

فصل دوم

دانستیهای موجود در زمینه پژوهش

تاریخچه بیماری سالک در دنیا :

کانینگهام در سال ۱۸۸۵ ترشحات زخم پوستی بیماری را که به آن تاول دهلی می گفتند در هندوستان مورد مطالعه قرار داد. این پژوهشگر، ماکروفاژ های میزبان را انگل آمیبی پنداشته و اجسام درون ماکروفاژ را هاگ تصور کرده بود. در اواخر قرن نوزدهم عامل تاول دهلی یا زخم شرقی را در میان باکتریها جستجو می کردند ولی بوروکسی نشان داد که باکتریها فقط در زخمهای باز شده یافت می شوند و در زخمهای باز نشده تعداد زیادی اجسام کوچک بیضی و دوکی شکل به اندازه نیم تا دو میکرون در درون ماکروفاژها وجود دارند. در سال ۱۹۰۰ لیشمان در طحال سربازی که از تب دام در هندوستان مرده بود اجسام بیضی شکلی را درون سلولهای بزرگ مشاهده کرد (۳).

راس نیز در سال ۱۹۰۳ جنس لیشمانیا را معرفی کرد، لاوران و منیل در همان سال نام لیشمانیا دونووانی را به عنوان عامل بیماری کالا آزار پیشنهاد کرد (۱).

در سال ۱۹۰۴ برای نخستین بار راجرز موفق به کشت انگل و مشاهده شکل تاژ کدار آن شد و چند سال بعد نیکول شکل تاژ کدار لیشمانیا تروپیکا را در آب ناشی از تعریق در محیط کشت خون دار مشاهده کرد.

لو در سال ۱۹۰۶ نام لیشمانیا تروپیکا را به عنوان عامل زخم شرقی معرفی کرد (۲).

و نیون در سال ۱۹۱۱ اظهار کرد که فلبوتوم ممکن است ناقل بیماری ناشی از لیشمانیا باشد (۲).

بعد از ۳۰ سال آدلر و بر اثبات کردند که فلبوتوموس پاپاتاسی ناقل لیشمانیا تروپیکا است. و سوامینات و همکاران ملاحظه کردند که فلبوتوموس آرجنتیپس ناقل لیشمانیا دونووانی است (۱).

تاریخچه بیماری سالک در ایران :

تاریخچه لیشمانیوز پوستی: در کتب قدیم ایران از جمله قانون بو علی سینا از زخمی یاد شده است به نام خیرونیه که مدتها دوام داشته و درمانش مشکل و در برابر داروهای گوناگون مقاوم بوده است. پیش از کشف انگل سالک در سال ۱۸۵۶ میلادی دکتر پولاک آلمانی که یکی از استادان پزشکی موسسه دارالفنون تهران بود، شرح جامعی درباره بیماری سالک نوشته و این زخم را به دو شکل حاد و مزمن تقسیم کرده و آن را با دکمه بغدادی و دکمه حلبی یکی دانسته است. ۱۹۱۳ نیلگان به مطالعه سگهای اطراف تهران پرداخت و متوجه شد که سگهای ولگرد به زخمی پوستی مبتلا هستند و در احشاء نیز ضایعاتی دارند (۳).

در سال ۱۹۱۵ گاشه استاد پزشکی درالفنون ۲۱ سگ ولگرد کوچه های تهران را مورد آزمایش قرار داد و ۱۵ سگ را مبتلا به سالک تشخیص داد. دکتر شیخ در سال ۱۹۳۳، ۵۰ سگ ولگرد را در تهران از نظر انگل لیشمانیا مورد آزمایش قرار داد ولی نتیجه گسترشهایی که از پوست و بزل طحال آنها تهیه کرد، منفی بود (۱).
از سال ۱۳۲۰ به بعد دکتر انصاری، دکتر مفیدی، دکتر ندیم، دکتر مثقالی، دکتر فقیه و دکتر حاجیان در زمینه همه گیر شناسی اختصاصات آزمایشگاهی انگل، گونه های پشه خاکیههای مناطق آلوده و درمان موارد سالک، مطالعاتی در نقاط گوناگون ایران انجام داده اند (۴).

تاریخچه لیشمانیوز احشایی در ایران :

وجود کالآزار در ایران نخستین بار توسط دکتر یحیی پویا اعلام شد. در مقاله ای که او در سال ۱۳۲۸ منتشر ساخت سه مورد بیماری را که از لحاظ بالینی و آزمایشگاهی تشخیص آنها قطعی بود، معرفی کرد. پس از دکتر پویا دکتر صادق پیروز عزیزی خاطره ای را منتشر ساخت که به موجب آن بین سالهای ۱۳۱۳ تا ۱۳۱۷ زن و شوهری اهل اردبیل که بیمار بودند، چون از درمانهای متعدد نتیجه نمی گیرند در پاریس به عنوان مورد کالآزار تشخیص داده می شوند (۲).

انواع بیماری لیشمانیوز:

جدول A: اشکال بیماری لیشمانیوز در دنیای قدیم

اشکال لیشمانیوزها		اشکال جغرافیایی بیماری	سیستم انگلی (انگل، ناقل، مخزن)	
		هندی(کالآزار)	$L.donovani \rightarrow P.argentipes \rightarrow$ انسان	
احشایی		خاورمیانه- آسیا	<i>L.infantum</i>	<i>P.major</i> سگسانان
				<i>P.perniciosus</i>
				<i>P.chinensis</i> انسان
				<i>P.longipalpis</i>
	شرق افریقا (سودان- کنیا)	<i>L.donovani</i>	<i>P.orientalis</i> سگسانان	
			<i>P.matini</i> انسان	
جلدی	روستایی	خاورمیانه، شبه قاره هند، شمال غربی چین،	<i>L.t.major</i>	<i>P.caucasicus</i> سگسانان
				<i>P.papatasi</i> انسان
	شهری	خاورمیانه، شبه قاره هند، سواحل مدیترانه، نواحی غرب آسیا	<i>L.t.minor</i>	<i>P.papatasi</i> انسان
				<i>P.sergenti</i> سگسانان



شکل ۱: سبز پررنگ، mucocutaneous leishmaniasis، سبز، visceral leishmaniasis :

سبز روشن cutaneous leishmaniasis :

۱- لیشمانیوز جلدی نوع شهری^۱ (ACL)

این فرم بیماری دارای چندین کانون در ایران است که از مهمترین آنها می توان به تهران، مشهد، نیشابور، شیراز و کرمان اشاره کرد. با این وجود، این بیماری مذکور دارای کانون هایی در سایر نقاط کشور و از جمله شهرهای اصفهان، یزد و بم می باشد. لیشمانیوز شهری توسط *L.tropica* ایجاد می شود و *Ph.sergenti* ناقل اصلی آن در کشور بشمار می رود آلودگی لپتومونایی این پشه خاکی در شهرهای مشهد و اصفهان مشاهده شده است. این گونه دارای انتشار وسیعی در ایران است و در کانون های لیشمانیوز جلدی شهری از وفور بالایی برخوردار می باشد. در بین سایر پشه خاکی ها، *Ph. papatasi* و *Ph. Causiasus* به همراه فلیوتوموس سرژنتی در برخی از کانون ها یافت می شود و گمان می رود که به عنوان ناقلین ضعیف این فرم بیماری عمل می کنند (۱).

۲- لیشمانیوز جلدی نوع روستایی^۲ (ZCL)

این فرم بیماری یکی از مسائل مهم بهداشتی کشورمان به حساب می آید و در نواحی روستایی یازده استان کشورمان به صورت اندمیک وجود دارد. استان های اصفهان و در سالهای اخیر، یزد از مهمترین کانون های این

۱- Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis

۲- Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis

بیماری به شمار می روند. سایر کانون های مهم این بیماری در استان خراسان، گلستان، خوزستان، فارس، سمنان، سیستان و بلوچستان و تهران وجود دارند (۲).

L. major عامل مولد این بیماری در ایران است و *Ph. papatasi* به عنوان ناقل اصلی آن شناخته شده است. این پشه خاکی ها نه تنها در ایران، بلکه در کل منطقه پاله آرکتیک و بخشی از مناطق آفروتروپیکال و اورینتال به صورت اهلی وجود دارد. فلبوتوموس پاپاتاسی علاقه زیادی به خونخواری از انسان و جوندگان دارد. این عادت باعث انتقال انگل لیشمانیا به انسان می شود. تاکنون آلودگی لپتومونایی این گونه در لطف آباد و اسفراین در استان خراسان شمالی و رضوی، ترکمن صحرا در استان گلستان، روستاهای شهر اصفهان، برخوار، بادرود، و جرقویه، اهواز، دهلوران، دزفول و شوش در استان خوزستان، ابردژ و رامین در استان تهران و ابرکوه در استان یزد گزارش شده است. نسبت های آلودگی لپتومونایی فلبوتوموس پاپاتاسی در این کانون ها بین ۰/۲ تا ۳۷/۸ درصد ذکر شده است (۶).

فلبوتوموس پاپاتاسی به همراه فلبوتوموس کوکازیکوس، فلبوتوموس مونگولنسیس و فلبوتوموس انصاری به عنوان ناقلین لیشمانیوز جلدی روستایی در بین جوندگان شناخته شده اند. افراد آلوده فلبوتوموس کوکازیکوس از استانهای اصفهان، خراسان و یزد گزارش شده اند. آلودگی در استان اصفهان از برخوردار و جرقویه گزارش شده است. همچنین فلبوتوموس الکساندری آلوده از لانه های جوندگان استان خوزستان صید شده است. در استان سیستان و بلوچستان هم آلودگی لپتومونایی فلبوتوموس صالحی مشاهده شده است (۷).

در سالهای اخیر انگل *L. major* zymodeme MON-۲۶ از فلبوتوموس پاپاتاسی در کانونهای برخوار، بادرود و سبزوار جداسازی شده است. همچنین زایمودیم فوق از فلبوتوموس کوکازیکوس در کانونهای برخوار و جرقویه جدا شده است. همانطور که در بالا گفته شد، به علت فراوانی کم فلبوتوموس کوکازیکوس در اماکن انسانی و تمایل آن به خونخواری از جوندگان، این پشه خاکی نمی تواند به عنوان ناقل لیشمانیوز جلدی روستایی در بین انسان ها عمل کند گرچه آلودگی آن به انگل لیشمانیا از کانون های مختلف کشور مانند اصفهان، آذربایجان شرقی، خراسان و ... گزارش شده است (۸).

علائم بیماری سالک روستایی:

این شکل بیماری دارای ۴ مرحله پاپول بی درد، مرحله زخم و دلمه، شروع بهبودی، بهبودی کامل و به جای ماندن جوشگاه (جای زخم یا اسکار) می باشد. پس از گذشت دوره کمون در محل گزش پشه پاپول سرخ رنگی ظاهر می

شود این پاپول نرم و بی درد است و در اثر فشار محو نمی شود. گاه خارش مختصری دارد. پس از گذشت چند هفته یا چند ماه پاپول فعال شده، ضایعه بزرگتر شده و اطراف آن را هاله قرمز رنگی فرا می گیرد. و کم کم بر اثر تجمع سلول ها در آن قطعه ضایعه سفت می شود. پس از گذشت ۲ تا ۳ ماه پاپول بصورت دانه ای سرخ و برجسته با سطحی صاف و شفاف و قوامی نرم در می آید. در این هنگام گاه در روی آن فرورفتگی به عمق یک میلیمتر که ته آن پوسته پوسته است دیده می شود. به تدریج سطح این دانه نرم می شود و مایع سروزی ترشح می کند و بالاخره ضایعه بصورت زخمی باز در می آید. زخم حدودی مشخص و حاشیه ای نامنظم و برجسته دارد که روی آن را دلمه ای کثیف و قهوه ای رنگ پوشانده است. اگر دلمه کنده شود کف زخم فرو رفته است، اطراف زخم دارای هاله ای صورتی رنگ که در مقایسه با بافتهای اطراف و زیر آن سفت به نظر می رسد. ضایعه بی درد و گاهی دارای خارش خفیف است. هرچه تعداد ضایعات بیشتر باشد اندازه زخمها کوچکتر و بهبودی آنها سریعتر است. بهبودی زخم بتدریج از مرکز زخم شروع شده و دلمه شروع به خشک شدن می کند. و پس از گذشت ۱۲-۶ ماه و گاه بیشتر ضایعه کاملا بهبود می یابد و اثر آن به صورت جوشگاهی فرورفته با حدودی کاملا مشخص و حاشیه

ای نامنظم باقی می ماند (۹).



invasive

شکل ۲: زخم سالک در روی گونه و لب



lupoid

شکل ۳: زخم سالک در روی بینی



recidivans

شکل ۴: زخم سالک در روی صورت



recidivans

شکل ۵: زخم سالک در لب و پیشانی

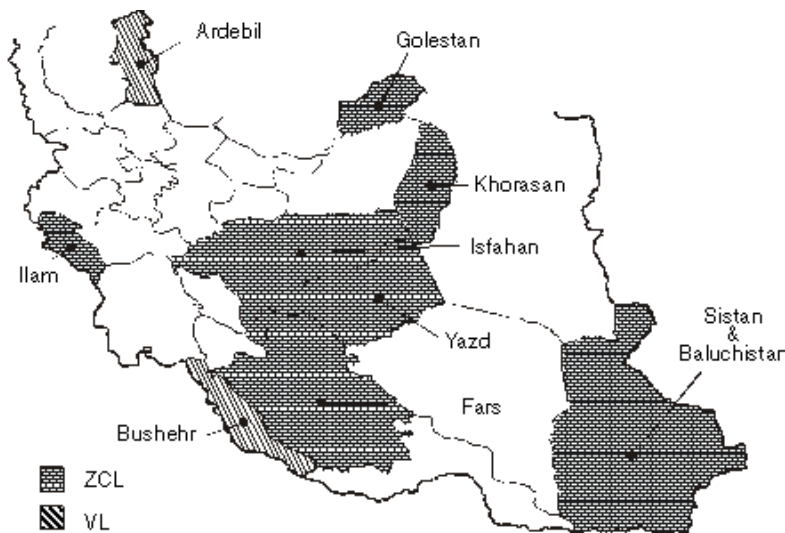
۳- لیشمانیوز احشایی (VL)^۱

لیشمانیوز احشایی برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۲۸ از استان گیلان گزارش شد. این بیماری به صورت تک گیر از همه نقاط کشور گزارش شده، اما کانون های آندمیک آن در استان های اردبیل و فارس وجود دارند. در سالهای اخیر موارد بیماری در استانهای بوشهر و خوزستان هم افزایش قابل توجهی یافته

۱- Visceral Leishmaniasis

است. با توجه به گزارشات جدید موارد بیماری، به نظر می رسد که مناطقی از استانهای آذربایجان شرقی و کرمان هم به عنوان کانون لیشمانیوز احشایی باشند (۱۰).

تاکنون مطالعات زیادی در زمینه ناقلین لیشمانیوز احشایی در ایران صورت گرفته است، اما تا چند سال اخیر فقط بر اساس شواهد اپیدمیولوژیکی و فراوانی بالا در کانون های اندمیک بیماری، آن را به عنوان ناقل کالاآزار معرفی می کردند. مطالعات محققین مختلف ادامه یافت و تعداد زیادی از چندین گونه پشه خاکی در کانون های اندمیک صید و تشریح شدند. نتایج نشان دهنده آلودگی طبیعی پنج گونه *Ph.kandelakii* , *Ph.perfiliewi* , *transcucasicus* , *P.alexandri* , *Ph.keshishani* , *Ph.major* طبیعی سه گونه اول در استان فارس به ترتیب به میزان ۳/۳، ۱/۰۷ و ۴/۲ درصد مشاهده شد. دو گونه بعدی هم در استان اردبیل به ترتیب به میزان ۱/۰۹ و ۰/۳۴ درصد به انگل لیشمانیا آلوده بودند. انگل *L.infantum* نیز از دو گونه فلپوتوموس کاندلاکتی در ایران جداسازی و به روش ^۱PCR تعیین هویت شده است. همچنین لازم بذکر است که آلودگی لپتومونایی فلپوتوموس کشیشیانی برای اولین بار در دنیا توسط سیدی رشتی و همکاران از ایران گزارش شده است بنابراین گونه مذکور را می توان به فهرست ناقلین لیشمانیوز احشایی در دنیا افزود (۱۱).



شکل ۶: مناطق اندمیک بیماری لیشمانیوز احشایی و سالک روستایی ایران

در مرکز و جنوب آمریکا زخمهای جلدی ایجاد می شود که عامل آن *L.braziliensis* و *L.mexicana* است.

این انگلها به زیر گونه های زیر تقسیم شده است:

L. braziliensis ، *L. panamensis* ، *L. mexicana* ، *L. venezuelensis* ، *L. amazonensis*
(*L. guyanensis*، *L. peruviana*، *L. pifanoi*) *L. braziliensis* complex

۴- لیشمانیوز جلدی - مخاطی:

دوره کمون بیماری : ۱ ماه تا ۲۴ سال

سینونیم(اسامی دیگر بیماری) : اسپوندیا، اوتا، زخم چیکلر

این بیماری در آمریکای جنوبی اتفاق می افتد بویژه در برزیل، پاراگوا، اکوادور، بولوی، پرو، کلمبیا و ونزوئلا، ۹۰٪ موارد بیماری در برزیل، بولوی و پرو روی می دهد، ۲۰٪ بیماران لیشمانیایی در برزیل لیشمانیوز جلدی مخاطی می گیرند در اکوادور، به نظر می رسد بیشتر موارد^۱ MCL در نواحی آمازون رخ می دهد بین سالهای ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۳ تعداد ۲۱۸۰۵ مورد MCL گزارش شده است که اغلب در جزایر آمازون رخ داده بود (۱). برخی در دره های آند و سواحل پاسفیک بوده است.

خصوصیات انگل لیشمانیوز جلدی - مخاطی هنوز مشخص نشده است بنابراین به نظر می رسد ژنتیک میزبان نقش موثری در توسعه بیماری داشته است انتشار این بیماری همانند لیشمانیوز جلدی است و هر دو نوع بیماری می تواند همزمان اتفاق افتد. این بیماری وقتی اتفاق می افتد که زخمهای جلدی به ماهیچه ها برسند یا بین ماهیچه ها توسعه پیدا کند. در مورد این بیماری غیر ممکن است که زخمها بعد از چندین سال از بهبودی فعال شوند (۱).

علائم بالینی :

علائم اولیه بیماری شبیه لیشمانیوز جلدی است که یک یا چند زخم پیشرفته در نواحی دارای ماهیچه مثل بینی، دهان مجرای نای به شکل تیغه بینی لب یا کام (استخوانها نمی شوند) زخمها ممکن است باشند و از نظر اندازه بزرگ باشند که ممکن است زخمها به هم رسیده و به شکل جلدی بوجود آیند.

روش تشخیص:

PCR, DNA هیبریداسیون شده است تست پوستی (۳ - ۲ ماه بعد از آلودگی مثبت می شود) تنها سرلوژی سازی انگل در محیط کشت، برداشتن انگل از اطراف زخمها

درمان:

از داروهای پنتوستام، آمفوتریسین B، کامولار استفاده می شود.



Mucocutaneous leishmaniasis

شکل ۸: لیشمانیوز جلدی مخاطی در بینی



شکل ۷: لیشمانیوز جلدی مخاطی در حلق

مشخصات انگل بیماری سالک

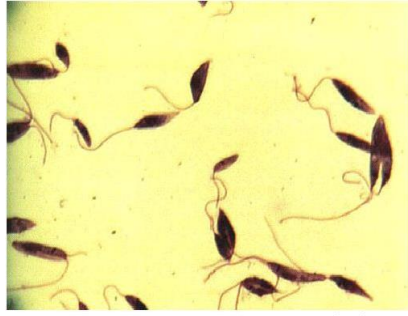
گونه های لیشمانیا، انگلهایی از خانواده تریپانوزومیده و جنس لیشمانیا هستند که تاکنون بیش از ۳۰ گونه از آنها شناخته شده است. این انگلها یک کینتوپلاست (نوعی DNA میتوکندریایی منحصر به فرد که توسط میتوکندری تک یاخته احاطه می شود)، یک تاژک منفرد که از حفره تاژک خارج می شود و اشکال ریخت شناسی متفاوت در درون بدن پشه خاکیهای ناقل و بعضی از میزبانان پستاندار می باشند (۱۲).

تاژک رشته باریکی است که مشاهده آن به کمک میکروسکوپ نوری و با بیشترین درشت نمایی (X1000)، به دقت فراوانی نیاز دارد. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مشاهده می شود که هر تاژک از یک محور مرکزی به نام اکسونم و ۹ تارچه متحدالمرکز تشکیل شده است. کینتوپلاست از اجسام پارابازال کروی یا میله ای شکل با اندازه های متفاوت تشکیل شده است که از یک دانه قاعده ای قدامی به نام بلغاروپلاست یا بازال بادی منشاء می گیرد که بوسیله رشته های باریکی به کینتوپلاست اتصال دارد. ترکیب اصلی کینتوپلاست DNA است (۱۳).

چرخه زندگی انگلهای لیشمانیا

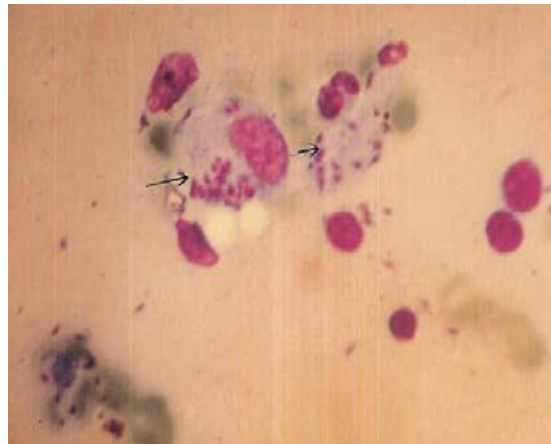
رشد لیشمانیا در بدن پشه خاکی

اصولاً روش اصلی انتقال گونه های گوناگون انگلهای لیشمانیا از طریق گزش پشه خاکیهای ماده است. پشه خاکیهای ماده در حین خونخواری از حیوان یا انسان مبتلا به عفونت لیشمانیای آماستیگوت ها را که معمولاً درون درشتخواران پوست (هیستوسیت ها) وجود دارند و یا بر اثر پارگی ماکروفاژها به شکل آزاد در می آیند، وارد لوله گوارش خود می کنند. انگلهای لیشمانیا در روده میانی پشه خاکی آزاد می شوند و جهت جلوگیری از تاثیر آنزیمهای مجرای گوارشی درون حفره یک جداره به نام حفره پریتروفیک محصور می شوند تبدیل آماستیگوت به پروماستیگوت به نوع پشه خاکی، نوع انگل و دمای محیط بستگی دارد و ممکن است از چند ساعت تا چندین روز متغیر باشد. پروماستیگوت ها پس از خارج شدن از حفره پریتروفیک، بین سلول های پوششی لوله گوارش پشه خاکی فرو می روند و تقسیم دوتایی طولی را آغاز می کنند و محل استقرار و تکثیر پروماستیگوت ها ممکن است در قسمت قدام پیلور پشه خاکی باشد که در این صورت انگل مورد نظر جزء زیر جنس لیشمانیا به شمار می رود و چنانچه محل تکثیر انگلها در اطراف دریچه پیلور باشد، جزء زیر جنس ویانیا طبقه بندی می شود. به هر حال پس از طی مراحل گوناگون تکثیری تکاملی و تبدیل پروماستیگوت ها به اشکال متاسیکلیک، آنها از جدار روده پشه خاکیها جدا شده و به درون مجرای روده وارد می شوند و با استفاده از تاژک طویل و حرکات سریع به ناحیه فارنکس و خرطوم پشه خاکیها می رسند و از طریق گزش به انسان و حیوانات حساس منتقل می شوند. این انگلها هیچ گاه در غدد بزاقی پشه خاکیها متمرکز نمی شوند. اخیراً در بزاق بعضی از پشه خاکیها به وجود موادی پی برده اند که باعث افزایش حدت و بیماری زایی این انگلها می شوند. فاصله زمانی بین ورود آماستیگوت ها به لوله گوارش پشه خاکی و ظهور اشکال متاسیکلیک پروماستیگوت در خرطوم این پشه ها اصطلاحاً «دوره کمون خارجی» نامیده می شوند که بسته به گونه پشه خاکی و نوع لیشمانیا بین ۹ تا ۱۵ روز متغیر است. مطالعات اخیر نشان می دهند دریچه کاردیالک پشه خاکیهای آلوده به وسیله آنزیمهای کیتینولیتیک مترشحه توسط انگل لیشمانیا تخریب می شود و لذا باعث پمپاژ اشکال متاسیکلیک از طرف روده قدامی به سمت خرطوم می شود. در حالی که جهت خون بلعیده شده از خرطوم به سمت روده است. تعداد پروماستیگوت های لازم جهت ایجاد عفونت لیشمانیایی در میزبان مهره دار نامشخص است ولی به نظر می رسد تعداد ۱۰۰-۱۰۰۰ پروماستیگوت از طریق گزش پشه خاکی کافی باشد (۲۳).

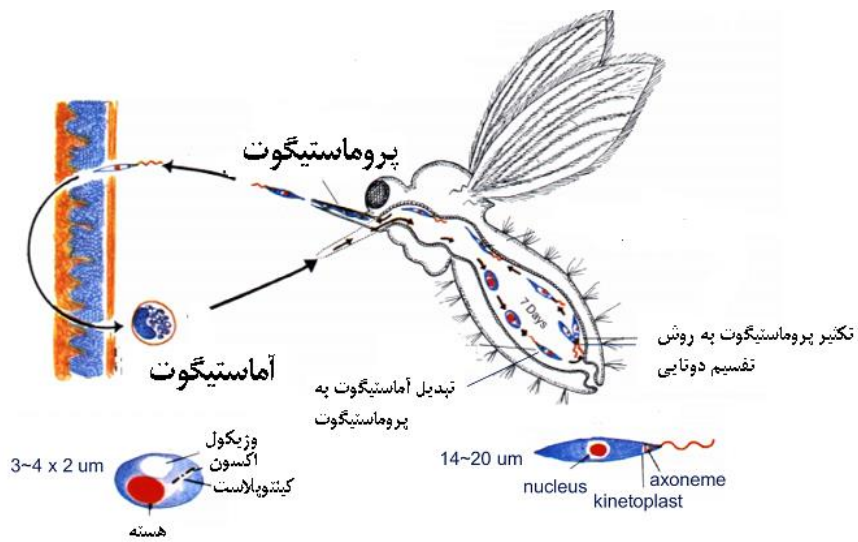


Promastigotes (Flagellated *Leishmania* parasites).

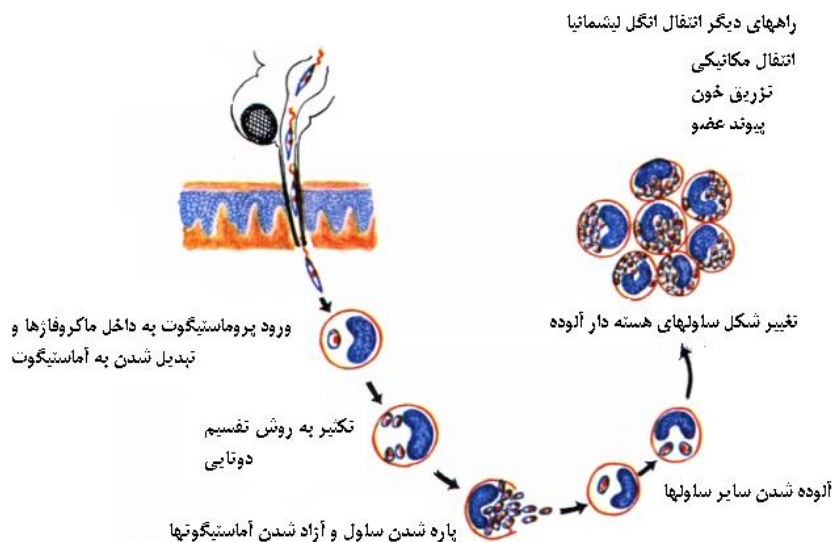
شکل ۹: انگل پروماستیگوت



شکل ۱۰: انگل آماستیگوت



شکل ۱۱: چرخه زندگی انگل لیشمانیا در بدن پشه خاکی



شکل ۱۲: نحوه ورود و تکثیر انگل لیشمانیا در درون ماکروفاژها

مرفولوژی پشه خاکی ها

۱-۲- مرفولوژی خارجی

بالغ: افراد بالغ پشه خاکی ها دوبالان کوچکی به اندازه ۴-۵/۱ میلی متر، دارای چشم های بزرگ، شاخک بلند و باریک، پاهای بلند و مودار، و به رنگ زرد روشن تا خاکستری هستند. پشه خاکی های فلبوتومینه را می توان از روی عدم اتصال چشم ها، وجود پالپ های پنج بندی، قطعات دهانی گزنده که حداقل به اندازه طول سر هستند، بندهای شاخکی تقریباً لوله ای شکل، وجود یک رگ شعاعی ۵ شاخه در بال، و قرار گرفتن بالها به صورت حرف V انگلیسی در بالای بدن در هنگام استراحت، از سایر زیر خانواده های پسیکودیده تشخیص داد. بال های این حشرات پوشیده از موهای متراکم و دارای تعداد رگبال موازی است که به سمت حاشیه بال امتداد می یابند. بال ها معمولاً نقطه نقطه به نظر می رسند. بال های پشه خاکی های متعلق به سایر زیر خانواده های پسیکودیده (*Psychodidae*)، در هنگام استراحت به صورت عدد ۸ (خیمه ای شکل) بر روی بدن قرار می گیرند. گونه *Nemopalpus* از زیر خانواده های *Bruchomyiinae* از نظر ظاهری شبیه اغلب فلبوتومینه هاست، اما فاقد قطعات دهانی گزنده می باشد. به جز فلبوتومینه ها، فقط زیر خانواده *Sycoracinae* دارای گونه های خونخوار می باشد. بدن پشه خاکی ها نیز همانند سایر حشرات از سه قسمت: سر، قفس سینه و شکم تشکیل شده است (۲).

تخم: تخم های پشه خاکی ها، کشیده و در انتهای گرد هستند و بر روی آنها تزئیناتی دیده می شود. این تزئینات ممکن است در انواع مختلف پشه خاکی ها متفاوت باشد. در تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی از تخم های ۵ گونه از پشه خاکی های فلبوتومینه صید شده از ناحیه آند کشور پرو، دو نوع جدید از نقوش کوریونی موجود بر روی تخم های پشه خاکی گزارش شدند. ناحیه آتروپیل هم برای اولین بار در تخم پشه خاکی های نئوتروپیکال توصیف شد. همچنین در پوسته تخم همه گونه ها برجستگی هایی وجود دارد. این برجستگی ها در نقاطی با هم تلاقی کرده و چند وجهی هایی را به وجود می آورند. شکل این برجستگی ها و نقوش ایجاد شده توسط آنها در گونه های مختلف با هم فرق می کند. به نظر می رسد که می توان از این ویژگی ها برای تشخیص گونه پشه خاکی استفاده نمود. طول تخم حدود ۴ میلی متر است. تخم موقعی که گذاشته می شود شفاف است، ولی به زودی به رنگ قهوه ای در می آید. با رشد جنین در داخل تخم نیز رنگ آن تیره تر می شود (۲۴).

لارو: لاروهای پشه خاکی های زیر خانواده فلبوتومینه ظاهری کاملاً مشخص دارند. آنها یک کپسول سر اسکروتیزه دارند که آرواره های بالایی آن بخوبی رشد کرده اند. تمام بدن لارو پوشیده از موهای چوب کبریتی شکلی است که به صورت ردیف های حلقوی بر روی بندهای مختلف بدن وجود دارند. علاوه بر اندازه لارو در سنین دیگر تفاوت هایی دیده می شود. سر در لارو سن یک تیره رنگ است، بخوبی رشد کرده و یک عضو تخم شکن کیتینی در پیشانی آن وجود دارد، شاخک میله ای است سه قسمت قفسه سینه بخوبی رشد کرده و قابل تشخیص هستند. شکم متشکل از یازده قسمت است. که هفت حلقه اول آن کاملاً مشخص هستند و پاهای کاذب شکمی در آنها وجود دارد. و در قسمت جانبی حلقه هشتم، سوراخ های تنفسی کوچکی روی یک قطعه کیتینی قرار گرفته اند. در بررسی که بر روی ۸ گونه پشه خاکی از جنس لوتزومیا به کمک میکروسکوپ نوری و الکترونی صورت گرفت، مشخص شد که هر روزنه تنفسی شامل یک صفحه تنفسی با یک بخش مرکزی اسکروتیزه و یک بخش کناری گلی شکل است. در این بخش کناری برجستگی های پستانی شکلی که به صورت مدور قرار گرفته اند، وجود دارند و از یکدیگر توسط دیواره های بلندی جدا می شوند. هر برجستگی پستانی شکل از نظر طولی با یک شکاف ریز به دو بخش قابل تشخیص تقسیم شده است. ارزش تاکسونومیکی روزنه های تنفسی موضوعی بحث برانگیز است. در بررسی دیگری که بر روی مرفولوژی و ساختمان درونی سیستم روزنه تنفسی در سه گونه پشه خاکی *Ph. papatasi* - *perniciosus* - *Ph. perfiliewi* صورت گرفت، مشخص شد که روزنه های تنفسی قفس سینه ای و شکمی در طی نمو لاروی تغییرات قابل ملاحظه ای را نشان می دهند. در چهارمین

سن لاروی این گونه ها، شکل روزنه تنفسی همانند آنچه که در مورد لوتزومیها در بالا توضیح داده شد بود. برجستگی های پستانی شکل در لاروهای فلبوتوموس پاپاتاسی کاملاً مشخص بوده و به کمک آنها می توان لارو این پشه خاکی را از دو گونه دیگر تشخیص داد. بنابراین به نظر می رسد که وضعیت نمو روزنه های تنفسی در سنین مختلف لاروی، دارای ارزش تاکسونومیکی باشد. روی حلقه نهم شکم لارو یک قطعه کیتینی حاوی دو ابریشم بلند شکننده وجود دارد. روی حلقه دهم نیز دو ابریشم نامساوی قرار گرفته است. حلقه یازدهم دارای دو عضو بالشتکی شکل است که مخرج در بین آنها قرار دارد. پس از پوست اندازی، عضو تخم شکن لارو سن یک از بین می رود و به جای آن در سنین دوم، سوم و چهارم لاروی یک جفت روزنه تنفسی پس قفس سینه ای (متاتوراسیک) رشد می کند و یک جفت ابریشم انتهایی روی حلقه نهم بدن به وجود می آید بنابراین لاروهای سنین دوم تا چهارم دارای دو جفت موی طویل دمی هستند، در حالی که اولین سن لاروی فقط یک جفت موی دمی دارد. البته استثناهایی هم وجود دارد. به عنوان مثال تمامی سنین لاروی در *Ph.tobbi* دارای یک جفت موی دمی هستند. در برخی گونه ها طول این موهای دمی به اندازه طول بدن این لاروهای کاملاً رشد یافته می باشد. عمل این موها ناشناخته است، ولی چون توخالی هستند و منافذ ریزی بر روی سطح آنها وجود دارد، به نظر می رسد در قسمت قاعده شان به سلولهای ترشحی متصل باشند و احتمالاً برای مقاصد دفاعی مورد استفاده قرار می گیرند (۲۵).

شفیره: شفیره پشه خاکی دارای شکل خاصی است، بدین ترتیب که آخرین پوسته لاروی به انتهای آن متصل است. شفیره به کمک این پوسته به مواد زمینه ای محل زندگی اش متصل می شود و این حالت یکی از ویژگی های شفیره پشه خاکی هاست. شکل شفیره پشه خاکی ها در دو جنس نر و ماده تا حدودی متفاوت است. در نرها بند انتهایی بدن شفیره بزرگتر، گردتر و پهن تر از ماده ها است. اندازه بندهای بدن شفیره ماده از قسمت سرسینه به انتهای شکم کاهش می یابد، به طوری که آخرین بند شکمی از همه بندهای بدن کوچکتر است. علت این امر تفاوت اندازه دستگاه تناسلی خارجی نرهاست (۲۶).

۱- سر و ضمائم آن: سر پشه خاکی ها کشیده، پوشیده از مو، در وسط پهن و در قاعده باریک شده است. قطعه زیر پیشانی^۱ در قسمت جلو پیش آمده و شکل دماغ دارد و از ناحیه گونه ای^۲ کوتاهتر است. چشم های مرکب، سیاه

۱- Clypeus

۲- Genal

و پر رنگ است و در هر دو جنس نر و ماده از هم فاصله دارد. سطح پشتی سر از تعداد زیادی موهای صاف پوشیده شده است. فرق سر^۱ عریض و دارای ناحیه قوزداری می باشد. در سطح شکمی سر، ناحیه پشت سری عرضی^۲ وجود دارد که از طرفین به ناحیه پشت گونه^۳ محدود می گردد. از ساختمان های داخلی سر پشه خاکی ها که دارای اهمیت تشخیصی هم هستند، می توان به سیاریوم و فارنکس اشاره کرد. سیاریوم در وسط کپسول سر واقع شده و از امتداد هیپوفارنکس به وجود آمده است. صفحات پشتی آن از امتداد لب بالایی به وجود آمده است. صفحه شکمی دارای دندان های افقی و عمودی است که تحت عنوان دندان های سیباریومی هم نامیده می شوند. قوس کیتینی^۴ در قاعده لب بالا- اپی فانکس واقع شده و در گونه های مختلف کم و بیش تفاوت هایی دارد. صفحات پشتی ممکن است دارای یک منطقه رنگی باشند. این قسمت های ضخیم شده محل اتصال ماهیچه ها به کپسول سر هستند. در قسمت خلفی لکه رنگی میتوان یک برآمدگی پشتی را دید. این برجستگی در پشه خاکی های دنیای جدید به شدت کیتینی شده است. پشه خاکی های جنس فلبوتوموس دارای دو برجستگی پشتی هستند. پمپ بزاقی را می توان روی سطح شکمی در قاعده هیپوفانکس ملاحظه کرد (۲۷).

ویژگی های حائز اهمیت تاکسونومیکی سیاریوم :

وجود تعداد دندان های افقی و عمودی، موقعیت و ترتیب قرار گرفتن آنها

وجود، شکل و میزان تیرگی رنگ لکه رنگی

وجود قوس کیتینی

شکل سیاریوم و صفحه شکمی آن

وجود و تعداد برجستگی های پشتی

ساختار دیگری که در کپسول سر وجود دارد، فارنکس است. این اندام در قسمت پشت سیاریوم قرار گرفته و شامل

۲ صفحه شکمی است. فارنکس معمولاً بطری شکل یا شبیه لامپ های شیشه ای است. قاعده فارنکس می تواند

دارای خارها، فلس ها، دندان ها، خطوط دندان دار و یا غیره مسلح باشد. همه این خارها و دندان ها با هم تحت

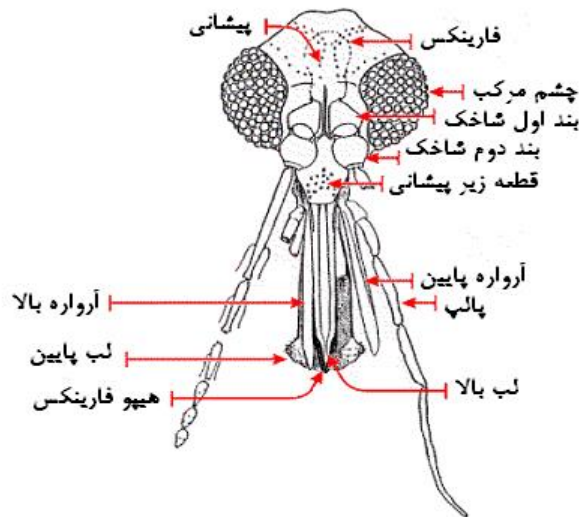
عنوان «آرما تور فانزه» نامیده می شوند.

۱- Vertex

۲- Occipital foramen

۳- Post gena

۴- Chitinous arch



شکل ۱۳: قطعات دهانی پشه خاکی

ویژگی‌های حائز اهمیت تاکسونومیکی فارینکس:

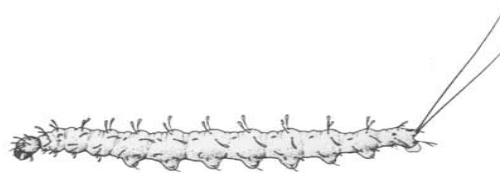
شکل فارینکس و نسبت طول به عرض آن

ترتیب قرار گرفتن و میزان رشد و نمو آرماتور فارینکه

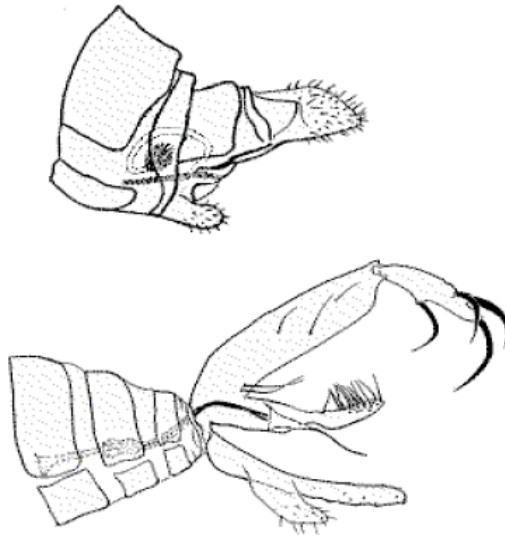
اجزای تشکیل دهنده آرماتور فارینکه



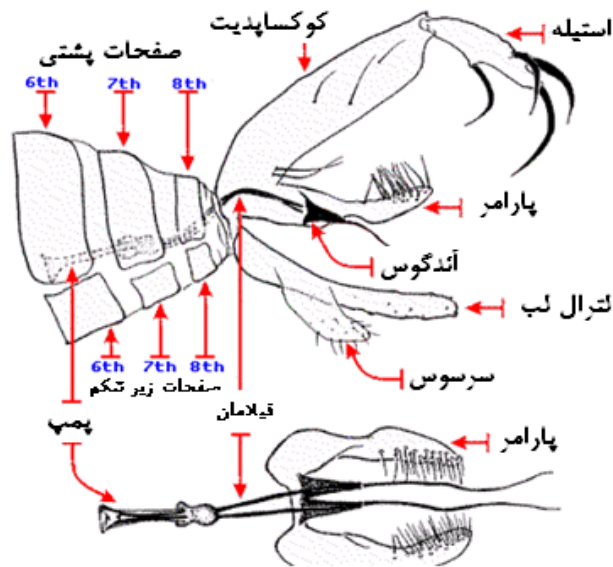
شکل ۱۴: پشه خاکی در حال خون خواری



شکل ۱۵: لارو سن ۱ پشه خاکی



شکل ۱۶: بالا دستگاه تناسلی ماده - پایین دستگاه تناسلی نر



شکل ۱۷: اجزا خارجی دستگاه تناسلی نر

بیولوژی پشه خاکیهها در ارتباط با روشهای نمونه گیری

پشه خاکیهها حشراتی کوچک، ظریف، شب فعال و با توانایی پرواز مستقیم به سمت بالا هستند. پشه خاکیههای ماده نیاز به یک وعده خونخواری دارند تا تخمهای آنها بالغ شود. هر دو جنس برای دریافت انرژی نیاز به قند دارند که آنرا از منابع مختلف به دست می آورند این منابع شامل شهد گیاه و بافتهای بزرگ گیاه می باشد. بالغ پشه خاکیهها در جاهای خشک و تاریک زندگی می کنند و تخمهای خود را در جاهایی که خاک آن غنی از میکروارگانیسمهاست

می‌گذارند تا لارو بتواند تغذیه کند. پشه خاکپها دارای سیکل زندگی نسبتاً طولانی اند. یک سیکل زندگی آنها در حدود ۳۰ - ۴۵ روز طول می‌کشد که به درجه حرارت و رطوبت محیط بستگی دارد (۲۸).

جفت‌گیری آنها روی میزبان یا سطوحی از قبیل روی درختان بزرگ صورت می‌گیرد. ممکن است در جنگلهای مناطق نئوتروپیکال ۳۰ گونه یا بیشتر انتشار داشته باشد. بیشتر گونه‌های پشه خاکی فرصت طلب هستند و از انسان خونخواری می‌کنند ولی تعدادی منحصراً از انسان تغذیه می‌کنند و هر دو جنس بالغ پشه خاکپها را می‌توان در دو زمان صید کرد یکی وقتی که شب در حال پرواز هستند و دیگری در روز در جاهای تاریک. مرحله نابالغ پشه خاکپها خیلی به سختی یافت می‌شود و بیشتر در جاهایی که پشه خاکپها تخم‌گذاری می‌کنند باقی می‌مانند اطلاعات ما در مورد نحوه زندگی آنها کم است و تعداد گونه‌هایی که بتوان در آزمایشگاه آنها را پرورش داد محدود است. اغلب مطالعات میدانی پشه‌ها به ظرفیت ناقلی گونه‌های کانونهای لیشمانیوز و اینکه کی و کجا *Leishmania* به انسان منتقل می‌شود بستگی دارد. تمام این مطالب که گفته شد به نمونه‌گیری و میزان آنترپوفیلی گونه‌های پشه خاکی بستگی دارد که در مناطق آلوده وجود دارند. عمده روشهای صید روش تله‌ای است که حیوانات به عنوان طعمه جهت تغذیه پشه‌های خون‌نخورده استفاده می‌شوند. روش دیگر جلب‌کننده هاست از قبیل تله نورانی یا گاز دی‌اکسید کربن هر چند صید پشه خاکی‌هایی از روی میزبان ترجیح داده می‌شود. تله‌هایی که دارای طعمه تک یاخته است، نسبتاً بیشتر از جلب‌کننده‌ها کاربرد دارند. اکثرگونه‌هایی که در یک منطقه خاص صید می‌شوند پشه‌های خون‌نخورده هستند که به دام می‌افتند بعلاوه تله‌های جلب‌کننده فقط در نواحی خاصی استفاده می‌شود و تعداد پشه‌ای که صید می‌کند کم است. تله‌گذاری در جاهای تاریک که محل استراحت پشه خاکپها است باعث صید بیشتر آنها شده و گونه‌های مختلفی را می‌توان صید کرد (۲).

تله‌های مانعی:

گذاشتن تله‌های مانع در محل فعالیت پشه خاکپها باعث برخورد آنها به این موانع شده و بدون آنکه خطایی در کار صورت بگیرد می‌توان آنها را جمع‌آوری کرد (۱۹). تله‌مالایز برای اولین بار توسط گرسیت^۱ در سال ۱۹۶۲ کشف شد و تونز^۲ در سال ۱۹۶۲ یک چوب که طول آن ۷ متر و عرض آن ۶/۳ متر بود استفاده کرد که یک نایلون مشکی به آن وصل شده بود و انتهای این پنل پهنایی به طول ۸/۱ متر داشت (۲).

۱- Gressitt

۲- Townes

پشه خاکیه‌ها یا بیشتر حشراتی که وارد این تله‌ها می‌شوند به سمت بالا انحراف پیدا می‌کند و در انتها داخل قیفی که به یک ظرف روشن از جنس پلاستیک یا شیشه وصل است وارد می‌شوند که معمولاً داخل شیشه تراکلرید کربن، استات اتیل یا سیانات پتاسیم دارد که حشره را می‌کشد تله‌های مانعی باعث می‌شوند که پشه خاکیه‌ها با برخورد به این موانع زمین‌گرایی منفی پیدا کرده و به سمت بالا حرکت کنند این تله‌ها بیشتر برای حشرات بزرگ مثل قاب بالان خوب است و برای دیگر حشرات ظریف مانند پشه خاکیه‌ها مناسب نیست و آنها را از بین می‌برد. در این تله‌ها باید پشه خاکیه‌ها را سریعاً از ظرف خارج کرد که توسط حشرات بزرگ از بین نروند مخصوصاً پشه خاکیه‌هایی که برای کار تاکسونومی لازم هستند. البته تعداد کمی از گونه‌های پشه خاکیه‌ها به این تله‌ها برخورد می‌کنند اگر چه آریاز^۱ و یانگ^۲ در سال ۱۹۹۴ در حدود ۳۵۰ پشه خاکی از ۲۰ گونه با این تله در آمازون و برزیل صید کرده است. این تله باید همه پشه خاکیه‌ها را صید کند اما بعضی از پشه خاکی‌ها که در فاصله زیادی از زمین پرواز می‌کند کمتر به این تله‌ها برخورد می‌کنند. یکی از مزیت‌های تله‌های نورانی این است که هر دو جنس پشه خاکی‌هایی که در تشخیص گونه‌های مهم پزشکی لازم هستند را صید می‌کند. از جمله *L. verrucaran*، یا *Helcocyrtomia* از *Lutzomya* پشه خاکی‌ها ظرفیت پرواز آنها محدود است البته استرلکوا^۳ و کروگلو^۴ در سال ۱۹۸۵ با علامت دار کردن این دو گونه دریافتند که تا ۴ کیلومتر هم این حشرات می‌توانند پرواز کنند. روبرت^۵ و کومار^۶ در سال ۱۹۹۴ و کوت^۷ در سال ۱۹۹۶ از تله تروئک^۸ برای جمع‌آوری فلبوتومینه استفاده کرد. در عربستان سعودی و جنوب آفریقا با این تله توانسته‌اند دو بالان خونخوار دیگر را در یک منطقه ای تحت شرایط محیطی در مدت کوتاهی صید کنند. تعداد حشرات جمع شده در یک دوره زمانی مشخص بیشتر از تله نورانی است و می‌توان تعداد زیادی از گونه‌های پشه خاکی را در مناطق خاص صید کرد (۱۹).

۱- Arias

۲- Young

۳ - Strelkova

۴- Kruglov

۵- Robert

۶- Kumar

۷- Quate

۸- Truek