مقایسه تاثیر آنتی‌بادی‌های ضد میان روده پشه آنوفل استفنسی بر روی چرخه اسپروگونی انگل پلاسمودیوم برگئی در دو سویه از آنوفل استفنسی

مولود محمدی بوانی[۱]، دکتر حمیدرضا باصری[۲]، دکتر حبیب محمدزاده حاجی پیرلو[۳]*، مهندس محمدرضا عبایی[٤]، دکتر خسرو حضرتی تپه[٥]، شهلا خشاوه[٦]

تاریخ دریافت: 14 تیر 1390 تاریخ پذیرش: 1 شهریور 1390

چکیده

پیش زمینه و هدف: انگل مالاریا برای ادامه چرخه زندگی در بدن ناقلین، به مولکول‌های مختلف موجود در دیواره میان روده پشه آنوفل می‌چسبد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر آنتی‌بادی‌های ضد مولکول‌های موجود در میان روده درجهت پوشانیدن این مولکول‌ها و در نتیجه قطع انتقال انگل‌های مالاریا در بدن این ناقلین است.

مواد و روش کار: میان روده پشه‌های ماده سویه تایپ فرم (معروف به سویه‌بیچ) آنوفل استفنسی از بدن پشه خارج، هموژنیزه و قندزدایی گردید. محصول حاصل به‌همراه ادجوانت آلوم به موش‌های بالب‌سی تزریق شد. موش‌های شاهد اجوان‌آلوم به‌همراه بافر و یا تنها آلوم دریافت کردند. تشکیل آنتی‌بادی ضدپروتئین‌های میان روده با روش الیزا تایید شد. گلبول‌های قرمز حاوی انگل پلاسمودیوم برگئی به‌همراه سرم موش‌های ایمن شده درمقابل آنتی‌ژن میان روده و یا موش‌های شاهد ازطریق مصنوعی به سویه بیچ و سویه تایپ فرم دیگری (اصالتاً از بندرعباس) از پشه‌های آنوفل خورانده شد و رشد انگل در بدن آن‌ها بررسی و مقایسه گردید.

یافته‌ها: در مورد سویه بیچ درصد آلودگی میان روده به اووسیست در پشه‌های خون‌خورده از موش‌های ایمن ۲۳/۱درصد و در پشه‌های خون‌خورده از موش‌های شاهد ۵۷/۸درصد بود که اختلاف معنی‌داری داشتند($p<۰/۰۰۱$). میانگین تعداد اووسیست‌های روی میان روده نیز متفاوت بود (به‌ترتیب ۴ در مقابل ۳۵/۵ عدد). همچنین درحالی‌که در غدد بزاقی پشه‌های گروه تیمار اسپروزوئیت مشاهده نگردید، در ۱۳/۳درصد از غدد بزاقی پشه‌های شاهد اسپروزوئیت وجود داشت. در مورد گروه‌های تیمار و شاهد سویه بندرعباس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری: باتوجه به تاثیر متفاوت آنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های روده پشه‌های ناقل مالاریا بر سویه‌های مختلف ناقلین و ضرورت کارآیی حداکثر ایمن‌سازی باید از آنتی‌ژن‌هایی استفاده کرد که در سویه‌ها و گونه‌های مختلف ناقل مشترک بوده و تاثیر مثبت بر اکثریت آنان و به‌خصوص بر ناقلین مهم مالاریا داشته باشد.

کلید واژه‌ها: مالاریا، سیکل اسپروگونی، آنوفل استفنسی، میان روده، پلاسمودیوم برگئی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره چهارم، ص ۳۵۸-۳۵۳، مهر و آبان ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه: ایران، ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، صندوق پستی ۱۱۳۸، تلفن همراه: ۰۹۱۴۴۴۳۰۵۴۲

Email: habibmhaji@yahoo.com

[۱] کارشناس ارشد حشره شناسی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[۲] دکترای تخصصی حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

[۳] دکترای تخصصی انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

[٤] کارشناس ارشد حشره شناسی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

[٥] دکترای تخصصی انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[٦] تکنسین علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

مقدمه

علی‌رغم پیشرفت‌های سریع دانش پزشکی بیماری مالاریا هنوز به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های انگلی در دنیا مطرح بوده و در ۱۰۹ کشور به‌صورت آندمیک حضور دارد (۱). ایران با قرارگرفتن در منطقه معتدله شمالی و شرق مدیترانه و با داشتن آب و هوای متنوع در منطقه اندمیک نقشه جهانی گسترش مالاریا قرار دارد (۲).

اقدامات گذشته در رابطه با کنترل بیماری نتوانسته‌اند باعث ریشه‌کنی مالاریا گردند و سازمان بهداشت جهانی چاره کار را در ساخت واکسن‌های موثر ضد مالاریا می‌داند. تحقیقات متنوعی جهت ساخت واکسن مالاریا در سراسر جهان در حال انجام است و محققان از مراحل مختلف چرخه انگل از جمله اسپروزوئیت‌ها و اشکال خونی انگل به‌عنوان کاندیداهای تهیه واکسن استفاده می‌کنند. به‌نظر می‌رسد مرحله عبور اووکینت انگل از دیواره میان روده (midgut) پشه‌های آنوفل که ناقل این بیماری هستند، بتواند تحت تاثیر عوامل مختلف مانند استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های میان روده و یا بلوکه کردن لکتین‌های سطحی میان روده قرار گرفته و از خروج اووکینت ممانعت به‌عمل آید. این روش‌ها اساس ساخت واکسن‌های بلوکه کننده انتقال[1] را تشکیل می‌دهند. Zieler و همکارانش در سال ۱۹۹۹ نحوه حمله و چسبیدن انگل P. gallinaceum را به سلول‌های میان روده Aedes aegypti و واکنش آن‌را با لیگاندهای سطح میان روده بررسی نموده و نقش عوامل متعددی چون پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها را در اتصال انگل به سلول‌های میان روده مشخص نمودند (۳). Altaf و همکارانش در سال ۲۰۰۱ به بررسی تاثیر آنتی‌بادی‌های ضد میان روده بر روی آلودگی پشه‌های آنوفل به پلاسمودیوم فالسیپاروم پرداختند و پی بردند پشه‌هایی که از خون حاوی آنتی‌بادی‌های ضد میان روده تغذیه کرده بودند نسبت به گروه کنترل اووکینت، اووسیست و اسپروزوئیت کم‌تری تولید کرده و همچنین میزان باروری آن‌ها نیز کاهش یافته بود (۴). Arrighi و Hurd نقش مولکول‌های سطحی اووکینت در اتصال به میان روده و تشکیل اووسیست در خارج میان روده را بررسی کردند (۵). Whitten و همکارانش در سال ۲۰۰۶ ثابت کردند که در آلودگی آنوفل گامبیه به پلاسمودیوم برگئی از بین سدهای پیش روی انگل، سلول‌های اپیتلیال میان روده باعث بیشترین تلفات انگل‌ها در بدن پشه می‌شوند (۶).

در ایران در سال ۱۳۸۳ دوستی و همکاران تاثیر کربوهیدرات‌ها روی چرخه اسپروگونی پلاسمودیوم ویواکس در آنوفل استفنسی را بررسی کردند (۷). و باصری و همکاران به بررسی فعالیت آگلوتیناسیون بین جمعیت‌های مختلف آنوفل استفنسی پرداختند و تفاوت‌هایی را در این مورد بین سویه‌های مختلف مشاهده کردند (۸). در سال ۱۳۸۴ نیز محمدزاده و همکاران تاثیر آنتی‌بادی‌های تولید شده بر علیه آنتی ژن‌های میان روده و غدد بزاقی آنوفل استفنسی را بر روی طول عمر و تخمگذاری ناقل بررسی کرده، ثابت کردند که آنتی‌بادی‌های ضد میان روده پشه آنوفل باعث کاهش تخمگذاری و طول عمر ناقل می‌شوند (۹).

در این مطالعه از دو سویه حساس آنوفل استفنسی به پلاسمودیوم برگئی استفاده شد تا ضمن بررسی تاثیر آنتی‌بادی‌های ضد میان روده بر چرخه زندگی انگل در ناقل، نحوه این تاثیر در سویه‌های مختلف ناقل با هم مقایسه گردند.

مواد و روش‌ها

انگل‌ها و ناقلین مورد استفاده:

دو سویه از پشه‌های آنوفل استفنسی[2] در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. سویه بندر عباس از استان هرمزگان صید و در حال حاضر در چندین انسکتاریوم در داخل کشور نگهداری می‌گردد. سویه بیچ Beech آنوفل استفنسی و انگل پلاسمودیوم برگئی[3] سویه ANKA هر دو از دانشگاه ابردین اسکاتلند تهیه و به ایران انتقال یافتند. پرورش پشه‌ها در انسکتاریوم و در دمای ۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳±۷۰ درصد صورت گرفت. برای تغذیه پشه‌های بالغ در تمام مراحل از محلول فروکتوز ۸درصد همراه پاراآمینوبنزوئیک اسید استفاده گردید. کارهای اجرائی این بررسی در گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی ارومیه انجام گرفت.

تهیه عصاره آنتی ژنی:

برای تشریح و جمع‌آوری میان روده از پشه‌های سویه بیچ که بین ۱۰-۳ روز سن داشتند استفاده شد. ۳۶۸۶ عدد پشه ماده تشریح و میان روده آن‌ها جمع‌آوری و در بافر PBS نگهداری شدند و سپس هموژنیزاسیون و قندزدایی مطابق روش اعلام شده قبلی صورت گرفت (۹). به‌صورت خلاصه رسوب در استات سدیم به‌صورت سوسپانسیون درآمده پس از سانتریفوژ کردن، رسوب حاصله در محلول اسید پریدیک در استات سدیم حل شد پس از یک ساعت در حرارت آزمایشگاه و دور از نور، مرحله سانتریفوژ مجدداً تکرار و رسوب در محلول استات سدیم حل شد. بعد از یک مرحله دیگر از سانتریفوژ، رسوب در محلول گلایسین در بافر

[1] Transmission Blocking Vaccines

[2] A. stephensi Type form

[3] P. berghei

تریس-سالین حل و ۳۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه نگهداری شد. آخرین مرحله سانتریفوژ اجرا و رسوب در بافر تریس-سالین حل گردید و پس از اندازه‌گیری و تنظیم پروتئین عصاره‌های آنتی‌ژنی در حد ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به نسبت ۱:۱ با آلوم (ادجوانت مورداستفاده) رقیق شدند.

ایمن سازی:

سه گروه ۱۰تایی از موش‌های بالب سی برای تزریق در نظر گرفته شدند که به گروه اول بافر تریس همراه آلوم، به گروه دوم فقط آلوم و به گروه سوم عصاره‌های آنتی ژنی همراه آلوم و بافر تریس تزریق شد. با رعایت فواصل ۳ هفته‌ای سه تزریق یادآور نیز انجام گرفت. ده روز پس از چهارمین ایمن سازی از موش‌ها خون‌گیری به عمل آمده و وجود آنتی‌بادی‌های ضد میان روده در سرم موش‌های ایمن (گروه سوم) با استفاده از روش الایزا و عصاره آنتی‌ژنی فوق‌الذکر به‌عنوان آنتی‌ژن تایید گردید.

آلوده سازی موش‌ها به انگل

به ۲۰ سر موش بالب سی هرکدام ۱۰۰میکرولیتر فنیل هیدرازین که به نسبت ۱:۱۰۰ با آب مقطر رقیق شده بود تزریق شد. سه روز بعد، از قلب موش‌هایی که قبلاً به پلاسمودیوم برگه‌ای آلوده شده بودند و درصد آلودگی آن‌ها بالا بود، خون‌گیری و به این گروه از موش‌ها پاساژ داده شد.

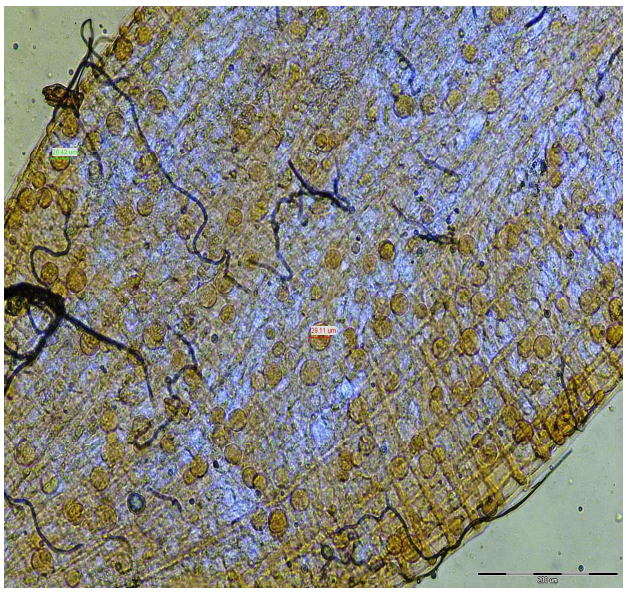
آلوده‌سازی پشه‌ها به انگل (سیکل اسپوروگونی)

سه روز پس از پاساژ انگل، از دم موش‌ها خون‌گیری انجام شد و با افزودن یک قطره از محیط کشت اووکینت (محیط RPMI 1640 حاوی گلوتامین و HEPES بعلاوه ۲ گرم بیکربنات سدیم، ۵۰ میلی‌گرم هیپوگزانتین، ۵۰۰۰۰ واحد پنی سیلین و ۵۰ میلی‌گرم استرپتومایسین به ازی هر لیتر از محیط کشت که پس از تنظیم pH در ۸/۳ و استریل کردن با فیلتر، به آن ۱۰درصد FBS غیرفعال شده اضافه شد.) به یک قطره از خون، میزان بروز اکسفلاژیلاسیون[1] بررسی گردید. خون قلب موش‌هایی که در هر میدان میکروسکوپی با لنز ۴۰ بیش از ۲۰ مرکز اکسفلاژیلاسیون داشتند پس از بیهوشی گرفته شده و رسوب گلبول‌های قرمز جدا شده و به نسبت ۱:۱ با سرم موش‌های گروه‌های ۱ تا ۳ رقیق گردیده و از طریق تغذیه غشائی به پشه‌های آنوفل استفنسی از دو سویه بیچ و بندرعباس خورانده شدند. داخل هر قفس حاوی پشه بین ۸۰ تا ۱۰۰ پشه وجود داشت که برای این تعداد پشه حدود ۳۰۰ میکرولیتر خون کافی بود.

این خون روی شیشه‌های مات با ابعاد ۴×۴ سانتی‌متر که قبل از کار استریل شده بودند ریخته شده و روی آن با یک تکه پارافیلم پوشانیده می‌شد. برای گرم کردن شیشه‌های حاوی خون از یک دستگاه بن‌ماری همراه با امکان چرخش آب استفاده شد تا دمای لازم ۳۷ درجه را برای خون‌خواری پشه‌ها تامین کند. تحت این شرایط به مدت ۴۰ دقیقه خون آلوده در اختیار پشه‌ها بود. یک روز پس از خون‌خواری، پشه‌های خون نخورده به‌وسیله آسپیراتور از قفس خارج و تنها پشه‌های خون‌خورده نگهداری شدند. ۲۰ تا ۲۵ ساعت پس از خون‌خواری میان روده چند پشه برای اطمینان از تشکیل اووکینت تشریح و بررسی شدند. پشه‌های خون‌خورده در داخل انکوباتور در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. .

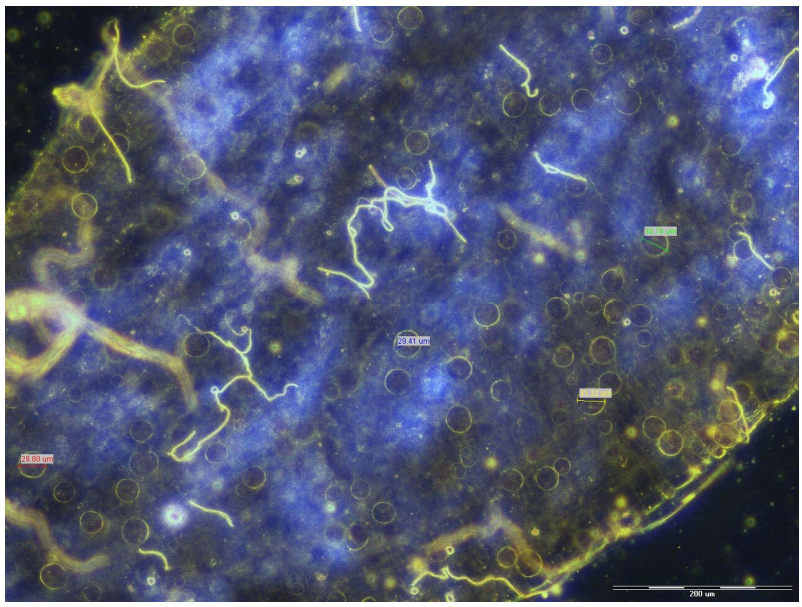
برای بررسی تشکیل اووسیست‌ها در سطح میدگات، ۹ تا ۱۰ روز پس از خون‌خواری، تعدادی از پشه‌ها تشریح شده و میان روده آن‌ها به همراه یک قطره مرکوکروم ۲ درصد زیر میکروسکوپ و با عدسی ×۱۰ یا ×۴۰ مورد بررسی قرار گرفت که اووسیست‌ها در این روش رنگ قرمز گرفته و قابل مشاهده و شمارش گردیدند (تصاویر ۱ و ۲).

برای بررسی اسپروزوییت‌ها، پشه‌های باقیمانده از هر دو سویه تشریح و غدد بزاقی آن‌ها خارج و بر روی یک لایم حاوی قطره کوچکی از سرم فیزیولوژی منتقل شدند و پس از پاره شدن به وسیله نوک سرنگ به روش گیمسا رنگ آمیزی گردیده و با استفاده از عدسی ×۱۰۰ از نظر حضور اسپروزوئیت مورد بررسی قرار گرفتند.



تصویر شماره (۱): اووسیست‌های سطح میان روده رنگ شده با مرکوکروم

[1] Exflagellation



تصویر شماره (۲): اووسیست‌های سطح میان روده در زیر میکروسکوپ دارک فیلد

یافته‌ها

درصد آلودگی به اووسیست در سویه بیچ در گروه کنترل ۵۷/۸ درصد و میانگین اووسیست روی میان روده ۳۵/۵ عدد بود و در همین سویه در گروه تیمار درصد اووسیست ۲۳/۱ درصد و میانگین اووسیست ۴ عدد بود که با احتمال ۰/۰۰۱ >P بین دو گروه کنترل و تیمار تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

در مورد سویه بندرعباس علی‌رغم اختلاف مشخصی که از نظر درصد تشکیل اووسیست و میانگین تعداد اووسیست در سطح میان روده پشه‌های تشریح شده مابین دو گروه کنترل و تیمار وجود داشت، ولی این اختلاف در حدی نبود که توسط تست‌های آماری تایید گردد (جدول شماره یک).

در حالی‌که در ۱۳/۳ درصد از غدد بزاقی له شده پشه‌های گروه کنترل از سویه بیچ اسپروزوییت مشاهده شد، در هیچ‌کدام از پشه‌های گروه تیمار از همین سویه اسپروزوئیت یافت نگردید. در مقابل هیچ‌گونه اختلافی در بین گروه‌های کنترل و تیمار سویه بندرعباس از نظر تشکیل اسپروزوئیت مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

جدول شماره (۱): مقایسه درصد آلودگی و میانگین تعداد اووسیست پلاسمودیوم برگئی در سطح روده میانی سویه‌های بیچ و بندرعباس آنوفل استفنسی در دو گروه کنترل و تیمار

سویه مورد آزمایش	گروه مورد آزمایش	تعداد پشه تشریح شده	تعداد پشه آلوده به اووسیست	درصد آلودگی به اووسیست (±SE)	میانگین تعداد اووسیست روی روده میانی (±SE)
BEECH	کنترل	۶۴	۳۷	۵۷/۸ (±۶/۲)	۳۵/۵ (±۶/۳)
	تیمار	۶۵	۱۵	۲۳/۱ (±۵/۲)	۴/۰ (±۱/۲)
Bandar-Abbas	کنترل	۶۵	۴۷	۷۲/۳ (±۵/۶)	۴۸/۵ (±۷/۴)
	تیمار	۵۸	۳۵	۶۰/۳ (±۶/۴)	۳۶/۷ (±۷/۵)

جدول شماره (۲): مقایسه درصد آلودگی غدد بزاقی سویه‌های بیچ و بندرعباس آنوفل استفنسی به اسپروزوئیت پلاسمودیم برگئی

سویه مورد آزمایش	گروه مورد آزمایش	تعداد پشه تشریح شده	تعداد پشه آلوده به اسپروزوئیت	نسبت آلودگی به اسپروزوئیت
BEECH	کنترل	۳۰	۴	۱۳/۳
	تیمار	۳۰	۰	۰
Bandar-Abbas	کنترل	۳۸	۶	۱۵/۸
	تیمار	۳۳	۵	۱۵/۲

بحث و نتیجه گیری

بروز مقاومت در مقابل داروهای ضد مالاریا و سموم پشه کش و هزینه‌های جانی و مالی که مالاریا همچنان بر زندگی انسان‌ها تحمیل می‌کند، لزوم دستیابی به واکسنی موثر را که بتواند در نواحی مختلف جهان موجبات کاهش و نهایتاً ریشه‌کنی آن‌را فراهم آورد، نشان می‌دهد. علی‌رغم چندین دهه تلاش در این زمینه هنوز واکسنی که بتواند انتظارات مسئولین بهداشتی را برآورده سازد، ساخته نشده است. در سراسر جهان محققان در حال بررسی واکسن‌های ضد مالاریا در زمینه‌های متفاوتی هستند. از جمله این زمینه‌ها مختل کردن سیکل انتقال در جمعیت پشه‌های ناقل به وسیله واکسن‌های بلوک کننده است.

میان روده اولین عضوی از پشه است که در تماس مستقیم و طولانی مدت با خون خورده شده میزبان و به همراه آن انگل‌های مالاریا قرار می‌گیرد. مرحله اتصال اووکینت به سلول‌های روده و سپس نفوذ به این سلول‌ها و در نهایت عبور از این عضو تا ایجاد اووسیست در خارج غشاء سیتوپلاسمی، حساس‌ترین مرحله انگل طی مراحل اسپروگونی است. از یک سو اووکینت برای خارج شدن از روده باید کاملا تکامل یابد که بسته به گونه انگل ۲۴-۱۶ ساعت به طول می‌انجامد، و از سوی دیگر برای فرار از اثر آنزیم‌های پروتئولیتیک پشه باید زودتر محیط حفره روده را ترک نماید. عواملی (مانند آنتی‌بادی‌های اختصاصی ضد میان روده) که بتوانند سطح روده و یا گیرنده‌های اووکینت موجود در سطح روده را تخریب نمایند و یا آن‌ها را بلوکه کنند، موجب مرگ اووکینت و قطع چرخه انگل خواهند شد (۱۱،۱۰). آنتی‌بادی‌های یاد شده همچنین با صدمه زدن به بافت روده می‌توانند موجب کاهش عمر پشه گردند (۱۴-۱۲) که اگر عمر پشه از طول مدت اسپروگونی انگل کم‌تر شود، حتی با وجود فرار انگل از میان روده و ادامه تکامل در بدن پشه، امکان انتقال بیماری منتفی خواهد شد. نشان داده شده که خون‌خواری پشه‌ها از حیوانات ایمن شده برعلیه میان روده پشه‌ها، می‌تواند موجب کاهش تخمگذاری و در نتیجه کاهش جمعیت پشه‌های ناقل گردد (۱۳،۱۰،۷،۴). به این ترتیب در صورت موفقیت در تولید واکسن ضد اندام‌های پشه آنوفل و کاربرد آن در توده وسیعی از انسان‌ها، گرچه هنوز امکان آلودگی فرد واکسینه شده به مالاریا با نیش پشه آلوده وجود خواهد داشت ولی از یک سو انتقال انگل از افراد آلوده‌ای که قبلاً واکسینه شده‌اند، به سایرین قطع خواهد گردید و از سوی دیگر جمعیت پشه‌هایی که از انسان خون‌خواری می‌کنند نیز کم‌تر خواهد شد. یکی از سوالاتی که در این مسیر به نظر می‌رسد، این است که آیا واکسن ساخته شده برعلیه یک گونه و یا سویه از پشه آنوفل می‌تواند بر سایر آنوفل‌ها نیز تاثیر بگذارد یا نه. در این تحقیق نیز به بررسی تاثیر آنتی‌بادی‌های ضد میان روده آنوفل استفنسی بر روی چرخه اسپروگونی پلاسمودیوم برگئی در دو سویه از آنوفل استفنسی پرداخته شد. توضیح این‌که آنوفل استفنسی ناقل عمده مالاریا در جنوب ایران است که آلودگی طبیعی آن طی تحقیقات متنوعی در آبادان، بندر عباس، کازرون و دزفول به اثبات رسیده است (۱۶،۱۵).

در این مطالعه نشان داده شد که آنتی‌بادی‌های ساخته شده بر علیه یک سویه از آنوفل استفنسی ممکن است بر سویه دیگری از همین‌گونه تاثیر قاطعی نداشته باشد. می‌توان نتیجه گرفت که پروتیین‌های میان روده پشه‌های آنوفل استفنسی به‌خصوص آن‌هایی که نقش رسپتوری دارند حتی در حد سویه نیز اختلاف زیادی با هم دارند که آنتی‌بادی‌های تولید شده بر علیه آنتی‌ژن‌های میان روده سویه بیچ توانسته در آلودگی همان سویه به اووسیست و ظاهر شدن اسپروزوئیت‌ها در غدد بزاقی تاثیر قابل توجهی داشته باشد ولی در سویه بندرعباس تاثیر جزئی داشته است.

بنابراین از منظر تهیه واکسن ضد مالاریا، مرحله عبور اووکینت از دیواره میان روده پشه از اهمیت زیادی برخوردار است ولی نظر به این‌که آنتی‌ژن‌های زیادی در این مرحله نقش دارند و تعداد خیلی زیادی از این آنتی ژن‌ها حتی بین سویه‌های مختلف یک گونه هم با هم تفاوت دارند، باید از آنتی‌ژن‌هایی که در اکثر ناقلین مالاریا مشترک هستند استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

از دکتر Peter F Billingsley و همکارانش در دپارتمان زوئولوژی دانشگاه ابردین اسکاتلند به جهت در اختیار قرار دادن پشه‌های سویه بیچ و انگل P. berghei و ارائه سخاوتمندانه اطلاعاتشان قدردانی به‌عمل می‌آید.

References:

1. World Health Organization. World Malaria Report. Geneva: WHO: 2008.
2. World Health Organization. World malaria report. Geneva: WHO: 2005.
3. Zieler H, Nawrock JP, Shahabuddin M. Plasmodium gallinaceum ookinet adhere specifically to the midgut epithelium of Ae.aegypti interaction with a carbohydrate ligand. J Exp Biol 1999; 202: 485-95.

4. Lal AA, Patterson PS, Sacci JB, Vaughan JA, Paul C, Collins WE et al. Anti-mosquito Midgut antibodies block development of plasmodium falciparum and vivax in multiple species of anopheles mosquitoes and reduce vector fecundity and survivorship. PNAS 2001; 98(9): 5228-33.
5. Arrighi RBG, Hurd H. The role of the Plasmodium berghei ookinet proteins in binding to the basal lamina components and transformation into oocycts. Int J Parasitol 2002; 32(1): 91-8.
6. Whitten MM, Shiao SH, Levashina EA. Mosquito midguts and malaria: cell biology, compartmentalization and immunology. Parasite Immunol 2006; 28(4): 121-30.
7. Doosti S, Basseri HR, Nategh Pour M, Akbarzadeh K, Ladoni H, Shaeghi M. Sporogony cycle of plasmodium vivax in Anopheles stephensi mysorensis: inhibitory effects of certain carbohydrates on parasitic development. Tehran Univ Med J 2007; 64(12): 23-30. (Persian)
8. Basseri HR, Safari N, Mousakazemi SH, Akbarzade K. Comparison of midgut hemagglutination activity in three different geographical populations of Anopheles stephensi. Iran J Publ Health 2004; 33(3): 60-7.
9. 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. Iran J Publ Health 2005; 34(4): 8-14.
10. Gulia M, Suneja A, Gakhar SK. Effect of anti-mosquito hemolymph antibodies on fecundity and on the infectivity of malaria parasite plasmodium vivax to Anopheles stephensi (Diptera: Insecta). Jpn J Infect Dis 2002; 55: 78-82.
11. Brummer-Korvenkontio H, Lappalainen P, Reunala T, Palosuo T. Immunization of rabbits with mosquito bites: immunoblot analysis of IgG antimosquito antibodies in rabbit and man. Int Arch Allergy Immunol 1990; 93: 14-18.
12. Foy BD, Magalhaes T, Injera WE, Sutherland I, Devenport M, Thanawastien A et al. Induction of mosquitocidal activity in mice immunized with Anopheles gambiae midgut cDNA. Infect Immun 2003; 71(4): 2032-40.
13. Almeida APG, Billingsley PF. Induced immunity against the mosquito Anopheles stephensi Liston (Diptera: Culicidae): effects on mosquito survival and fecundity. Int J Parasitol 1998; 28: 1721-31.
14. Vaughan JA, Azad AF. Passage of host immunoglobulin G from blood meal into hemolymph of selected mosquito species (Diptera: Colicidae). J Med Entomol 1988; 25(6): 472-4.
15. Motabar M, Tabibzadeh I, Manouchehri AV. Malaria and its control in Iran. Geogh Med 1975; 27: 71-8.
16. Edrissian GhH, Manouchehri AV, Hafizi A. Application of an enzyme linked immonosorbent assay (ELISA) for determination to the human blood index in anophelinae mosquitoes collected in Iran. J Am Mosq Con Assoc 1985; 1(3): 349-52.