطه مستقیمی وجود دارد. به طوری که با افزایش ابعاد بدن زالو، شدت علائم بالینی بیشتر، روند بهبودی کندتر و میزان پاسخ‌گویی به درمان کاهش می‌یابد. این موضوع ضرورت بازنگری در دوز درمانی و مدت زمان مداخله دارویی در زالوهای بزرگ‌تر را برجسته می‌سازد.



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

Figure 5: Eastern leeches treated with lincomycin after four weeks.

همچنین، مشاهده پدیده بالا آوردن خون پس از خون‌دهی، به‌ویژه در زالوهای طبی با اندازه بزرگ‌تر مشاهده گردید. در پژوهشی، جهت پیشگیری از بندی‌شدن بدن و بالا آوردن خون در زالوی شرقی و بهبود زالوها، از سفتریاکسون با دوز یک گرم محلول در آب، پس از خون‌دهی به زالوها، استفاده گردید. بعد از گذشت دو هفته، کاهش میزان بندی‌شدن بدن زالوها و تلفات مشاهده گردید. نتایج نشان داد حدود ۷۰-۹۰

تحلیل داده‌ها نشان داد که درمان با لینکومایسین منجر به کاهش چشمگیر علائم بندی‌شدن بدن و بالا آوردن خون در زالوی شرقی گردید (شکل ۵). با این حال، میزان پاسخ‌دهی به درمان در زالوهای بزرگ‌تر (طبی) به‌طور معناداری کمتر بود. این یافته می‌تواند ناشی از مواردی چون کاهش نفوذپذیری آنتی‌بیوتیک در بافت‌های حجیم‌تر، تفاوت در متابولیسم دارویی و یا حضور بار میکروبی بیشتر در زالوهای درشت‌تر باشد.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که تغذیه زالوهای شرقی با خون تازه می‌تواند منجر به بروز ناهنجاری‌های ظاهری نظیر: بندی‌شدن بدن و فرم‌های غیرطبیعی از جمله سوسبسی، تسیجی، ساعت‌شنی و خمره‌ای شود. این ناهنجاری‌ها می‌تواند ناشی از استرس ناشی از تغذیه، آلودگی‌های میکروبی یا عدم تعادل شرایط محیطی بوده و عملکرد فیزیولوژیک زالو را مختل و بقای آن را تهدید کند (Wang et al., 2022).

## بحث

### نتیجه‌گیری

تأکید بر رعایت پروتکل‌های بهداشتی، بهبود مدیریت کیفیت آب و اجرای روند درمانی می‌تواند به بهبود سلامت و بقای زالوها کمک کند. هدف نهایی این است که با به‌کارگیری شیوه‌های نوین و علمی، زالوها به‌عنوان منابع پایدار در صنعت پرورش آبزیان، علوم پزشکی و دارویی بهره‌برداری شوند. اطلاعات در زمینه بندی شدن و بالا آوردن خون و چگونگی درمان آن بسیار اندک بوده و امکان مراجعه به متون را با مشکلاتی مواجه کرده است. بنابراین استفاده از لینکومایسین می‌تواند به پرورش دهندگان کمک نماید تا میزان بندی شدن و بالا آوردن خون در زالو را کاهش دهد.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از حمایت‌های همکاران محترم کمال تشکر را دارند.

### منابع

1. 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), pp.169-174 DOI: 10.17420/ap6702.326
2. 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*). *Animal physiology and development*, 13(4), pp.39-48. [In Persian]
3. 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*). *Animal Environment*, 13(4), pp.301-

درصد زالوها پس از استفاده از سفتریاکسون بهبود یافتند. همچنین، بالا آوردن خون در زالوها پس از تغذیه با خون، مشاهده نگردید. بنابراین، استفاده از سفتریاکسون می‌تواند علاوه بر جلوگیری از بالا آوردن خون، سبب کاهش بندی شدن در زالوی شرقی گردد (Firouzbakhsh et al., 2025). نتایج مطالعه بالا با نتایج حاصل از مطالعه ما همسو بوده و نشان داد درمان زالوها با آنتی‌بیوتیک لینکومایسین به مدت هفت روز، تأثیر مثبتی بر بهبود وضعیت جسمی زالوها داشت. به‌طور خاص، علائمی نظیر: دفرمگی بدن، بالا آوردن خون و آلودگی آب پت‌ها به‌طور محسوسی کاهش یافت. با این حال، درمان با لینکومایسین در زالوهای طبی (درشت‌تر) به‌صورت معنی‌داری کمتر از زالوهای کبریتی و آرایشی بود. این تفاوت می‌تواند به عواملی نظیر: کاهش نفوذپذیری آنتی‌بیوتیک در بافت‌های حجیم‌تر، تفاوت‌های متابولیکی یا حضور بار میکروبی بالاتر در زالوهای بزرگ‌تر نسبت داده شود. نتایج همچنین، نشان داد که با افزایش اندازه بدن زالو، شدت علائم بالینی از جمله: دفرمگی بدن و بالا آوردن خون افزایش یافته و روند بهبودی کندتر می‌شود. بنابراین، رابطه معنی‌داری بین اندازه زالو و پاسخ به درمان وجود دارد که این امر، لزوم تنظیم دوز آنتی‌بیوتیک و مدت درمان براساس ویژگی‌های فیزیکی زالو را ضروری می‌سازد. از آنجایی که زالوهای طبی بخش عمده‌ای از مصارف پزشکی را به خود اختصاص می‌دهند، بهینه‌سازی پروتکل‌های درمانی برای این گروه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Kwak et al., 2021; Ceylan and Erbatur, 2012).

- zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110725. DOI:10.1016/j.ecoenv.2020.110725
11. Collier, K.J., Probert, P.K. and Jeffries, M., 2016. Conservation of aquatic invertebrates: concerns, challenges, and conundrums. *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*, 26(5), pp.817-837. DOI:10.1002/aqc.2710
  12. Costa, C.C., Oliveira, S.L., Aracati, M. F., Rodrigues, L.F., Montassier, H.J., and Belo, M.A.A., 2022. Clinical safety of oral licomycin treatment in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ars Veterinaria*, 38(4), pp.190-198. DOI:10.15361/2175-0106.2022v38n4p190-198
  13. 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: eCAM*, 2016, 7895935. DOI: 10.1155/2016/7895935
  14. Dudhrejiya, A.V., Pithadiya, S.B., Patel, A.B., Vyas, A.J. and Gol, D.A., 2023. Medicinal leech therapy and related case study: Overview in the current medical field. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(1), pp.21-31. DOI:10.22271/phyto.2023.v12.i1a.1454
  15. Firouzbakhsh, S. and Sudagar, M. 2024. Review of reproduction and cocoon laying in leeches. *Ornamental Aquatics Journal*, 11(4), pp.53-64. DOI: 10.22034/11.4.53 [In Persian]
  16. 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), pp.1-20. DOI: 10.22069/JAPU.. 2024.22381.1867 [In Persian]
  17. Firouzbakhsh, S., Heidari, S., Maghsudlo Kamali, M. and Sudagar, M., 2025. The effect of Ceftriaxone on deformation and vomiting in the 306. [In Persian]
  4. 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*). *Aquaculture Development Journal*, 16(1), pp.33-42. DOI: 10.52547/aqudev.16.1.33 [In Persian]
  5. Cai, M., Shen, H., Xing, Y., Wang, W., Guan, F., and Luo, Y., 2024. Starvation-induced changes in the proteome and transcriptome of the salivary glands of the leech (*Hirudo nipponia*). *PLoS One*, 19(6), e0304453. DOI: 10.1371/journal.pone.0304453.
  6. Ceylan, M., and Erbatur, I., 2012. A study on nutrition of medicinal leech (*Hirudo verbana* Carena, 1820): Cannibalism. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 29(4), pp.167-170. DOI: 10.12714/egejfas.2012.29.4.03
  7. 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 and Development*, 65(1), pp.57-68. DOI: 10.1080/07924259.2021.1885506
  8. 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), pp.209-217. DOI:10.22392/actaquatr.1068061
  9. 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*, 68(3), pp.135-140. DOI: 10.1080/07924259.2024.2375069
  10. Cheng, B., Jiang, F., Su, M., Zhou, L., Zhang, H., Cao, Z., and Lu, H., 2020. Effects of lincomycin hydrochloride on the neurotoxicity of

- 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, pp.27-37. DOI:10.1016/j.anireprosci.2019.05.004
25. Vijaykumar, S.M., Shinde, P.S., Vedantam, G., Pednekar, H.D. and Killedar, R., 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), pp.13-18. Doi: 10.4103/ijaim.ijaim\_5\_21
26. Marchiori, C.H., de Oliveira Santana, M.V. and de Paula Malheiros, K., 2024. Leeches and Their Use in Medicine (Anellida: Hirudinea: Rhynchobdelliformes). *Middle East Research Journal of Biological Sciences*, 4(3), pp.72-81. DOI: 10.36348/merjbs.2024.v04i03.003
27. Marrone, F. and Canale, D.E., 2019. Occurrence, distribution, and bibliography of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820 (Hirudinea, Hirudinidae) in Sicily (Italy). *Biogeographia—The Journal of Integrative Biogeography*, 34(1), pp. 33–38. DOI:10.21426/B634143807
28. Montinari, M.R., and Minelli, S., 2022. From ancient leech to direct thrombin inhibitors and beyond: New from old. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 149, 112878. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112878
29. 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), pp.877-888. DOI:10.1080/24750263.2023.2289585
30. 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*, 45(11-12), pp.737-747. DOI: oriental leech *Hirudo orientalis*. *Journal of Ornamental Aquatics*, 12(1), pp.25-35. DOI: 10.22034/12.1.25 [In Persian]
18. Grafkaia, E.N., Nadezhdin, K.D., Talyzina, I.A., Polina, N.F., Podgorny, O.V., Pavlova, E.R. and Lazarev, V.N., 2019. Medicinal leech antimicrobial peptides lacking toxicity represent a promising alternative strategy to combat antibiotic-resistant pathogens. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 180, pp.143-153. DOI:10.1016/j.ejmech.2019.06.080
19. 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(4), 101019. DOI: 10.1016/j.aqrep.2022.101019
20. Kutschera, U. and Roth, M., 2005. Cannibalism in a population of the medicinal leech (*Hirudo medicinalis* L.). *Biology Bulletin*, 32(6), pp.751-753. DOI:10.1007/s10525-005-0154-7
21. Kvist, S., Manzano-Marín, 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 anticoagulants. *Scientific Reports*, 10(1), 9885. DOI:10.1038/s41598-020-66749
22. Kwak, H.J., Kim, J.H., Kim, J.Y., Jeon, Donggu, and Lee, Doo-Hyung., 2021. Behavioral variation according to feeding organ diversification in glossiphoniid leeches (Phylum: Annelida). *Scientific Reports*, 11(1), 10940. DOI: 10.1038/s41598-021-90421-1
23. Lemke, S. and Vilcinskas, A., 2020. European medicinal leeches—new roles in modern medicine. *Biomedicines*, 8(5), 99. DOI:10.3390/biomedicines8050099
24. Manav, M., Ceylan, M. and Büyükçapar, H.M., 2019. Investigation

- pp.83-96. DOI:10.3897/zookeys..1095.74071
39. Wijayanti, A.D., Muzaki, A.Y., Wibisono, C. and Widiasih, D.A., 2024. Therapeutic effects of lincomycin and level of drug degradation in broiler tissues after treatment. *Veterinary World*, 17(5), 1026-1036. DOI:10.14202/vetworld.. 2024.1026-1034
- 10.1080/00222933.2010.535918
31. Saglam, N., 2018. The effects of environmental factors on leeches. *Advances in Agriculture and Environmental Science*, 1(1), pp.1-3. DOI:10.30881/aaea.. 00001
32. Sawyer, R.T., 2020. Reproduction without cross-fertilization in the invasive Asian leech *Barbronia weberi* (Blanchard, 1897) (Hirudinea: Arhynchobdellida). *Aquatic Invasions*, 15(2), pp.271-281. DOI:10.3391/ai.2020.15.2.04
33. 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.
34. Utevsky, S.Y. and Trontelj, P., 2005. A new species of the medicinal leech (Oligochaeta, Hirudinida, *Hirudo*) from Transcaucasia and an identification key for the genus *Hirudo*. *Parasitology Research*, 98, pp.61-66. DOI: 10.1007/s00436-005-0017-7
35. Utevsky, S. and Trontelj, P., 2016. Phylogeography of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana*: a response to Živić (2015). *Aquatic Ecology*, 50(1), pp.97-100. DOI:10.1007/s10452-015-9553-0
36. Utevsky, A. and Utevsky, S., 2018. New Antarctic deep-sea weird leech (Hirudinida: Piscicolidae): morphological features and phylogenetic relationships. *Systematic Parasitology*, 95(8), pp.849-861. DOI:10.1007/s11230-018-9816-y
37. Vaughan, K., 2009. Characterization of a hypothetical protein critical for the symbiotic interaction of *Aeromonas veronii* and *Hirudo verbana*. *Honors Scholar Theses*, University of Connecticut. 47 P.
38. 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(5),