

## الودگی تجربی نکاتور آمریکانوس (کرم فلابدار) درهامستر طلایی مزوکریستوس اورانوس

هوشنگ خزان<sup>۱</sup>، دکتر جعفر مسعود<sup>۲</sup>

واژه های کلیدی: نکاتور آمریکانوس، هامستر، کشت هارادا - موری، دستگاه بترمن

### چکیده

کرم های فلابدار و خونخوار نکاتور آمریکانوس یکی از انگل های مهم بیماری زا در منطقه شمال ایران می باشند. هامسترهای شیرخوار ۳ - ۱ روزه حساسیت زیادی به لاروهای نکاتور آمریکانوس نشان می دهند و لاروها ۶ - ۵ هفته بعد از عفونت به مرحله بلوغ جنسی می رسند. از این حیوان می توان جهت تهیه تخم، لارو و کرم های بالغ نکاتور آمریکانوس جهت تحقیق در زمینه های مختلف این انگل استفاده نمود. هامسترهای نوزاد را با ۷۰ لارو مرحله سوم نکاتور آمریکانوس آلوده نموده و ۵۰ درصد لاروها در هامسترها به کرم بالغ تبدیل شدند.

### سراغاز

کرم های فلابدار عفونت مزمن هستند که سال ها در میزبان خود باقی می مانند. نکاتور آمریکانوس کرم فلابدار شایع در نقاط گرمسیری و تحت گرمسیری دنیا است و برای انسان کاملاً پاتوژن می باشد. وجود میزبان اختصاصی برای این انگل مانع پیشرفت در فهم بیولوژی آن شده است و از این رو درباره طبیعت بالقوه پاسخ های ایمنی حفاظتی میزبان در مورد استراتژی هایی که توسط کرم جهت مهار ایمنی میزبان بکار می رود، شناخت کمی داریم (۳). این کرم در شمال ایران به خصوص در بعضی روستاهای استان گیلان به ۳۰ درصد و یا بیشتر می رسد (۱). تاکنون سنگ را با لارو این انگل آلوده کرده اند که تا مرحله بلوغ رشد می کند یک عفونت خیلی محدودی را ایجاد می نماید (۵). و همچنین هامستر شیرخوار نیز حساسیت زیادی نسبت به لارو این انگل از خود نشان می دهد (۵). این تحقیق برای اولین بار در ایران انجام گرفت و نکاتور آمریکانوس تا مرحله بلوغ جنسی رشد یافت و عفونت آشکاری را در هامسترهای شیرخوار ایجاد نمود.

۱- گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- گروه انگل شناسی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران.

## نمونه گیری و روش بررسی

مدفوع از افراد آلوده دارای تخم های نکاتور آمریکانوس از روستاهای لاهیجان ، تنکابن و رامسر بدست آمد که توسط روش هارادا - موری و کشت ذغال در حرارت ۲۸ - ۲۳ درجه سانتی گراد کشت گردیدند. لاروها بعد از ۱۴ روز (گاهی بعد از ۲۱ روز) توسط دستگاه بترمن از محیط کشت جدا و چند بار (۵ - ۴ بار) با آب مقطر استریل با ساتریفیوژ در سرعت کم (۷۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۲ دقیقه شستشو و رسوب نهایی حاوی لاروها در محیط مناسب جهت آلوده سازی هامسترهای نوزاد نگهداری شدند.

هامستر طلایی اولیه از انستیتو رازی (حصارک کرج) تهیه گردید که سن آنها بین ۸ - ۶ هفته بود. این حیوانات به اتاق حیوانات دانشگاه تربیت مدرس منتقل و تحت شرایط خاص دمایی و غذایی قرار گرفتند. غذای آنها شامل غذای فشرده از شرکت خوراک دام پارس ، تخمه آفتابگردان به اندازه کافی و روزانه ، هویج و در مواقع ضروری شربت مولتی ویتامین به مقدار لازم و به طور مرتب به آنها داده می شد. بعد از جفت گیری و تولد نوزادان بلافاصله از لاروها ۷۰ عدد لارو تهیه شد. به علت کمبود لارو در زمان مذکور از یک طرف و از طرف دیگر چون فقط راه اندازی این آزمایش مورد نظر بود ، لاروها فقط روی پوست شکم سه هامستر نوزاد دو روزه به مدت ۲۴ ساعت به کمک نوار چسب مجاور گردید و سپس حیوانات بعد از آلودگی به قفس نزد مادر برگردانده شدند. نوزادان تا ۲۵ روز نزد مادر نگهداری و بعداً به قفس دیگری منتقل و تحت غذای کافی و مرتب فوق الذکر قرار گرفته و آب آنها نیز روزانه تعویض می گردید. بعد از ۳۵ - ۳۰ روز هامسترها برحسب جنس از هم جدا شدند. از سه هامستر آلوده یکی در همان اوایل از بین رفت. مدفوع دو هامستر باقیمانده از روز ۳۵ بعد از آلودگی روزانه جمع آوری (۱) یا فرمل اتر جهت یافتن تخم هوک ورم آزمایش شدند. اولین بار تخم ها در روز ۴۰ بعد از عفونت یافت گردید و مدفوع حاوی تخم کشت گردید و بعد از ۱۴ روز لاروها به روش بترمن جدا شدند.

دو هامستر آلوده در روز ۴۴ بعد از آلودگی با اتر کشته و روده کوچک آنها به پتری دیش حاوی سرم فیزیولوژی ۳۷ درجه سانتی گراد انفال داده و بطور طولی با دقت با میله نازکی باز شدند. کرم های نکاتور آمریکانوس جدا و ۴ بار با آب مقطر استریل شستشو شدند.

## یافته ها

برای مقایسه اندازه کرم های انسانی با کرم های بدست آمده از هامستر ، کرم های جمع آوری شده از افراد آلوده در روستاهای لاهیجان پس از درمان ، جداسازی ، شستشو و سپس اندازه گیری گردیدند که متوسط طول ماده ها ۱۰/۲ میلی متر و متوسط طول نرها ۷/۵ میلی متر (۷۲ کرم نر و ۵۳ کرم ماده) بود. از یک هامستر ۳۸ عدد کرم (۱۸ ماده و ۲۰ نر) و هامستر دیگر ۳۲ کرم (۱۷ ماده و ۱۵ نر) جدا و سپس اندازه گیری شدند. متوسط طول ماده ها ۹/۱ میلی متر و متوسط طول نرها ۷/۲ میلی متر بود. یک جفت کرم نر و ماده در حال جفت گیری

مشاهده شد و در رحم تمامی کرم های ماده تخم وجود داشت. میانگین بار کرمی ۵۰ بود.

## گفتگو و بهره گیری پایانی

مطالعه موجود دلالت براین دارد که هامسترهای شیرخوار برای عفونت نکاتور آمریکانوس مناسب می باشند و یک محیط مستعد برای تکامل لاروها تا کامل شدن سیکل زندگی این انگل می باشند.

آلوده کردن هامسترها در سنین مختلف دلالت براین دارد که حیوانات ۲ - ۱ روزه مناسب ترین میزبان هستند زیرا که شوکچه هندی و هامسترهای بالغ لاروها تا مرحله بلوغ نمی رسند (۴).

در همین گزارش آمده است که از یک هامستر ۳ روزه که با ۷۰۰ لارو مرحله نکاتور آمریکانوس آلوده شده بود در روز ۳۵ بعد از آلودگی ۹ کرم (۷ کرم ماده و ۲ کرم نر) جدا کردند که میانگین طول ماده ۸/۰۴ میلی متر و میانگین طول نرها ۶/۸۵ میلی متر بود. (۶).

دو هامستر ۳ - ۱ روزه را با میانگین دوز لاروی ۱۱/۲ + ۱۱۰ آلوده نمودند که در روز ۳۵ بعد از آلودگی میانگین بار کرمی در هامسترها ۵۰ عدد بود و درصد کرم های نر در این آزمایش ۲ + ۵۰/۱ و در کل آزمایشات درصد کرم نر ۵۰ - ۴۵ می باشد (۳).

میانگین بار کرمی ۲/۹ + ۵۴ را در روز ۴۶ بعد از عفونت گزارش کردند. میانگین طول کرم های ماده ۶/۷۲۲ میلی متر و میانگین طول کرم های نر ۵/۵۶۳ میلی متر می باشد (۲).

از نظر بار کرمی نتایج متفاوتی بدست آمده است (۴) که احتمالاً بخاطر تعداد لارو زیادی است که در آن آزمایش به حیوان تلقیح شده است ولی با دو آزمایش (۲ و ۳) تفاوت چندانی از نظر بار کرمی وجود نداشت. از نظر طول ، کرم های ماده و نر در این آزمایش از دو آزمایش (۲ و ۶) بیشتر است که احتمالاً بستگی به دوز لارو تلقیح شده و یا سوش<sup>۱</sup> کرم دارد ولی از طول کرم های جدا شده از انسان کمتر می باشد که احتمالاً بستگی به شدت آلودگی و نوع تغذیه میزبان دارد زیرا حداکثر کرم جدا شده از یک فرد آلوده ۳۷ کرم بود که از روستای گردکوه در شهرستان لاهیجان از استان گیلان می باشد.

در خاتمه پیشنهاد می گردد که از این روش جهت تحقیقات بیولوژیکی ، اپیمولوژیکی و فارماکولوژیکی در مورد این انگل از حیوان به جای محیط های کشت کمپلکس که بسیار گران و پرهزینه می باشند ، استفاده گردد.

## سپاسگزاری

از مسئول و کارکنان اتاق حیوانات دانشگاه تربیت مدرس به خاطر همکاری آنها کمال تشکر را دارم .

## کتابنامه

- ۱- سرلی صحنه سرلی . مهرزاد (۱۳۷۰): بررسی وفور انگل های روده ای در روستاهای شهرستان لاهیجان . پایان نامه فوق لیسانس انگل شناسی پزشکی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس .
- 2- Beaver , P.C. , Jung , R.C. and Cupp. F. W. (1984): *Clinical parasitology* , 9<sup>th</sup> ed. Lea and febiger , philadelphia , P. ۴۴۲.
- 3- Norozian-Amiri , S.M.B. , Behnke , J.M. (1994): Density dependent regulaion of the growth of the hookworms *Necator americanus* and *Ancylostoma ceylanicum*, *parasitology* , 109 , 119-128.
- 4- Rose , R.A. , Behnke , J.M. (1990): *Necator americanus* in the DSN hamster , density-dependent expulsion of adult worms during primary infection , *parasitology* , 100 , 469 - 478.
- 5- Sen , H.G. , Seth , D. (1970): Development of *Necator americanus* in Golden hamster *Mesocricetus auratus* , *Indian J. Med. Res.* 58 , 1356 - 1360.
- 6- Smyth , J.D. (1990): *In vitro* cultivation in parasitic helminths , CRC peress, Florida ; P : 190.