

مقایسه‌ی حساسیت جمعیت‌های جغرافیایی ناقل مهم مالاریا، آنوفل استغفنی به پلاسمودیوم برگئی

کامیار امرایی^{۱*}، حمیدرضا باصری^۲، حبیب محمدزاده حاجی پیرلو^۳، شهلا خشاوه^۴، محمدرضا عبایی^۵، حمیده عدالت^۶

چکیده

زمینه و هدف: آنوفل استغفنی یکی از ناقلین اصلی مالاریا در جهان از جمله جنوب ایران است. بر اساس مورفولوژی تخم، سه جمعیت جغرافیایی از آنوفل استغفنی مشخص شده است. هدف از مطالعه حاضر تعیین توانایی انتقال پلاسمودیوم در جمعیت‌های جغرافیایی مختلف آنوفل استغفنی با استفاده از انگل پلاسمودیوم برگئی سویه ANKA می‌باشد.

روش بررسی: چهار جمعیت جغرافیایی از آنوفل استغفنی شامل: بندرعباس، ایرانشهر، کازرون و Beach (بومی هندوستان) پرورش داده شدند. از انگل پلاسمودیوم برگئی سویه ANKA برای آلوده‌سازی موش‌ها استفاده شد. به پشه‌های جنس ماده، از هر جمعیت به روش مصنوعی خون آلوده موش خورانده شد. سپس به منظور بررسی مراحل اووسیست و اسپروزوئیت، پشه‌ها در زمان‌های مختلف پس از آلوده‌سازی تشریح شدند.

یافته‌ها: جمعیت‌های Beach و کازرون بالاترین میزان آلودگی به اووسیست و همچنین تراکم اووسیست روی معده را نشان دادند، در حالی که پایین‌ترین آلودگی به اووسیست در سویه بندرعباس مشاهده شد. میزان آلودگی به اووسیست در سویه ایرانشهر به میزان قابل توجهی بالاتر از بندرعباس بود، اما از سویه‌های Beach و کازرون کمتر بود. نسبت آلودگی به اسپروزوئیت در غدد بزاقی هر چهار جمعیت به همان ترتیب آلودگی به اووسیست بود. بالاترین آلودگی غدد بزاقی اسپروزوئیت در جمعیت Beach و پس از آن جمعیت کازرون، مشاهده شد. اما جمعیت بندرعباس پایین‌ترین آلودگی غدد بزاقی را نشان داد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که جدایی جغرافیایی و اکولوژیک پشه‌های ناقل، نه تنها باعث برخی تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و ژنتیکی می‌شود، بلکه در حساسیت ناقلین به پلاسمودیوم نیز تأثیرگذار است. بنابراین هر یک از عوامل حیاتی محیط زیست در تعامل پلاسمودیوم / آنوفل تأثیرگذار است. این یافته‌ها ممکن است که فقط توانایی انتقال برخی از آنوفل‌ها را در منطقه خاص توضیح دهد. همچنین این نتایج ممکن است شواهد پایه در خصوص مکانیزم سازگاری پلاسمودیوم با پشه ناقل خود را ارائه دهد.

کلید واژگان: مالاریا، آنوفل استغفنی، پلاسمودیوم برگئی، جمعیت‌های جغرافیایی.

۱- مربی حشره‌شناسی پزشکی.

۲- دانشیار حشره‌شناسی پزشکی.

۳- استادیار انگل‌شناسی.

۴- کارشناس آزمایشگاه انگل‌شناسی پزشکی.

۵- مربی حشره‌شناسی پزشکی.

۶- استادیار حشره‌شناسی پزشکی.

۱- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپوراهواز، اهواز، ایران.

۲- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳و۴- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

۵و۶- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده‌ی مسؤول:

کامیار امرایی؛ دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپوراهواز، اهواز، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۳۶۴۹۰۸۸۵

Email: Amraee-k@ajums.ac.ir

مقدمه

مالاریا یکی از مهمترین بیماری‌های واگیر در جهان است که در ۱۰۶ کشور آن‌دمیک می‌باشد و در سال ۲۰۱۰ میلادی ۲۶۵ میلیون نفر به آن مبتلا شدند که از این میان ۳۴۵ هزار نفر جان خود را از دست دادند (۱). این بیماری یکی از مهمترین بیماری‌های عفونی در ایران است که در دهه گذشته به طور میانگین سالانه حدود ۱۵ هزار نفر به این بیماری مبتلا شده‌اند (۲). مالاریای انسانی توسط گزش پشه آنوفل آلوده به انگل پلاسمودیوم منتقل می‌شود (۳). عامل بیماری مالاریا اشکال مختلفی در خلال چرخه زندگی خود در بدن میزبان مهره‌دار و ناقل بی‌مهره دارد (۴). پس از خورده شدن خون آلوده انسان توسط پشه آنوفل ماده، در معده پشه گامتوسیت‌های پلاسمودیوم به گامت‌های نر و ماده تبدیل شده و بین آن‌ها لقاح صورت می‌گیرد و به دنبال آن زیگوت تشکیل می‌شود. سپس زیگوت به اووکینت تبدیل شده و اووکینت وارد دیواره معده می‌شود و بر روی دیواره معده، اووسیست را تشکیل می‌دهد. با پاره شدن اووسیست رسیده اسپروزوئیت‌ها وارد همولف شده و پیرو آن وارد غدد بزاقی پشه می‌شوند. در این وضعیت پشه آنوفل با خونخواری از یک میزبان سالم می‌تواند آن را آلوده نماید (۵). تاکنون ۴۶۳ گونه و بیش از ۵۰ گونه کمپلکس آنوفل در دنیا گزارش شده است که ۷۰ گونه آن‌ها ناقل مالاریا هستند و از این بین ۴۰ گونه اهمیت بیشتری دارند (۲). در ایران ۳۱ گونه آنوفل شناسایی شده است که ۸ گونه از آن‌ها ناقل مالاریا هستند (۶-۹). آنوفل استغنی ناقل عمده مالاریا در جنوب ایران است که آلودگی طبیعی آن به پلاسمودیوم طی تحقیقات مختلفی در آبادان، دزفول، کازرون و بندرعباس مشخص شده است (۱۰). سه سویه از آنوفل استغنی در جنوب ایران گزارش شده است (۱۱). مطالعات مختلف تفاوت جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استغنی را از نظر بیولوژی، اکولوژی (۱۲)، کروموزوم‌ها (۱۳) و هیدروکربن‌های موجود در کوتیکول آن‌ها (۱۴)

نشان می‌دهد. عشاقی و همکاران در سال ۲۰۰۶ تفاوت‌های مرفولوژیک در تخم جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استغنی را گزارش کردند (۸). آن‌ها همچنین اختلافات جزئی ژنتیکی در میان جمعیت‌های جغرافیایی این گونه را مشخص نمودند (۱۵). باصری و همکاران در سال ۲۰۰۴ خاصیت هماگلوتیناسیون (قابلیت لخته‌شدن خون) را در معده جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استغنی مورد مطالعه قرار دادند و بالاترین و پایین‌ترین میزان هماگلوتیناسیون را به ترتیب در جمعیت‌های کازرون و بندرعباس گزارش کردند (۱۱).

دوستی و همکاران در سال ۱۳۸۳ تأثیر کربوهیدرات‌ها را روی چرخه اسپروگونی پلاسمودیوم ویواکس در آنوفل استغنی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که برخی کربوهیدرات‌ها احتمالاً اثر مهارکنندگی بر روی رشد انگل در چرخه اسپروگونی داشته باشند (۱۶). تاج‌الدین و همکاران در سال ۲۰۰۹ فلور قارچی معده لارو و بالغ جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استغنی را بررسی نمودند که در این مطالعه معده لارو جمعیت‌های ایرانشهر و بندرعباس واجد قارچ اسپرژیلوس، ولی معده لارو جمعیت کازرون و بالغ کلیه جمعیت‌ها فاقد این قارچ بودند (۱۷). ویتن (Whitten) و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثبات کردند که در آلودگی آنوفل گامبیه به پلاسمودیوم برگنی از بین سدهای پیش روی انگل، سلول‌های اپیتلیال معده باعث بیشترین تلفات انگل‌ها در بدن پشه می‌شوند (۴). هام (Hume) و همکاران در سال ۲۰۰۷ حساسیت آنوفل گامبیه و آنوفل استغنی را به سویه‌های مختلف پلاسمودیوم فالسیپاروم مورد بررسی قرار دادند و تنوع آلودگی این دو آنوفل را به سویه‌های مورد مطالعه پلاسمودیوم فالسیپاروم اثبات کردند و اذعان داشتند که تعامل آنوفل و پلاسمودیوم به ایزوله پشه و انگل وابسته است (۱۸). محمدزاده و همکاران در سال ۲۰۰۵ تأثیر آنتی-بادی‌های تولید شده بر علیه آنتی‌ژن‌های معده و غدد بزاقی

ظروف پلاستیکی مخصوص و در انسکتاریوم نگهداری شدند.

آلوده‌سازی موش‌ها با انگل پلاسمودیوم برگئی: در این مطالعه از انگل پلاسمودیوم برگئی سویه ANKA استفاده گردید. این سویه از دانشگاه ابردین اسکاتلند تهیه شده و به ایران انتقال داده شده بود. انگل پلاسمودیوم برگئی در تانک نیتروژن مایع نگهداری می‌شد. به ۱۰ سر موش سوری هر کدام ۱۰۰ میکرولیتر فینیل هیدرازین که به نسبت ۱:۱۰۰ با آب مقطر رقیق شده بود، تزریق گردید. سه روز پس از تزریق فینیل هیدرازین، از قلب موش‌هایی که قبلاً به پلاسمودیوم برگئی آلوده شده بودند و میزان پارازیتی آن‌ها بالا بود با استفاده از سرنگ حاوی مقدار اندکی هپارین خون‌گیری و به این گروه از موش‌ها به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. از روز اول پس از انتقال انگل، هر روز خون موش‌های آلوده مورد بررسی قرار می‌گرفت؛ بدین صورت که از انتهای دم موش‌ها خون‌گیری انجام شده و با افزودن یک قطره از محیط کشت اووکینت (محیط RPMI1640 حاوی گلوتامین و HEPES به علاوه ۲ گرم بی کربنات سدیم، ۵۰ میلی گرم هیپوگزانتین، ۵۰۰۰۰ واحد پنی‌سیلین و ۵۰ میلی گرم استرپتومایسین به ازای هر لیتر از محیط کشت که پس از تنظیم PH در ۸/۳ و استریل کردن با فیلتر به آن ۱۰ درصد FBS غیر فعال شده اضافه شد) به یک قطره از خون، میزان بروز اکسفلازیشن (تبدیل میکروگامتوسیت به ۶ تا ۸ میکروگامت کوچک تاژکدار در معده پشه آنوفل، که این حالت با استفاده از محیط کشت اووکینت در شرایط آزمایشگاه نیز قابل انجام است)، مورد بررسی قرار گرفت. خون قلب موش‌هایی که در هر میدان میکروسکوپی با عدسی ۴۰ بیش از ۱۰ عدد اکسفلازیشن داشتند پس از بیهوشی با استفاده از سرنگ حاوی هپارین گرفته شد.

آلوده‌سازی پشه‌های آنوفل استغنیسی:

آنوفل استغنیسی را بر روی طول عمر و میزان تخمگذاری ناقل بررسی کرده و گزارش کردند که این آنتی‌بادی‌ها باعث کاهش طول عمر و میزان تخمگذاری این گونه می‌شود (۱۹). آنوفل استغنیسی به عوامل ایجادکننده مالاریای انسانی و عوامل ایجادکننده مالاریای موشی مانند پلاسمودیوم برگئی حساس است (۲۰) و به همین دلیل پلاسمودیوم برگئی به عنوان مدل آزمایشگاهی برای مطالعات تجربی انتقال مالاریا و بیولوژی اثر تعاملی انگل و ناقل به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است (۲۱،۲۰). در این مطالعه با استفاده از انگل پلاسمودیوم برگئی تفاوت‌های جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استغنیسی در توانایی انتقال پلاسمودیوم تعیین گردید. این مطالعه می‌تواند پایه‌ای برای شناخت عوامل مؤثر بر اختلاف حساسیت جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل‌ها نسبت به پلاسمودیوم‌ها و استفاده از این عوامل در مطالعات مربوط به واکسن‌های قطع‌کننده سیکل اسپوروگونی باشد.

روش بررسی

پرورش پشه‌های آنوفل استغنیسی:

پشه‌های آنوفل استغنیسی جمع‌آوری شده از شهرهای بندرعباس، ایرانشهر و کازرون به همراه پشه‌های آنوفل استغنیسی بومی هندوستان (Beach) در شرایط انسکتاریوم (دمای 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 70 ± 10 درصد) پرورش داده شدند. برای تغذیه پشه‌های بالغ از محلول گلوکز ۵ درصد و پارا آمینو بنزوئیک اسید ۰/۰۵ درصد استفاده گردید. روشنایی در انسکتاریوم بر اساس ۱۲ ساعت نور قوی روز، ۰/۵ ساعت نور ضعیف صبحگاهی، ۰/۵ ساعت نور ضعیف غروب و ۱۱ ساعت تاریکی شب تنظیم شده بود. یک روز پیش از آلوده‌سازی پشه‌های آنوفل، پشه‌های ماده ۳ تا ۱۰ روزه را از قفس نگهداری پشه‌هایی که خونخواری نکرده بودند جدا کرده و بدون غذا در

به اسپروژوئیت، ۲۰ روز پس از آلوده‌سازی پشه‌ها، غدد بزاقی پشه را تشریح کرده و با له کردن آن روی لام، لام‌ها را با متانول فیکس کرده، سپس با استفاده از رنگ گیمسای ۵ درصد به مدت نیم ساعت رنگ‌آمیزی کرده و متعاقب آن با عدسی ۱۰۰ میکروسکوپ و روغن ایمرسیون به بررسی لام‌ها از نظر وجود اسپروژوئیت پرداخته می‌شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

آنالیز آماری داده‌های مربوط به میزان آلودگی جمعیت‌های مختلف آنوفل استغفسی به مراحل اووسیست و اسپروژوئیت انگل پلاسمودیوم برگنی با استفاده از روش ANOVA (دوطرفه) و تست Games-howel انجام شد.

یافته‌ها

روند افزایش میزان اکسفلاژلیشن خون موش‌های آلوده از روز سوم مشهود بود. ولی از روز چهارم با شیب زیادی میزان اکسفلاژلیشن در خون موش‌ها افزایش یافت و نهایتاً در روز هفتم به اوج رسید و در روزهای بعد روند ثابتی در میزان افزایش اکسفلاژلیشن مشاهده گردید که این امر تا روز نهم ادامه داشت (نمودار شماره یک). جمعیت Beach با ۴۵/۲۱ درصد آلودگی به اووسیست بالاترین نسبت آلودگی را در بین چهار جمعیت جغرافیایی داشت. پس از آن، جمعیت جغرافیایی کازرون با ۳۶/۱۱ درصد آلودگی و جمعیت جغرافیایی ایرانشهر با ۲۱/۹۲ درصد آلودگی بودند. جمعیت جغرافیایی بندرعباس نیز با ۱۴/۱۵ درصد آلودگی به اووسیست، پایین‌ترین میزان آلودگی را در بین جمعیت‌های جغرافیایی داشت. آنالیز آماری به روش ANOVA و تست Games-howel ($\alpha < 0.05$) اختلاف معناداری بین جمعیت Beach و ایرانشهر، Beach و بندرعباس همچنین بین کازرون و بندرعباس نشان داد. جمعیت جغرافیایی Beach با میانگین ۱۴۴/۰۳ عدد اووسیست بالاترین میانگین تعداد اووسیست بر روی دیواره معده‌های

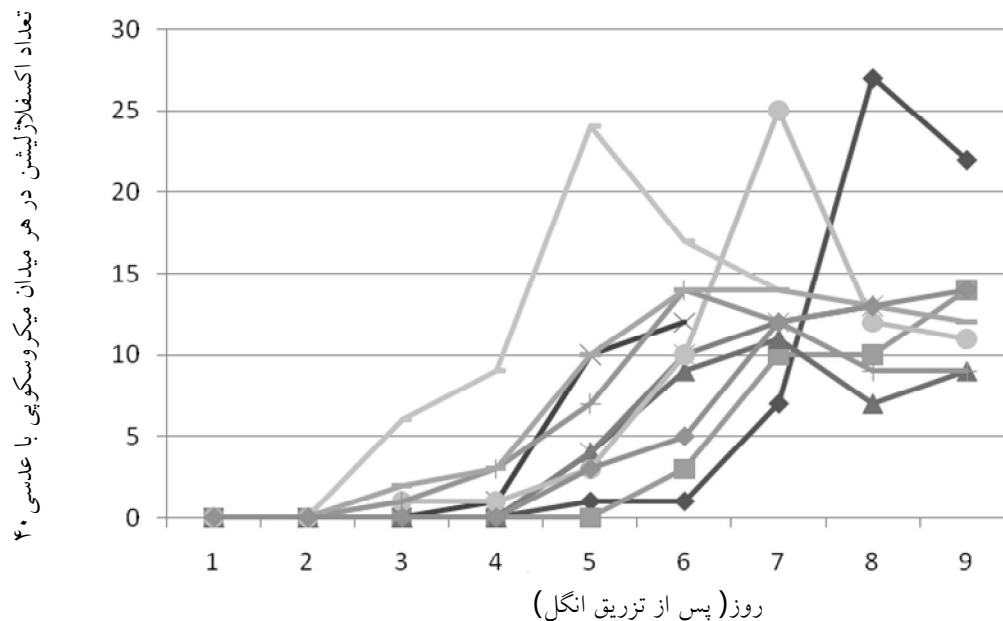
نظر به این که خونی که در اختیار گروه‌های مختلف پشه‌ها قرار می‌گیرد، باید آلودگی یکسانی داشته باشد، خون موش‌ها را با هم مخلوط کرده و به مقدار مساوی برای چهار جمعیت جغرافیایی آنوفل استغفسی تقسیم شد. برای خونخواری پشه‌ها یک سی‌سی خون آلوده به انگل را روی یک شیشه مات با ابعاد ۴×۴ سانتی‌متر که قبل از کار استریل شده بودند، ریخته و سپس با استفاده از پارافیل روی آن پوشانده شده و روی قفس پشه‌های هر جمعیت جغرافیایی قرار داده می‌شد. با استفاده از دستگاه خون‌دهی مصنوعی که با جریان یک‌نواخت آب گرم با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و با تماسی که شیشه‌های حاوی آب گرم این دستگاه با شیشه‌های حاوی خون داشتند، دمای خونی که در روی قفس پشه‌ها بود ۳۷ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شده و شرایط یکسانی برای پشه‌ها فراهم می‌شد. خون آلوده به مدت ۳۰ دقیقه در اختیار پشه‌ها قرار می‌گرفت، سپس پشه‌هایی که از خون آلوده تغذیه نموده بودند در مکانی با دمای تقریبی ۲۰/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبتی مشابه انسکتاریوم نگهداری شدند. یک روز پس از خونخواری، پشه‌های خون نخورده، به وسیله آسپیراتور از ظروف نگهداری پشه‌ها خارج و فقط پشه‌های خون خورده نگهداری شدند.

بررسی آلودگی پشه‌های آنوفل استغفسی:

برای تشخیص آلودگی پشه‌ها و بررسی مراحل مختلف چرخه زندگی انگل در بدن پشه‌های ناقل، پشه‌های آلوده شده در زمان‌های معین تشریح شدند. جهت بررسی دیواره معده پشه‌ها از نظر وجود اووسیست، ۱۲ روز پس از خونخواری پشه‌ها، معده را تشریح کرده و روی لام قرار داده شدند. سپس با یک قطره مرکوکروم ۲ درصد روی آن‌را پوشانده و یک عدد لام روی آن قرار داده می‌شد، پس از آن با عدسی ۱۰ یا ۴۰ میکروسکوپ مورد بررسی قرار می‌گرفتند که در این حالت اووسیست‌ها رنگ قرمز گرفته و قابل رؤیت و شمارش بودند. به منظور تعیین پشه‌های آلوده

درصد بود و این در حالیست که این نسبت در جمعیت‌های جغرافیایی کازرون و ایرانشهر به ترتیب ۲۶.۲۷ درصد و ۱۴.۹۱ درصد بود. جمعیت جغرافیایی بندرعباس نیز با نسبت آلودگی ۷.۸۲ درصد پایین‌ترین نسبت آلودگی به اسپروژوئیت را در بین جمعیت‌های جغرافیایی نشان می‌داد. نسبت آلودگی به اسپروژوئیت در جمعیت Beach بیش از چهار برابر این نسبت در بندرعباس بود و نسبت آلودگی به اسپروژوئیت در جمعیت کازرون نیز بیش از سه برابر این نسبت در جمعیت بندرعباس بود. آنالیز آماری به روش ANOVA و تست Games-howel ($\alpha < 0.05$) اختلاف معناداری بین جمعیت Beach و ایرانشهر، Beach و بندرعباس همچنین بین کازرون و بندرعباس نشان داد (جدول شماره یک).

آلوده را داشت. جمعیت جغرافیایی کازرون با اختلاف نسبتاً کمی نسبت به Beach و با میانگین ۱۳۱.۵۵ عدد اووسیست بر روی دیواره معده‌های آلوده در مرتبه دوم قرار گرفت و پس از آن جمعیت جغرافیایی ایرانشهر با اختلاف نسبتاً زیادی؛ یعنی میانگین ۱۰۶.۲۴ عدد اووسیست بر روی دیواره معده قرار گرفت. جمعیت جغرافیایی بندرعباس نیز با کمترین میانگین تعداد اووسیست (۷۰.۷۳ عدد)، پایین‌تر از بقیه قرار گرفت. میانگین تعداد اووسیست در جمعیت جغرافیایی Beach بیش از دو برابر میانگین تعداد اووسیست در جمعیت جغرافیایی بندرعباس بود که این اختلاف چشمگیر است. نتایج مربوط به بررسی پشه‌ها از نظر آلودگی به اسپروژوئیت اختلاف واضحی را بین جمعیت‌های جغرافیایی نشان می‌داد به طوری که نسبت پشه‌های آلوده به اسپروژوئیت در جمعیت جغرافیایی Beach، ۳۳.۳۳



نمودار شماره ۱؛ روند تغییرات تعداد اکسفلاژلشن خون موش‌های مورد آزمایش پس از تزریق انگل (هر کدام از منحنی‌ها مربوط به یک موش مورد آزمایش می‌باشد)

جمعیت جغرافیایی	شده (معدله)	تعداد پشه تشریح	اوسیسیت	تعداد پشه آلوده به	نسبت آلودگی به اوسیسیت	معدله آلوده روی هر میانگین تعداد اوسیسیت	تعداد پشه تشریح	اسپروژوئیت	نسبت آلودگی به اسپروژوئیت
Beach	۱۱۵	۵۲	۴۵/۲۱	۱۴۴/۰۳ (۹/۰۹)	۱۱۷	۳۹	۳۳/۳۳		
کازرون	۱۰۸	۳۹	۳۷/۱۱	۱۳۱/۵۳ (۸/۹۳)	۱۱۸	۳۱	۲۶/۲۷		
ایران شهر	۱۱۴	۲۵	۲۱/۹۲	۱۰۶/۲۴ (۷/۲۸)	۱۱۴	۱۷	۱۴/۹۱		
بندرعباس	۱۰۶	۱۵	۱۴/۱۵	۷۰/۷۳ (۵/۶۴)	۱۱۵	۹	۷/۸۲		

جدول شماره ۱: وضعیت آلودگی جمعیت‌های مختلف آنوفل استغنیسی به مراحل اووسیسیت و اسپروژوئیت انگل پلاسمودیوم

برگشتی

بحث

بالاترین و پایین‌ترین میزان هم‌آگلوتیناسیون را به ترتیب در جمعیت‌های کازرون و بندرعباس گزارش نمودند (۱۱). به نظر می‌رسد میزان رشد انگل پلاسمودیوم در معده این پشه رابطه مستقیمی با میزان هم‌آگلوتیناسیون معده پشه دارد. کادوتا (Kadota) و همکاران در سال ۲۰۰۴ اختلاف حساسیت بین آنوفل استغنیسی و آنوفل گامبیه را به انگل پلاسمودیوم برگشتی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که در آلودگی آنوفل استغنیسی و آنوفل گامبیه به پلاسمودیوم برگشتی به‌طور متوسط به ترتیب: ۳۶۲ و ۶۷ عدد اووسیسیت روی معده این دو گونه آنوفل دیده می‌شود (۲۲). سیندن و بیلینگسلی (Billingsley & Sinden) در سال ۱۹۹۷ با توجه به مطالعات انجام شده در زمینه حساسیت گونه‌های مختلف پشه‌ها از جنس‌های آنوفل، کولکس و آئدس به پلاسمودیوم‌های غیر انسانی و پلاسمودیوم فالسیپاروم، اختلاف حساسیت بین آنها را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که ایتراکشن بین انگل و ناقل اختصاصی است (۲۳). نتایج هام (Hume) و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان می‌دهد که آنوفل استغنیسی و آنوفل گامبیه پرورش داده شده در شرایط انسکتاریوم به‌طور موفقیت‌آمیز ایزوله‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم متعلق به کنیا را انتقال می‌دهند و این در حالیست که این دو گونه پشه آنوفل، ناقلین ضعیفی برای ایزوله‌های مربوط به گینه نو می‌باشند. همچنین گزارش نمودند که آنوفل استغنیسی نسبت به

به نظر می‌رسد ۴ تا ۷ روز پس از آلوده‌سازی موش - ها، از هر ۱۰ سر موش آلوده حداقل سه سر موش با میزان گامتوسیت مناسب برای امر آلوده‌سازی پشه‌ها به - دست می‌آید که این تعداد موش با آلودگی مورد نظر، برای آلوده‌سازی چهار گروه پشه کافی بود. با توجه به اینکه نسبت پشه‌های آلوده به مراحل اووسیسیت و اسپروژوئیت در جمعیت Beach بیشتر از سایر جمعیت - ها است، لذا پشه‌های این جمعیت حساسیت بالاتری نسبت به این مراحل انگل پلاسمودیوم برگشتی در مقایسه با سایر جمعیت‌ها دارند. جمعیت کازرون نیز حساسیت نسبتاً بالایی نسبت به مراحل اووسیسیت و اسپروژوئیت انگل دارد. جمعیت‌های ایران شهر و بندرعباس به ترتیب حساسیت کمتری نسبت به این مراحل انگل پلاسمودیوم برگشتی دارند. همچنین در مقایسه میانگین تعداد اووسیسیت تشکیل شده بر روی دیواره معده پشه‌ها نیز جمعیت Beach و به دنبال آن جمعیت کازرون بالاترین حساسیت را نشان دادند. به نظر می‌رسد که شرایط معده پشه‌های جمعیت‌های Beach و کازرون بستر مناسبی برای تبدیل اووئیت به اووسیسیت و نیز رشد اووسیسیت انگل پلاسمودیوم برگشتی است. با توجه به نتایج مطالعه باصری و همکاران در سال ۲۰۰۴ در خصوص خاصیت هم‌آگلوتیناسیون در معده جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استغنیسی مربوط به کازرون، ایران شهر و بندرعباس که

در مناطق مختلف می‌تواند در نتیجه تأثیر عوامل محیطی مانند: تماس با انگل، سازگاری با آن و سایر عوامل باشد یا به عبارتی عوامل محیطی نقش کلیدی در سازگاری یا انتقال انگل پلاسمودیوم در بدن پشه دارد. شناخت عوامل مؤثر بر اختلاف حساسیت جمعیت‌های مختلف جغرافیایی به پلاسمودیوم می‌تواند کمک شایانی به تعیین استراتژی قطع انتقال پلاسمودیوم با تأکید بر تولید واکسن‌های قطع‌کننده سیکل اسپروگونی نماید.

قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین است. بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی تهران تشکر به عمل می‌آید.

آنوفل گامبیه، ناقل بهتری برای ایزوله‌های پلاسمودیوم فالسپاروم مربوط به تایلند می‌باشد (۱۸). نتایج بررسی توانایی انتقال برخی گونه‌های پلاسمودیوم به‌وسیله آنوفل استغنیسی، آنوفل گامبیه و آئدس اجیپتی حاکی از آن است که هر سه گونه پشه توانایی انتقال پلاسمودیوم گالیناسئوم را دارند. ولی فقط گونه‌های آنوفل توانایی انتقال پلاسمودیوم برگئی را دارند (۲۴).

نتیجه‌گیری

در یک جمع‌بندی کلی با توجه به مقایسه جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استغنیسی به پلاسمودیوم برگئی و تفاوت‌های مشاهده شده بین این جمعیت‌ها و همچنین بررسی سایر مطالعات در این زمینه به نظر می‌رسد که تفاوت‌های اکولوژیکی و محیطی بین جمعیت‌های جغرافیایی هم در خصوصیات ژنتیکی، مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی آنها و هم در میزان سازگاری جمعیت‌های مختلف به پلاسمودیوم‌ها تأثیرگذار می‌باشد. تفاوت‌های درون گونه‌ای پشه‌های آنوفل در انتقال انگل پلاسمودیوم

منابع

- 1-World Health Organization. World malaria report 2011. Geneva: World Health Organization; 2011.
- 2-Hanafi-Bojd AA, Azari-Hamidian S, Vatandoost H, Charrahy Z. Spatio-temporal distribution of malaria vectors (Diptera:Culicidae) across different climatic zones of Iran. Asian Pac J Trop Med 2011;4(6):498-504.
- 3-Basseri HR, Doosti S, Akbarzadeh K, Nateghpour M, Whitten MM, Ladoni H. Competency of Anopheles stephensi mysorensis strain for Plasmodium vivax and the role of inhibitory carbohydrates to block its sporogonic cycle. Malar J 2008;17:131.
- 4-Whitten MM, Shiao SH, Levashina EA. Mosquito midguts and malaria: cell biology, compartmentalization and immunology. Parasite Immunol 2006;28(4):121-30.
- 5-Michel K, Kafatos FC. Mosquito immunity against Plasmodium. Insect Biochem Mol Biol 2005;35(7):677-89.
- 6-Mehravan A, Oshaghi MA, Vatandoost H, Abai MR, Ebrahimzadeh A, Roodi AM, et al. First report on Anopheles fluviatilis U in southeastern Iran. Acta Trop 2011;117(2):76-81.
- 7-Sedaghat MM, Harbach RE. An annotated checklist of the Anopheles mosquitoes (Diptera:Culicidae) in Iran. J Vector Ecol 2005;30(2):272-6.
- 8-Oshaghi MA, Yaaghoobi F, Abaie MR. Pattern of mitochondrial DNA variation between and within Anopheles stephensi (Diptera:Culicidae) biological forms suggests extensive gene flow. Acta Trop 2006;99(2-3):226-33.
- 9- Azari-Hamidian S. Checklist of Iranian mosquitoes (Diptera:Culicidae). J Vector Ecol 2007;32(2):235-42.
- 10-Mohammadi-Bowani M, Basseri HR, Mohammadzadeh-Hajipirloo H, Abaie MR, Hazrati-Tapeh Kh, Khashaveh Sh. [Comparison of effect of anti-mosquito midgut antibodies of Anopheles stephensi mosquito on sporogonic cycle of Plasmodium berghei in two strains of Anopheles stephensi]. Orumieh Univ Med J 2011;22(4):353-8. [In Persian]
- 11-Basseri HR, Safari N, Mousakazemi SH, Akbarzade K. Comparison of midgut hemagglutination activity in three different geographical populations of Anopheles stephensi. Iranian J Publ Health 2004;33(3):60-7.
- 12-Subbarao SK, Vasantha K, Sharma VP. Cytotaxonomy of certain malaria vectors of India. In: Service MW, ed. Biosystematics of Hematophagous Insects. Oxford, UK: Clarendon Press; 1988. P. 25-37.

- 13-Coluzzi M, Di Deco M, Cancrini G. Chromosomal inversions in *Anopheles stephensi*. *Parassitologia* 1973;15(1):129-36.
- 14-Anyanwu GI, Davies DH, Molyneux DH, Phillips A, Milligan PJ. Cuticular hydrocarbon discrimination/variation among strains of the mosquito, *Anopheles* (*Cellia*) *stephensi* Liston. *Ann Trop Med Parasitol* 1993;87(3):269-75.
- 15-Oshaghi MA, Yaaghoobi F, Vatandoost H, Abaei MR, Akbarzadeh K. *Anopheles stephensi* biological forms; geographical distribution and malaria transmission in malarious regions of Iran. *Pak J Biol Sci* 2006;9(2):294-8.
- 16-Doosti S, Basseri HR, Nateghpour M, Akbarzadeh K, Ladoni H, Shaeghi M. [Sporogony cycle of *Plasmodium vivax* in *Anopheles stephensi* mysorensis: inhibitory effects of certain carbohydrates on parasitic development]. *Teh Univ Med J* 2007;64(12):23-30. [In Persian]
- 17-Tajedin L, Hashemi J, Abaei M, Hosseinpour L, Rafei F, Basseri H. Study on Fungal Flora in the Midgut of the Larva and Adult of the Different Populations of the Malaria Vector *Anopheles stephensi*. *Iran J Arthropod Borne Dis* 2009;3(1):36-40.
- 18-Hume JC, Tunnicliff M, Ranford-Cartwright LC, Day KP. Susceptibility of *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi* to tropical isolates of *Plasmodium falciparum*. *Malar J* 2007;6:139.
- 19-Mohammadzadeh-Hajipirloo H, Edrissian GhH, Nateghpour M, Basseri H, Eslami MB, Billingsley PF. Effects of anti-mosquito salivary glands and deglycosylated midgut antibodies of *Anopheles stephensi* on fecundity and longevity. *Iranian J Publ Health* 2005;34(4):8-14.
- 20-Dixit R, Sharma A, Mourya DT, Kamaraju R, Patole MS, Shouche YS. Salivary gland transcriptome analysis during *Plasmodium* infection in malaria vector *Anopheles stephensi*. *Int J Infect Dis* 2009;13(5):636-46.
- 21-Jaramillo-Gutierrez G, Rodrigues J, Ndikuyeze G, Povelones M, Molina-Cruz A, Barillas-Mury C. Mosquito immune responses and compatibility between *Plasmodium* parasites and anopheline mosquitoes. *BMC Microbiol* 2009;9:154.
- 22-Kadota K, Ishino T, Matsuyama T, Chinzei Y, Yuda M. Essential role of membrane-attack protein in malarial transmission to mosquito host. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(46):16310-5.
- 23-Billingsley PF, Sinden RE. Determinant of Malaria-Mosquito specificity. *Parasitol Today* 1997;13(8):297-301.
- 24-Alavi Y, Arai M, Mendoza J, Tufet-Bayona M, Sinha R, Fowler K, et al. The dynamics of interactions between *Plasmodium* and the mosquito: a study of the infectivity of *Plasmodium berghei* and *Plasmodium gallinaceum* and their transmission by *Anopheles stephensi*, *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti*. *Int J Parasitol* 2003;33(9):933-43.

A comparative study on the susceptibility of geographical populations of main malaria vector, *Anopheles stephensi* with *Plasmodium berghei*

Kamyar Amrai ^{1*}, Hamid Reza Baseri ², Habib Mohammadzadeh Hajipirloo³, Shahla Khashaveh Khah⁴, Mohammad Reza Abai⁵, Hamideh Edalat⁶

1-Lecturer of Medical Entomology and Vector Control.

2- Assistant Professor of Medical Entomology and Vector Control.

3- Assistant Professor of Medical Entomology and Vector Control.

4- Chief Technician of Medical Entomology and Vector Control.

5- Lecturer of Medical Entomology and Vector Control.

6- Assistant Professor of Medical Entomology and Vector Control.

1-Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2- Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Health, Tehran University of Medical sciences Tehran, Iran.

3,4- Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Health, Orumieh University of Medical sciences, orumieh, Iran.

5,6- Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Health, Tehran University of Medical sciences, Tehran, Iran.

*Corresponding author:

Kamyar Amrai; Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Tel: +989364908885

Email: Amraee-k@ajums.ac.ir

Abstract

Introduction: *Anopheles stephensi* is one of the main vectors of malaria in the world including south of Iran. Three geographical populations for *An. stephensi* have been defined, based on egg morphology. The aim of the current study is determining the ability of different geographical populations of *An. stephensi* in the transmission of *Plasmodium berghei* using ANKA strain of this parasite.

Methods and Materials: Four geographical populations of *An. stephensi* from Bandar-Abbas, Iranshahr, Kazeroun and beach (native of India) were colonized. *P. berghei* strain ANKA was used to infect mice. Then the starved female mosquitoes of each population artificially fed on the infected blood of mice. In order to determine Oocyst and sporozoite development, mosquitoes were dissected at several time-points after infection.

Results: The populations of Beach and Kazeroun showed the highest infection rate as well as the highest density to oocyst development while the lowest oocyst infection was observed in Bandar-Abbas strain. Oocyst infection of Iranshahr strain was significantly higher than Bandar-Abbas but less than Beach and Kazeroun strains. The ratio of sporozoite infection in salivary glands of four populations followed the same order as oocyst infection. The highest salivary glands infection was observed in Beach population followed by Kazeroun population but Bandar-Abbas group showed the lowest salivary glands infection.

Conclusion: It seems that geographical and ecological separation of mosquito vectors not only cause some morphological, physiological and genetical changes but also affect the sensitivity of the vector to *Plasmodium*. Therefore impacts of each environment crucially affect *Plasmodium/Anopheles* interaction. So these findings may explain the transmission ability of some *Anopheles* in only a particular area. Also, the results may give basic evidence on the mechanism of *Plasmodium* adaptation to their mosquitoes' vectors.

Keywords: Malaria, *Anopheles stephensi*, *Plasmodium berghei*, Geographical populations

Received: April 11, 2012

Revised: May 12, 2012

Accepted: Sep 6, 2012