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

کامیار امرایی[1*]، حمیدرضا باصری[2]، حبیب محمدزاده حاجی پیرلو[3]، شهلا خشاوه[4]، محمدرضا عبایی[5]، حمیده عدالت[6]

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.
۴و۳- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه،ارومیه،ایران.
۶و۵- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران،ایران.

* نویسنده‌ی مسؤول:
کامیار امرایی؛ دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپوراهواز، اهواز، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۳۶٤۹۰۸۸۸۵
Email: Amraee-k@ajums.ac.ir

چکیده

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

روش بررسی: چهار جمعیت جغرافیایی از *آنوفل استفنسی* 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 زمان-های 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 بندر عباس 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 استفنسی*، *پلاسمودیوم برگئی*، جمعیت‌های جغرافیایی.

دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱/۲۳ **دریافت مقاله اصلاح‌شده: ۱۳۹۱/۲/۲۳** **اعلام قبولی: ۱۳۹۱/۳/۲۰**

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 (٤). 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 همولنف 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 ٤٦۳ گونه و بیش از ۵۰ گونه کمپلکس آنوفل در دنیا گزارش شده است که ۷۰ گونه آنها ناقل مالاریا هستند و از این بین ٤۰ گونه اهمیت بیشتری دارند (۲). در ایران ۳۱ گونه آنوفل شناسایی شده است که ۸ گونه از آنها ناقل مالاریا هستند (۹-٦). *آنوفل استفنسی* 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 استفنسی* در جنوب ایران گزارش شده است (۱۱). مطالعات مختلف تفاوت جمعیت‌های جغرافیایی *آنوفل استفنسی* را از نظر بیولوژی، اکولوژی (۱۲)، کروموزوم‌ها (۱۳) و هیدروکربن‌های موجود در کوتیکول آن‌ها (۱٤) نشان می‌دهد. عشاقی و همکاران در سال ۲۰۰٦ تفاوت‌های مرفولوژیک در تخم جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استفنسی را گزارش کردند (۸). آنها همچنین اختلافات جزئی ژنتیکی در میان جمعیت‌های جغرافیایی این گونه را مشخص نمودند (۱۵). باصری و همکاران در سال ۲۰۰٤ خاصیت هماگلوتیناسیون (قابلیت لخته‌شدن خون) را در معده جمعیت‌های جغرافیایی *آنوفل استفنسی* 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 استفنسی* بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که برخی کربوهیدرات‌ها احتمالاً اثر مهارکنندگی بر روی رشد انگل در چرخه اسپروگونی داشته باشند (۱٦). تاج‌الدین و همکاران در سال ۲۰۰۹ فلور قارچی معده لارو و بالغ جمعیت‌های جغرافیایی *آنوفل استفنسی* را بررسی نمودند که در این مطالعه معده لارو جمعیت‌های ایرانشهر و بندرعباس واجد قارچ آسپرژیلوس، ولی معده لارو جمعیت کازرون و بالغ کلیه جمعیت‌ها فاقد این قارچ بودند (۱۷). ویتن (Whitten) و همکاران در سال ۲۰۰٦ اثبات کردند که در آلودگی *آنوفل گامبیه* به *پلاسمودیوم برگئی* از بین سدهای پیش روی انگل، سلول‌های اپیتلیال معده باعث بیشترین تلفات انگل‌ها در بدن پشه می‌شوند (٤). هام (Hume) و همکاران در سال ۲۰۰۷ حساسیت *آنوفل گامبیه* و *آنوفل استفنسی* 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

آنوفل استفنسی 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 استفنسی* 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 استفنسی* 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 استفنسی*:

پشه‌های *آنوفل استفنسی* جمع‌آوری شده از شهرهای بندرعباس، ایرانشهر و کازرون به همراه پشه‌های آنوفل استفنسی بومی هندوستان (Beach) در شرایط انسکتاریوم (دمای ۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ 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 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 فنیل هیدرازین که به نسبت ۱:۱۰۰ با آب مقطر رقیق شده بود، تزریق گردید. سه روز پس از تزریق فنیل هیدرازین، از قلب موش‌هایی که قبلاً به پلاسمودیوم برگئی آلوده شده بودند و میزان پارازیتمی 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 میلی‌گرم هیپوگزانتین، ۵۰۰۰۰ واحد پنی‌سیلین و ۵۰ میلی‌گرم 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 اکسفلاژلیشن (تبدیل میکروگامتوسیت به ٦ تا ٨ 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 ٤٠ بیش از ۱۰ عدد اکسفلاژلیشن داشتند پس از بیهوشی با استفاده از سرنگ حاوی هپارین گرفته شد.

آلوده‌سازی پشه‌های *آنوفل استفنسی*:

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 استفنسی* تقسیم شد. برای خونخواری پشه‌ها یک سی‌سی خون آلوده به انگل را روی یک شیشه مات با ابعاد ٤×٤ سانتی‌متر که قبل از کار استریل شده بودند، ریخته و سپس با استفاده از پارافیلم 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 پشه-هایی 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، به‌وسیله آسپیراتور از ظروف نگهداری پشه‌ها خارج و فقط پشه‌های خون خورده نگهداری شدند.

بررسی آلودگی پشه‌های *آنوفل استفنسی*:

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 ٤۰ میکروسکوپ مورد بررسی قرار می-گرفتند که در این حالت اووسیست‌ها رنگ قرمز گرفته و قابل رؤیت و شمارش بودند. به منظور تعیین پشه‌های آلوده به اسپروزوئیت، 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 اسپروزوئیت پرداخته می‌شد.

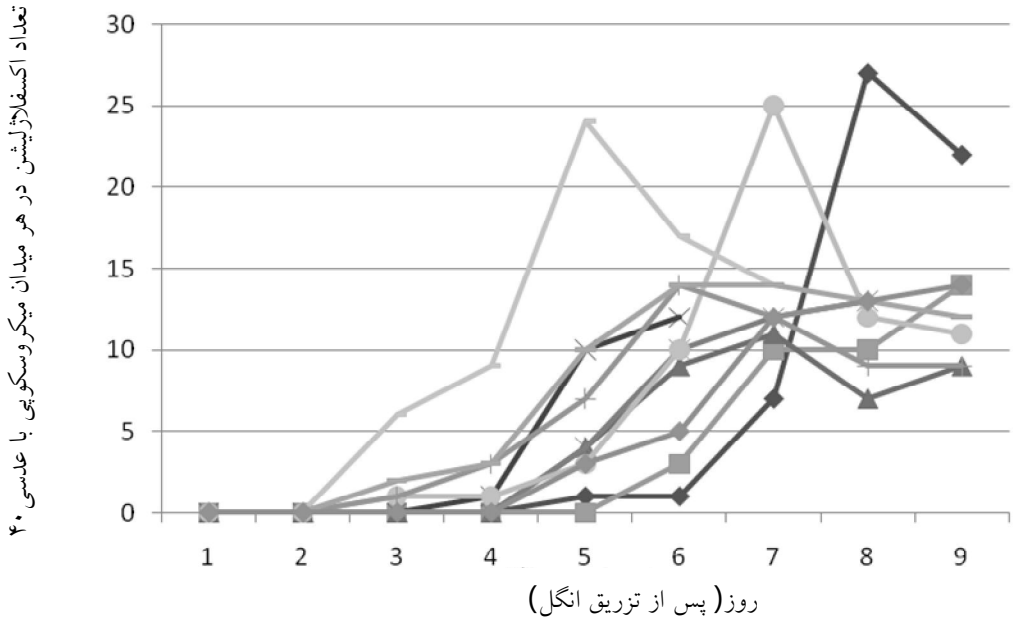
تجزیه و تحلیل داده‌ها:

آنالیز آماری داده‌های مربوط به میزان آلودگی جمعیت-های مختلف آنوفل استفنسی به مراحل اووسیست و اسپروزوئیت انگل پلاسمودیوم برگئی با استفاده از روش ANOVA (دوطرفه) و تست Games-howel انجام شد.

یافته ها

روند افزایش میزان اکسفلاژلیشن خون موش‌های آلوده از روز سوّم 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 ٤۵/۲۱ درصد آلودگی به اووسیست بالاترین نسبت آلودگی را در بین چهار جمعیت جغرافیایی داشت. پس از آن، جمعیت جغرافیایی کازرون با ۳٦/۱۱ درصد آلودگی و جمعیت جغرافیایی ایرانشهر با ۲۱/۹۲ درصد آلودگی بودند. جمعیت جغرافیایی بندرعباس نیز با ۱٤/۱۵ درصد آلودگی به اووسیست، پایین‌ترین میزان آلودگی را در بین جمعیت-های 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 ۱٤٤/۰۳ عدد اووسیست بالاترین میانگین تعداد اووسیست بر روی دیواره معده‌های

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 ۱۰۶.۲٤ 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 اسپروزوئیت اختلاف واضحی را بین جمعیت‌های جغرافیایی نشان می‌داد به طوری که نسبت پشه‌های آلوده به اسپروزوئیت در جمعیت جغرافیایی Beach، ۳۳.۳۳ درصد بود و این در حالیست که این نسبت در جمعیت-های جغرافیایی کازرون و ایرانشهر به ترتیب ۲٦.۲۷ درصد و ۱٤.۹۱ درصد بود. جمعیت جغرافیایی بندرعباس نیز با نسبت آلودگی۷.۸۲ درصد پایین‌ترین نسبت آلودگی به اسپروزوئیت را در بین جمعیت‌های جغرافیایی نشان می‌داد. نسبت آلودگی به اسپروزوئیت در جمعیت Beach بیش از چهار برابر این نسبت در بندرعباس بود و نسبت آلودگی به اسپروزوئیت 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).



نمودار شماره ی۱: روند تغییرات تعداد اکسفلاژلیشن خون موش های مورد آزمایش پس از تزریق انگل (هر کدام از منحنی ها مربوط به یک موش مورد آزمایش می باشد)

جمعیت جغرافیایی	تعداد پشه تشریح شده (معده)	تعداد پشه آلوده به اووسیست	نسبت آلودگی به اووسیست	میانگین تعداد اووسیست روی هر معده آلوده	تعداد پشه تشریح شده	تعداد پشه آلوده به اسپروزوئیت	نسبت آلودگی به اسپروزوئیت
Beach	۱۱۵	۵۲	٤٥/۲۱	۱٤٤/۰۳ (۹/۰۹)	۱۱۷	۳۹	۳۳/۳۳
کازرون	۱۰۸	۳۹	۳٦/۱۱	۱۳۱/۵۳ (۸/۹۳)	۱۱۸	۳۱	۲٦/۲۷
ایرانشهر	۱۱٤	۲۵	۲۱/۹۲	۱۰٦/۲٤ (۷/۲۸)	۱۱٤	۱۷	۱٤/۹۱
بندرعباس	۱۰٦	۱۵	۱٤/۱۵	۷۰/۷۳ (۵/٦٤)	۱۱۵	۹	۷/۸۲

جدول شماره ۱: وضعیت آلودگی جمعیت های مختلف *آنوفل استفنسی* به مراحل اووسیست و اسپروزوئیت انگل پلاسمودیوم *برگئی*

بحث

به نظر می‌رسد ٤ 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 اووسیست و اسپروزوئیت در جمعیت Beach بیشتر از سایر جمعیت-ها است، لذا پشه‌های این جمعیت حساسیت بالاتری نسبت به این مراحل انگل *پلاسمودیوم برگئی* در مقایسه با سایر جمعیت‌ها دارند. جمعیت کازرون نیز حساسیت نسبتاً بالایی نسبت به مراحل اووسیست و اسپروزوئیت انگل دارد. جمعیت‌های ایرانشهر و بندرعباس به ترتیب حساسیت کمتری نسبت به این مراحل *انگل پلاسمودیوم برگئی* دارند. همچنین در مقایسه میانگین تعداد اووسیست تشکیل شده بر روی دیواره معده پشه‌ها نیز جمعیت Beach و به دنبال آن جمعیت کازرون بالاترین حساسیت را نشان دادند. به نظر می رسد که شرایط معده پشه‌های جمعیت‌های Beach و کازرون بستر مناسبی برای تبدیل اووکینت به اووسیست و نیز رشد اووسیست *انگل پلاسمودیوم برگئی* است. با توجه به نتایج مطالعه باصری و همکاران در سال ۲۰۰٤ در خصوص خاصیت هماگلوتیناسیون در معده جمعیت‌های جغرافیایی آنوفل استفنسی مربوط به کازرون، ایرانشهر و بندرعباس که بالاترین و پایین‌ترین میزان هماگلوتیناسیون 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 هماگلوتیناسیون معده پشه دارد. کادوتا (Kadota) و همکاران در سال ۲۰۰٤ اختلاف حساسیت بین *آنوفل استفنسی* و *آنوفل گامبیه* را به انگل *پلاسمودیوم برگئی* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که در آلودگی *آنوفل استفنسی* و *آنوفل گامبیه* به *پلاسمودیوم برگئی* به‌طور متوسط به ترتیب: ۳٦۲ و ٦۷ عدد اووسیست 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 اینتراکشن بین انگل و ناقل اختصاصی است (۲۳). نتایج هام (Hume) و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان می-دهد که *آنوفل استفنسی* و *آنوفل گامبیه* پرورش داده شده در شرایط انسکتاریوم به‌طور موفقیت‌آمیز ایزوله‌های *پلاسمودیوم فالیسپاروم* 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 استفنسی* نسبت به

آنوفل گامبیه، ناقل بهتری برای ایزوله‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم مربوط به تایلند می‌باشد (۱۸). نتایج بررسی توانایی انتقال برخی گونه‌های پلاسمودیوم به‌وسیله *آنوفل استفنسی*، *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 (۲٤).

نتیجه‌گیری

در یک جمع‌بندی کلی با توجه به مقایسه جمعیت‌های جغرافیایی *آنوفل استفنسی* 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* 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.

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-Mehravaran 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 moquitoes (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 Hajipirloo[3], Shahla Khashaveh Khah[4], Mohammad Reza Abai[5], Hamideh Edalat[6]

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 Tecnician 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 mosquitos' vectors.

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

Received: April 11, 2012 **Revised: May 12, 2012** **Accepted: Sep 6, 2012**