مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد
دوره چهاردهم ، شماره چهارم ، زمستان ۱۳۸۵، صفحات ۷۵-۶۹

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 22:38 IRST on Tuesday February 20th 2018

بررسی تأثیر خون های مختلف بر رشد عامل لیشمانیوز جلدی به روش in vitro

دکتر صفرعلی طالاری*[1]، دکتر زریچهر وکیلی[2]، دکتر محمود صفاری[3]

چکیده

مقدمه: لیشمانیوز جلدی یکی از مهمترین بیماری های انگلی در ایران است که کنترل این بیماری به لحاظ مداخله در محیط با اهداف کاهش ناقل و مخزن حیوانی بیماری هزینه زیادی دارد بدین منظور این مطالعه جهت تعیین تأثیر خون انسان، گاو،گوسفند و بز برای رشد عامل لیشمانیوز جلدی و مقایسه آن با محیط های محتوی خون خرگوش انجام گرفت.

روش بررسی: پژوهش حاضر از نوع تحلیلی (Analytical) است که بر روی پروماستیگوت لیشمانیا ماژور و تروپیکا (L.major & L.tropica) مورد تأیید سازمان جهانی بهداشت، در محیط کشت محتوی خون خرگوش و محیط های هشت گانه خون انسان و محیطهای خون گاو، بز و گوسفند با ۱۰ تکرار صورت پذیرفت. زمان سازگاری با محیط و حداکثر و حداقل رشد بر مبنای کاهش تعداد انگل فعال نسبت به تعداد انگل در زمان کشت محاسبه گردید و با آزمون آماری T student مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

نتایج: سرعت زمان سازگاری پروماستیگوت در محیط ها با هم مساوی و بین ۱ تا ۳ روز بود. انگل در محیط کشت محتوی خون انسان، گوسفند و بز در زمان کوتاه تر و در محیط محتوی خون گاو در زمان بیشتری به حداکثر رشد رسید و حداقل تعداد رشد در خون خرگوش و گاو بیشتر از گروه خون انسان، بز و گوسفند بود. میزان رشد پروماستیگوت‌های هر دو گونه انگل در خون خرگوش بیشتر از گروه خونی انسان، بز و گوسفند بود ($P<0.05$). در حالی که میزان رشد تعداد هر دو نوع انگل در محیط محتوی خون خرگوش و خون گاو مشابه بود.

نتیجه گیری: با توجه به این که سرعت رشد انگل در محیط های محتوی خون گاو و گروه خونی B^- انسان وضعیت مناسب و مفیدی دارد و امکان تهیه خون انسان ساده تر از خون گاو است. توصیه می شود در مراکز تحقیقاتی و دانشگاهی در صورت عدم دسترسی به خون خرگوش از خون انسان با گروه B^- استفاده شود.

واژه های کلیدی: خون، لیشمانیوز جلدی، پروماستیگوت، In vitro.

مقدمه

لیشمانیوز یکی از بیماری های انگلی مشترک بین انسان و حیوانات است که به صورت احشایی و جلدی بروز می کند. لیشمانیوز جلدی در دنیای قدیم در اثر Leishmania tropica (نوع روستایی) L.major (نوع شهری) ایجاد می شود. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی لیشمانیوز در ۸۸ کشور جهان در آفریقا، آسیا ، اروپا و آمریکای شمالی و جنوبی وجود دارد[۱،۲].

در سال ۱۸۸۵ نخستین بار، کونینگهام (Cuningham) وجود تک یاخته انگلی را از زخم‌های جلدی گزارش کرد و در سال ۱۹۰۰، لیشمن (Leishman) نامگذاری شد[۳]. در سال ۱۹۰۴ برای اولین بار Rogers موفق به کشت انگل و مشاهده انگل تاژکدار آن در محیط کشت حاوی خون خرگوش گردید. در سال ۱۹۰۸ توسط Novy, Mac-Neal & Nicolle به نام محیط NNN معروف شد و امروزه در اکثر آزمایشگاه های تحقیقاتی مورد استفاده قرار

*۱- نویسنده مسئول: دانشیار گروه انگل شناسی : ، تلفن : ۰۹۱۳۱۱۳۰۳۷۱
E-mail: talariali@yahoo.com
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان
۲- استادیار گروه پاتولوژی
۳ - استادیار گروه میکروب شناسی
۲،۳- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان
تاریخ دریافت:۱۳۸۴/۴/۱ تاریخ پذیرش:۱۳۸۵/۴/۲۸

می گیرد[۲،۳].

تخمین زده می شود بیش از ۳۵۰ میلیون نفر در معرض خطر آلودگی به لیشمانیوز هستند و تعداد مبتلایان به لیشمانیوز جلدی بین ۱۳-۱۲ میلیون نفر می باشند و سالیانه ۱/۵ تا ۲ میلیون بیمار جدید به لیشمانیوز جلدی گزارش می شود[۳،۴،۵،۶]. میزان آلودگی در ایران حدود ۱۶۰۰۰ نفر است، اما میزان واقعی آن بیش از ۳ برابر آمار گزارش شده می باشد[۴،۶]. با توجه به شیوع لیمشانیوز، اهمیت شناخت، تشخیص به موقع و مبارزه با آن که از اولویت های پژوهشی است و وجود اشکال غیر طبیعی بیماری که به فرم‌های مختلف لوپوئید، بادسرخی، اسپروتریکوز، زیگیلی، تومورال و غیره ظاهر می‌شوند[۷] و تشخیص لام مستقیم به سختی انجام می شود. کشت نمونه در تشخیص گونه های مختلف انگل می تواند مفید واقع شود. به همین علت لازم است برای تهیه محیط‌های کشت مناسب، مطالعات و تحقیقات بیشتری انجام شود. در حال حاضر، برای تهیه محیط کشت لیشمن در مراکز تحقیقاتی و دانشگاهی از خون خرگوش استفاده می شود[۸] و برای جلوگیری از آلودگی میکروبی محیط های کشت، تهیه خون خرگوش باید در محیط مناسب و در کنار شعله انجام و به محیط کشت اضافه شود[۹]. بنابراین تهیه محیط کشت انگل نیاز به افراد با تجربه دارد و نگهداری خرگوش مستلزم صرف هزینه و نیروی انسانی با اتلاف وقت می باشد و عدم رشد پروماستیگوت های جدا شده از بعضی از اشکال لیشمانیوز جلدی مرطوب در محیط های کشت مصنوعی گزارش شده است[۱۰،۱۱،۱۲].

نظر به این که امکان تهیه خون گاو، گوسفند و انسان در حجم زیاد نسبت به تهیه خون خرگوش آسان تراست، در صورت رشد مناسب بودن محیط کشت محتوی خون گاو، بز، گوسفند و انسان به دلایل مذکور امکان جایگزینی آن بجای محیط کشت محتوی خون خرگوش وجود دارد. البته در مورد استفاده از خون انسان باید از افراد فاقد عفونت‌های ویروسی ($HBSAg^+$ ، HIV و...) و مناسبترین گروه خونی برای رشد انگل استفاده نمود. لذا به منظور تعیین تأثیر گروه‌های خون انسان، گاو، بز و گوسفند بر رشد عامل لیشمانیوز و مقایسه آن با محیط محتوی خون خرگوش، این تحقیق درسال۸۲-۱۳۸۰ در کاشان انجام گرفت.

روش بررسی

مطالعه به روش تجربی (analytical) بر روی پروماستیگوت های کشت داده شده در محیط N.N.N تهیه شده با خون خرگوش، گاو، گوسفند، بز، و گروه های خونی انسان صورت پذیرفت. پروماستیگوت لیشمانیا ماژور با کد MRHO/IR/64/Nadim و تروپیکال با کد MRHO/Su/F4/K27 مورد تأیید سازمان بهداشت جهانی از طریق مرکز تحقیقات و پژوهش‌های علمی دانشگاه تهران تهیه گردید و به طریق استریل، تعداد 5×10^6 پروماستیگوت در محیط کشت محتوی خون خرگوش و همین مقدار در هرکدام از محیط‌های کشت حاوی خون انسان، گاو، بز و گوسفند کشت داده شدند.

محیط کشت Novy Nicol Mac Neal که با استفاده از آگار ،کلرور سدیم (ساخت کارخانه مرک آلمان) ، خون دفیبرینه خرگوش و آب مقطر دوبار تقطیر به روش استاندارد تهیه گردید[۷،۱۳]. تهیه خون انسان از سازمان انتقال انجام شد و تا هنگام استفاده در یخچال با ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

برای تهیه خون گاو، بز و گوسفند به کشتارگاه کاشان مراجعه شد و به طریقه استریل خون گیری انجام شد و خون تهیه شده در ارلن درپیچ‌دار محتوی پرل های شیشه ای استریل ریخته و مخلوط گردید و تا هنگام تهیه محیط کشت در یخچال نگهداری شد.

برای تهیه خون خرگوش، حیوان در حالت خوابیده مهار کرده و موهای محل قلب آن را با تیغ تراشیده سپس محل خونگیری با الکل ضد عفونی گردید و با سرنگ یک بار مصرف از قلب حیوان خونگیری به عمل آمد. خون تهیه شده در لوله های محتوی پرل شیشه ای و با حرکت دادن، دفیبرینه و تا هنگام تهیه محیط کشت در یخچال نگهداری گردید.

گروه های خونی انسان مورد مصرف شامل: A^+، A^-، B^+، B^-، AB^+، AB^-، O^+، O^- بود که از طریق سازمان انتقال خون تهیه شد سپس به روش استریل محیط های کشت محتوی خون های مختلف در لوله های در پیچ دار تهیه و تا هنگام استفاده در یخچال نگهداری شد. تعداد ۱۰ لوله از هر

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 22:38 IRST on Tuesday February 20th 2018

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 22:38 IRST on Tuesday February 20th 2018

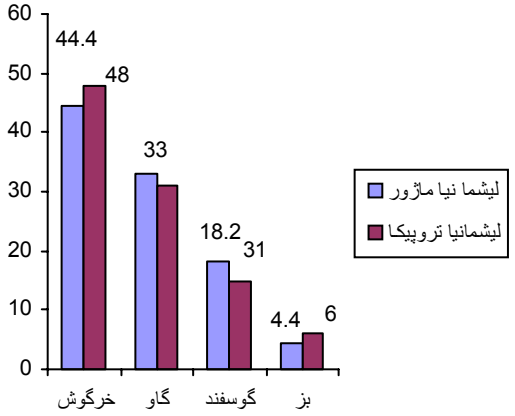
کدام از محیط های ۱۲ گانه برداشته شد و به هر کدام از آنها به طریقه استریل، مقدار یک سی سی سرم فیزیولوژی استریل، حاوی تعداد ۵×۱۰^{۶} پروماستیگوت اضافه گردید. سپس لوله ها در حرارت ۲۶ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و هر ۲۴ ساعت یک بار با استفاده از لام نئوبار انگل ها شمارش شدند. برای کاهش حرکت پروماستیگوت ها مدت ۱۰ دقیقه در حرارت ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد آنگاه با عدسی ۴۰ میکروسکوپ نوری،تعداد پروماستیگوت ها توسط فرد متخصص شمارش و تعداد انگل در یک سی سی محاسبه شد.

در این بررسی، زمان سازگاری با محیط (Adaptation)، حداکثر و حداقل رشد بر مبنای کاهش تعداد انگل‌های فعال از تعداد انگل از زمان کشت به روز محاسبه گردید. و نتایج شمارش انگل ها ی کشت داده شده در روزهای مختلف در فرم اطلاعاتی ثبت و به منظور تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم افزار SPSS از آزمون آماری T student ، مجذور کای مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج

تحقیق نشان داد که در کلیه محیط های کشت محتوی گروه های خونی انسان، خون گاو، گوسفند و خرگوش در هر ۱۰ تکرار آن، پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور و تروپیکای کشت داده شده در ۱ تا ۲ روز اول،در خون بز، ۱ تا ۳ روز اول در خون گوسفند تعداد انگل‌ها برای سازگاری با محیط کشت کاهش نشان دادند و تفاوتی بین خون خرگوش و گروه‌های خونی انسان، خون گاو و گوسفند مشاهده نشد. سپس در تمام محیط ها تعداد انگل روبه افزایش گذاشت و در روز های ششم تا چهاردهم به حداکثر رشد خود رسید. در مقایسه دو نوع انگل و در تمام گروه‌های خونی انسان و خون‌های گوسفند و گاو، زمان حداکثر رشد زودتر از خرگوش بود در حالی که در خون بز، زمان حداکثر رشد کمتر از خرگوش بود. سپس تعداد انگل ها کاهش یافت. در نمونه های محتوی خون انسان، خرگوش و گاو دیده شد. همچنین خون خرگوش و گاو مدتی بیشتر از گروه خونی انسان و بز و گوسفند قادر به نگهداری انگل ها بود که جدول (۱) این وضعیت را نشان می دهد.

میزان رشد پروماستیگوت های مورد مطالعه در محیط های ۱۲ گانه در جدول (۲) ارایه گردیده است. این جدول نشان می دهد که انگل لیشمانیا ماژور و تروپیکا در محیط کشت محتوی خون خرگوش بیشترین رشد را دارند که نتایج با استفاده از آزمون آماری مجذور کای اختلاف معنی داری نشان داد ($P<0.05$). از بین انسان، گاو، بز و گوسفند، در خون گاو، بیشترین رشد و از بین گروه های خونی انسان در گروه B^{-} بیشترین رشد مشاهده گردید. مثلا رشد انگل لیشمانیا ماژور و تروپیکا در خون خرگوش به ترتیب $۱۴۵۹\times۱۰^{۳}\pm۱۶۰۴\times۱۰^{۳}$ و $۵۳۴\times۱۰^{۴}\pm۳۶۴\times۱۰^{۴}$، در خون گاو به ترتیب $۲۷۷\times۱۰^{۳}\pm۱۲۰۰\times۱۰^{۳}$ و $۳۱۱\times۱۰^{۴}\pm۲۳۶\times۱۰^{۴}$ و در گروه خونی B- برابر با $۱۳۶\times۱۰^{۳}\pm۹۴۲\times۱۰^{۳}$ و $۳۲۶\times۱۰^{۴}\pm۱۹۵\times۱۰^{۴}$ بود که با استفاده از آزمون T test اختلاف معنی داری وجود داشت ($P<0.05$). همچنین درصد رشد پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور و تروپیکا در محیط های کشت محتوی خون گاو، بز، گوسفند وخرگوش و کمترین آن در خون بز، برای هر دو گونه انگل مشاهده گردید (نمودار ۱).



نمودار ۱ توزیع فراوانی رشد پروماستیگوت لیشمانیا ماژور و تروپیکا در محیط کشت NNN محتوی خون های مختلف

پروماستیگوت لیشمانیا ماژور و تروپیکا در محیط های کشت محتوی گروه های خونی Rh منفی انسان نسبت به Rh مثبت و در محیط محتوی خون گاو نسبت به گوسفند و بز رشدمناسب تری داشتند ولی نسبت به خون خرگوش رشد کمتری نشان دادند.

آزمون آماری t student نشان داد که همه این اختلاف ها به لحاظ آماری معنی دار است ($P<0.05$).

جدول (۱): توزیع زمان سازگاری، حداکثر و حداقل رشد پروماستیگوت فعال به تفکیک نوع انگل، خون خرگوش و گروه های خون انسان، خون گاو ، گوسفند و بز

روزها برای وضعیت رشد انگل				
پروماستیگوت‌ها	محتوی خون	سازگاری با محیط (آداپتاسیون)	حداکثر تعداد رشد	حداقل تعداد رشد
	A+,A-,AB+	اول	ششم	۱۸
	B-,AB-	اول	هشتم	۱۸
لیشمانیا ماژور	گاو،خرگوش، O+,O-	اول	نهم	۱۸
	گوسفند	دوم	نهم	۱۵
	بز	دوم و سوم	یازدهم	۱۵
	AB+,AB-	اول	هفتم	۱۲
	B+	اول	هشتم	۹
	B-	اول	هشتم	۱۰
	A+,A-	اول	هشتم	۱۲
	O-	اول	هشتم	۱۲
لیشمانیا تروپیکا	O+	اول	هشتم	۱۳
	خرگوش	اول	هشتم	۱۷
	گاو	اول	هشتم	۱۷
	گوسفند	دوم	نهم	۱۳
	بز	دوم	دهم	۱۱

*توضیح: منظور از حداکثر تعداد رشد پروماستیگوت، بیشترین تعداد شمارش شده انگل زنده در یک میلی متر مکعب نمونه در طی مطالعه است و حداقل تعداد رشد پروماستیگوت، مربوط به زمانی است که روز بعد از آن، هیچ انگل زنده ای مشاهده نگردید.

جدول (۲): توزیع میزان رشد پروماستیگوت ها در محیط کشت محتوی خون خرگوش ، گروه های خونی انسان، خون گاو، گوسفند و بز به تفکیک نوع انگل

پروماستیگوت محیط های کشت	لیشمانیا ماژور	لیمشانیا تروپیکا
خرگوش	$۱۶۰۴\times۱۰^{۳}\pm۱۴۵\times۱۰^{۳}$	$۳۶۴\times۱۰^{۴}\pm۵۳۴\times۱۰^{۴}$
گاو	$۱۲۰۰\times۱۰^{۳}\pm۲۷۷\times۱۰^{۳}$	$۲۳۶\times۱۰^{۴}\pm۳۱۱\times۱۰^{۴}$
B-	$۹۴۲\times۱۰^{۳}\pm۱۳۶\times۱۰^{۳}$	$۱۹۵\times۱۰^{۴}\pm۳۲۶\times۱۰^{۴}$
O-	$۷۹۸\times۱۰^{۳}\pm۱۰۲۰\times۱۰^{۳}$	$۱۸۶\times۱۰^{۴}\pm۱۶۳\times۱۰^{۴}$
A-	$۷۸۹\times۱۰^{۳}\pm۹۵۵\times۱۰^{۳}$	$۱۰۴\times۱۰^{۴}\pm۱۲۷\times۱۰^{۴}$
AB-	$۷۵۳\times۱۰^{۳}\pm۱۳۶۱\times۱۰^{۳}$	$۱۴۹\times۱۰^{۴}\pm۲۳۰\times۱۰^{۴}$
گوسفند	$۶۵۹\times۱۰^{۳}\pm۱۶۲\times۱۰^{۳}$	$۱۱۵\times۱۰^{۴}\pm۱۳۷\times۱۰^{۴}$
B+	$۵۶۵\times۱۰^{۳}\pm۶۴۶\times۱۰^{۳}$	$۹۰\times۱۰^{۴}\pm۱۰۶\times۱۰^{۴}$
AB+	$۵۴۸\times۱۰^{۳}\pm۹۸۰\times۱۰^{۳}$	$۴۵\times۱۰^{۴}\pm۷۰\times۱۰^{۴}$
A+	$۴۱۴\times۱۰^{۳}\pm۶۸۵\times۱۰^{۳}$	$۱۷۱\times۱۰^{۴}\pm۲۵۹\times۱۰^{۴}$
O+	$۴۱۴\times۱۰^{۳}\pm۵۸۵\times۱۰^{۳}$	$۳۸\times۱۰^{۴}\pm۴۱\times۱۰^{۴}$
بز	$۱۵۹\times۱۰^{۳}\pm۱۸۱\times۱۰^{۳}$	$۴۵\times۱۰^{۴}\pm۳۷\times۱۰^{۴}$

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 22:38 IRST on Tuesday February 20th 2018

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 22:38 IRST on Tuesday February 20th 2018

بحث و نتیجه گیری

بررسی انجام شده نشان داد که از نظر زمان سازگاری انگل با محیط کشت، گروه‌های خونی انسان و خون گاو، بز و گوسفند مثل خرگوش عمل می کند و از نظر زمان حداکثر رشد تعداد انگل، گروه های خونی انسان، خون گاو و گوسفند زودتر از خون خرگوش عمل می کند، ولی بقای انگل در محیط کشت محتوی خون خرگوش و گاو بیشتر از گروه های خونی انسان و خون بز و گوسفند است. از نظر رشد تعداد انگل، محیط های محتوی خون خرگوش و گاو مناسب تر از خون گوسفند، بز و گروه های خونی انسان است، گروه خونی B^- مناسب تر از سایر گروه ها است، در حالی که زمان و میزان رشد انگل ها متفاوت بود. تفاوت بین پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور و ترویپکا را از نظر زمان، میزان رشد، علایم بالینی و شدت ضایعات پوستی در لیشمانیوز جلدی روستایی بسیار متفاوت گزارش کرده اند[۹،۱۴،۱۵،۱۶]. مطالعات Lainson و همکاران او در سال ۱۹۸۷ نشان داد که گونه های مختلف لیشمانیا در درجه حرارت یکسان و در محیط کشت NNN رشد متفاوتی دارند، به این نحو که بعضی دارای سرعت رشد بیشترند و تعداد پروماستیگوت زیادتری را نشان می دهند[۱۷،۱۸]. این خصوصیات در شناسایی گونه و زیرگونه های لیشمانیا بسیار اهمیت دارد[۱۶،۱۹]. مطالعات Esterre و همکارانش در سال ۱۹۸۹ نشان داد که رابطه ای بین گروه های خونی انسان با رشد عامل لیشمانیوز جلدی آمریکایی وجود ندارد[۲].

رشد انگل در محیط های کشت محتوی خون خرگوش، گاو، گوسفند، بز و گروه های خونی مختلف انسان متفاوت است. به نظر Griffths و همکاران او، رشد اولیه انگل نیاز به تغذیه و محرک های متفاوت برای شروع و ادامه تقسیم سلولی دارد و بعضی از عوامل ناشناخته دیگر از علل تفاوت برای شروع و ادامه تقسیم سلولی اند. عوامل ناشناخته دیگر را می توان از علل تفاوت میزان رشد بین پروماستیگوت در گونه ها و زیر گونه های مختلف لیشمانیا است[۱۶]. Evans در سال ۱۹۸۶ از سرم خون جنین گاو (FCS) غیرفعال برای کشت پروماستیگوت ها ۱۲ سوش تأیید شده سازمان بهداشت جهانی استفاده نموده و نشان داد که افزودن (FCS) فعال یا غیر فعال در رشد پروماستیگوت تفاوت ایجاد نمی کند[۱۷]. در مطالعه ما، احتمالاً خون خرگوش و گاو برای رشد انگل مناسب تر از خون بز، گوسفند و گروه های خونی انسان است.

با توجه به این که میزان رشد پروماستیگوت های گونه های لیشمانیا ماژور و ترویپکا در محیط NNN به طور قابل توجهی تحت تأثیر نوع آگار و نوع خون به کار رفته در محیط کشت است، عدم استفاده از یک نوع آگار در تمام طول بررسی می تواند نتایج را تحت تأثیر قرار دهد[۵]. مطالعات Gupta و همکارانش نشان داد که تغییر مواد تشکیل دهنده محیط کشت لیشمن و شرایط نگهداری محیط کشت ها با رشد پروماستیگوت لیشمانیوز جلدی رابطه دارد[۱۲] بنابراین، در این تحقیق، نوع آگار ثابت با مقدار مشخص استفاده شد و خون به کار رفته به عنوان متغییر مد نظر قرار گرفت. از آن جا که نیاز های اولیه تغذیه ای برای رشد، نیاز به محرک های متفاوت برای شروع و ادامه تقسیم سلولی، نیاز به محرک های متفاوت برای شروع و ادامه تقسیم سلولی و بعضی از عوامل ناشناخته دیگر، از علل متفاوت بودن میزان رشد بین پروماستیگوت ها در گونه ها و زیر گونه ای مختلف لیشمانیا ذکر گردیده است[۶] لذا وجود تغییرات رشد در تعداد پروماستیگوت ها در محیط های مختلف مورد بررسی را می توان ناشی از وجود مواد تغذیه ای و شرایط مناسب حیاتی برای شورع و ادامه تقسیم پروماستیگوت در خون های به کار رفته دانست[۲۰،۲۱،۲۲].

در این پژوهش اگر چه تفاوت در میزان رشد اشکال مختلف پروماستیگوت لیشمانیا ماژور و ترویپکا نسبت به یکدیگر به آسانی قابل توجیه نیست، اما به نظر می رسد که این پروماستیگوت ها چون از دو گونه مختلف انتخاب شدند، در بعضی از خصوصیات متابولیک و بیوشیمیایی با یکدیگر متفاوتند. همچنین متفاوت بودن فعالیت اسید فسفاتاز در پروماستیگوت های مجزا شده از اشکال مختلف لیشمانیا ماژور و ترویپکا[۵] می توان مؤید این نظریه باشد.

به طور کلی، تفاوت میزان رشد پروماستیگوت در محیط کشت مصنوعی محتوی خون های مختلف، تحت شرایط آزمایشگاهی کاملاً یکسان و تفاوت میزان رشد در پروماستیگوت ها لیشمانیا

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 22:38 IRST on Tuesday February 20th 2018

ماژور و تروپیکا چنین توجیه می گردد که نیاز انگل به مواد غذایی برای رشد و تکثیر در گونه های مختلف متفاوت است و در محیط کشت محتوی خون خرگوش دوام بیشتری دارد، اما با توجه به مشکلات نگهداری، لزوم صرف هزینه بسیار و مشکلات مربوط به خونگیری از خرگوش پیشنهاد می گردد که در تحقیقات از خون انسان یا گروه خونی B^- یا از خون گاو استفاده شود، چون در موارد پیشنهادی، زمان سازش انگل و زمان حداکثر رشد در مقایسه با خون خرگوش اختلاف معنی داری ندارد و برای تشخیص می توانند مفید واقع شوند[۱۱].

از آن جا که سرعت رشد انگل در محیط های خون گاو و گروه B^- انسان نسبت به سایر خون های مورد بررسی وضعیت مناسب و مفیدتری دارد و با توجه به این که برای تهیه خون گاو باید به کشتارگاه ها مراجعه کرد، وجود کشتارگاه ها در خارج از شهر می تواند مشکلاتی را برای محققان به وجود آورد، لذا پیشنهاد می شود در مراکز تحقیقاتی و دانشگاهی در صورت عدم دسترسی به خون خرگوش از خون انسان با گروه B^- استفاده شود.

نتیجه گیری

به طور کلی، هر چند این تحقیق رشد پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور و تروپیکا در NNN را با خون های مختلف نشان می دهد، اما توصیه می شود تحقیقات بعدی در مورد اصلاح و غنی تر نمودن محیط NNN بدون استفاده از خون انجام شود تا در صورت دستیابی به روش ساده تر، در مراکز درمانی نیز بتوان از آن استفاده کرد.

References

1– Griffiths WAD. ***Old world cutaneous leishmaniasis.*** In: Peters W. Kilick Kendrick R (Eds). The Leishmaniasis in Biology and Medicine. New York; Academic Press; 617-635, 1987.

2– Esterre P, Dedet JP. ***The relationship of blood group types to American cutaneous leishmaniasis.*** Annals of Tropical Medicine Parasitology, 1989; 83(4), 345-8.

3- Evans T, Naidu TG. ***The relationship of American visceral leishmaniasis to ABO blood group type***. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1984; 33(5);805-7.

۴- باقری - مجید. ***بررسی وضع لیشمانیوز جلدی در مناطق شمالی تهران***. پایان نامه جهت دریافت کارشناسی ارشد حشره شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه تهران، ۱۳۵۸.

۵- اردهالی- صدرالدین، ندیم - ابوالحسن. ***انگل لیشمانیا و لیشمانیوزها***. تهران مرکز نشر دانشگاهی،۱۳۶۴ ، صفحه ۱۶۴.

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 22:38 IRST on Tuesday February 20th 2018

Royal Soc Trop Med Hyg. 2003; 89:647-652.

16- Griffiths WAD. ***Old world cutaneous leishmaniasis. Peter W. Killick kendrick R (Eds).*** The leishmaniasis in biology and Medicine. New yourk: Academic Press; 1999;617-635.

17- Lainson R. Show JJ. ***Evoluation classification & geographical distribution. In: Peters W. Killick – Kedrick R (Eds).*** The Leishmaniasis in Biology & Medicine. New York: Academic Press; 2001; 32-40, 95-99, 47-54.

18- Evans DA. ***An inexpensive easily available replacement for foetal calf serum in media for the in vitro cultivation of leishmania spp.*** Z Parasite 2002; 72:567-72.

19- Baghii M, ***Comparison of growth and period of contamination in separated promastigotes of growth and period of contamination in separated promastigotes form several famous forms of dermal Leishmaniasis.*** A research in Medical Sciences. 1997; 3(2):108-113.

20- O'Daly J A. Rodriquez M B. ***Differential growth requirements of several Leishmania spp***. in chemically defined culture media. Acta Trop. 1988; 45:109-126.

21- Leon LL. Soares M J. ***Temporal RM. ;Effects of temperature on promastigotes of several species of Leishmania.*** J. Eukaryot. Microbiol. 1995; 42: 219- 223.

22– Bagii M. ***Comparison of growth and period of contamination in separated promastigotes of growth and period of contamination in separated promastigotes form several famous forms of dermal Leishmaniasis.*** A Research in Medical Sciences; 1997; 3(2):108-113.

۶- لطفی – اسماعیل. ***بررسی شیوع لیشمانیوز جلدی و ویژگی های آن در شهر کاشان.*** پایان‌نامه جهت دریافت دکترای پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ۱۳۷۲.

7– Momeni AZ. Yotsumoto S. Mehegan DR. ***Chronic lupoid leishmaniasis evaluation by Polymerize Chain Reaction.*** Arch. Dermatol., 1996; 132-202.

8- Aljeboori I. Traik R. ***A simple diphasic medium lacking whole blood of culturing leishmania spp.*** Trans Royal Soci Trop Med Hyg. 1979; 73:117-121.

۹- طالاری – صفرعلی. ***سوش های لیشمانیا به روش آنالیز ایزوآنزیم ها در مبتلایان به لیشمانیوز جلدی در اصفهان.*** پایان‌نامه جهت دریافت Ph.D انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۱۳۷۳ ; ۵۲–۵۵.

10- Momeni AZ. Yotsumoto S. Mehregan D.R. ***Chronic lupoid leishmaniasis evaluation by polymerase chain reaction.*** Arch Dermatol. 1999; 132-202.

۱۱- بقایی – م. ***مقایسه رشد و دوره آلودگی در پروماستیگوت‌های جدا شده از اشکال متفاوت لیمشانیوز جلـدی معـروف.*** مجله پـژوهش در علوم پزشکی، ۱۳۷۶; ۳(۲):۱۱۳–۱۰۸.

12- Gupta, N. Goyal N. Rastogi A. K. ***In vitro cultivation and characterization of axenic amastigotes of Leishmania.*** Trends Parasitol. 2001; 17: 150-153.

13- Frederick L S. James SJ. ***Cultivation of Clinically Significant Hemoflagellates ,***Clinical Microbiology Reviews. 2002; 15(3): 374-389.

14- Al-gindan Y. Omer AHS. Al-humaiden YA. ***A case of mucocutaneous leishmaniasis in Saudi Arabia caused by leishmania major.*** Clin Exp Dermatol , 2000; 8:185-188.

15- El-Hassan AM. ***Meredith SE. Yagi HI. Sudanse mucosal leishmaniasis, epidemiology clinical features diagnosis immune response and treatment.*** Trans