فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۵۵، جلد۱۴، شماره ۴،پاییز ۱۴۰۰، صفحه۷۳ تا ۸۵
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

بررسی اثرات فیزیولوژیک و رفتاری ناشی از تغذیه لارو کنه آرگاس رفلکسوس بر روی موش سفید آزمایشگاهی

DOR:

فرید رضایی[۱]، مریم کریمی دهکردی[۲]، فروغ خاوران[۳]
۱-گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.f.rezaei@razi.ac.ir
۲-گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۳-دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست شناسی (گرایش فیزیولوژی جانوری)، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی،همدان.ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: آرگاس رفلکسوس یا کنه کبوتر کنه‌ای نرم از جنس آرگاس است. این کنه انگل خارجی طیور است که اغلب از خون کبوترها تغذیه می کند و یکی از مهم‌ترین اکتوپارازیت‌های کبوتر است که می‌تواند سلامت انسان‌ها را نیز به خطر بیاندازد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات فیزیولوژیک و رفتاری ناشی از تغذیه لارو کنه آرگاس رفلکسوس بر روی موش سفید آزمایشگاهی انجام شد.

روش کار: پس از جمع‌آوری کنه های آرگاس رفلکسوس و تولید آزمایشگاهی لارو آن ها، موش‌ها در سه تیمار به وسیله ی ۳۰، ۴۰ و ۵۰ لاروبه ترتیب آلوده شدند و در هر تیمار ۵ عدد از موش ها مورد درمان قرار گرفتند. علایم فیزیولوژیک ایجاد شده نظیر تغییرات وزن و دما، تغییرات رفتاری و علائم جلدی به صورت روزانه بررسی و ثبت شد.

یافته ها: نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که با افزایش تعداد لاروها جهت آلوده سازی موش‌های آزمایشگاهی شدت و حدت علائم نیز افزایش می‌یابد. هم چنین به نظر می‌رسد که علاوه بر تعداد لارو آلوده کننده هر چه مدت زمان تغذیه لاروها بر روی بدن حیوانات آزمایشگاهی طولانی‌تر باشد، شدت علائم بالینی و جلدی و پایداری آن ها نیز بیشتر خواهد بود.

نتیجه گیری: با توجه به تمام اطلاعات موجود باید به خطرات ناشی از حضور این کنه در پرندگان به عنوان میزبان اصلی این کنه و هم چنین در محل زندگی انسان‌ها توجه نمود و تدوین برنامه‌های کنترلی و پیشگیرانه علیه این کنه ضروری به نظر می‌رسد.

واژه های کلیدی: آرگاس رفلکسوس، لارو، فیزیولوژیک، موش آزمایشگاهی.

مقدمه

کنه‌ها انگل‌های اجباری و خون خوار مهره داران به ویژه پستانداران و پرندگان هستند(۲۳) که متعلق به رده آراکنیده و زیر رده آکاری می‌باشند(۱۵). گزش کنه از طریق صدمات فیزیکی و محتویات بزاق کنه باعث درماتوز می شود. علاوه بر این کنه‌ها بیشتر از سایر گروه-های بندپایان در انتقال انواع میکروارگانیسم ها نقش دارند و باعث نگرانی عمده در بهداشت عمومی شده اند (۳،۵). پاتوژن‌های منتقله از طریق کنه‌ها شامل باکتری‌ها، ریکتزیا، ویروس‌ها و تک یاخته‌ها در انسان و سایر حیوانات هستند(۳،۱۶). بسیاری از بیماری‌های مهم چون آنسفالیت‌های حاصل از کنه، لایم بورلیوزیس، تب‌های راجعه یا تب خال‌دار کوه‌های راکی که به وسیله کنه‌ها منتقل می شوند، در حیوانات اهلی و وحشی به عنوان مخزن وجود دارند و می‌تواند برای انسان نیز بیماری‌زا باشند. آلودگی شدید به کنه ها موجب از دست دادن خون، کاهش تولید، کاهش وزن و بی قراری میزبان می‌شود(۲۲،۲۳). کنه‌هایی که از نظر پزشکی و دامپزشکی حائز اهمیت هستند به دو خانواده مهم تقسیم می‌شوند: آرگازیده(کنه‌های نرم) و ایکسودیده(کنه‌های سخت)،

که هر دوی این خانواده‌ها نقش مهمی در ایجاد و انتقال بیماری‌های مختلف در انسان و حیوانات ایفا می‌کنند(۷،۱۴،۲۰،۲۱). درمیان بیش از ۸۰۰ گونه کنه‌ای که تاکنون از نقاط مختلف جهان توصیف شده است، حدود ۱۷۰ گونه جزو کنه‌های نرم(خانواده آرگازیده) هستند که تغذیه آن ها روی میزبان علاوه بر انتقال عوامل بیماری‌زا می‌توانند باعث ایجاد عوارض فیزیولوژیک و مسمومیت شود(۲۰،۲۲). فلجی کنه‌ای یک فرم مسمومیت کنه ای است که حدود ۲۴ گونه از کنه های آرگازیده در ارتباط با آن شناسایی شده اند که اغلب آن ها متعلق به جنس آرگاس هستند که در این فرم از آلودگی علائم عصبی محیطی نظیر بیماری گلین باره اتفاق می افتد و فلجی از اندام خلفی شروع شده و به سمت قدام پیشرفت می کند که در صورت عدم درمان ممکن است به علت فلجی عضلات تنفسی باعث مرگ شود(۲۱،۲۲). کنه های متعلق به جنس آرگاس اغلب شب‌ها فعالیت می‌کنند و انگل پرندگان، خفاش‌ها، خزندگان و گاه پستاندارن کوچک حشره خوار هستند. آرگاس رفلکسوس که کنه کبوتر نیز نامیده می‌شود، هنگام شب فعال است و در طول روز در شکاف ها و ترک‌های لانه کبوتر یا مواد داخل لانه مخفی می‌شود. این کنه‌ها باعث کم خونی کشنده می‌شود و هم چنین ناقل اسپیروکتوز ماکیان است(۸،۲۳). آرگاس رفلکسوس دارای عمر طولانی تا ۱۰ سال بوده در حالی که تغذیه از خون تنها یک بار یا دو بار در سال اتفاق می‌افتد. این کنه می‌تواند بدون غذا ۳ تا ۵ سال زنده بماند. قابلیت بقای آن ها براساس ویژگی‌های خاص آن ها که عبارتند از: متابولیسم پایین، پایین بودن میزان از دست دادن آب کل بدن، تهویه ناپیوسته و غیر مداوم، تشکیل اجتماعات پایدار در مناطقی مثل ترک‌های دیوار و شکاف‌های چوبی، مقاومت در مقابل درجه حرارت پایین و هم چنین گرما است(۱،۷،۱۰). این کنه در خاورمیانه و خاور نزدیک به اروپا و اکثر مناطق آسیا گسترش یافته است(۲۳). آرگاس رفلکسوس ممکن است بورلیا انسرینا را به طیور انتقال دهد(۱۹). گزش کنه کبوتر در انسان می‌تواند واکنش‌های التهابی موضعی و شوک آنافیلاکسی ایجاد کند و به‌علاوه می‌تواند سبب ایجاد آنمی هموراژیک، ضایعات پوستی و ضایعات شدید کلیوی و مغزی نیز شود(۷،۱۰،۱۷). این کنه مهم‌ترین اکتوپارازیتی است که سلامت کبوتر را به خطر می‌اندازد(۸). هر چند در برخی مطالعات واکنش‌های پاتولوژیک وابسته به گزش کنه آرگاس رفلکسوس مورد بررسی قرار گرفته است و هم چنین گزارشاتی راجع به اثرات ناشی از گزش این کنه در میزبان‌های نابجا و به ویژه انسان وجود دارد(۱،۸). ولیکن تا کنون مطالعه آزمایشگاهی در رابطه با اثرات فیزیولوژیک ناشی از گزش لارو این کنه در میزبان‌های نابجا انجام نگرفته است و بررسی این تاثیرات در موش آزمایشگاهی می‌تواند تا حدودی قابل تعمیم به دیگر میزبان های غیر اختصاصی از جمله انسان باشد. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات فیزیولوژیک و رفتاری ناشی از تغذیه لارو کنه آرگاس رفلکسوس بر روی موش سفید آزمایشگاهی انجام شد تا با شناخت بهتر از اثرات ناشی از این کنه بر میزبان غیر اختصاصی بر اهمیت مطالعه بیشتر روی این گروه از کنه‌ها تاکید شود.

مواد و روش‌ها

تهیه آرگاس رفلکسوس

با بررسی لانه کبوترها، کنه‌های بالغ در میان شکاف‌های لانه یا مواد موجود در آن جمع آوری گردید و پس از اطمینان از گونه مورد نظر پس از بررسی آزمایشگاهی در زیر لوپ و با استفاده از کلیدهای تشخیصی(۱۹)، در دسته‌های ۲۰ تایی داخل لوله آزمایش قرار داده شد. به منظور پناه گرفتن کنه‌ها، در داخل لوله‌های آزمایش نوارهای کاغذی قرار گرفت. سپس دهانه لوله آزمایش توسط باند گچی مسدود و برای تأمین اکسیژن مورد نیاز و رطوبت لازم از سر سوزن استفاده

گردید. برای ایجاد شرایط مناسب زندگی کنه ها(دمای ۲۷ درجه سانتی گراد و رطوبت ۹۰ درصد)، لوله‌های حاوی کنه با زاویه ۴۵ درجه بر روی ظرف حاوی آب قرار داده شدند. سپس ظرف مورد نظر در جعبه‌ای قرار داده شد که محیط تاریک مورد نیاز کنه‌ها را فراهم آورد. کنه ها جهت خون خواری به سمت بالای پای کبوترهای سالم(با حفاظ کیسه پارچه ای) انتقال داده شد(۷). پس از ۲ تا ۳ ساعت و اطمینان از خون خواری کنه‌ها، از یک سمت سر کیسه پارچه‌ای را باز گردید و کنه های جمع آوری شده و دوباره به لوله‌های آزمایش در دسته‌های ۲۰تایی انتقال داده شدند و در مکان مناسب قبلی قرار داده شدند. پس از ۱۰ روز تخم گذاری انجام گرفت. تخم‌ها در شرایط مناسب ایجاد شده(دمای ۲۷ درجه ی سانتی گراد و رطوبت نسبی ۹۰٪ و اکسیژن کافی) باز شده و لاروها خارج شدند. سپس لاروهای خارج شده از تخم توسط قلم موهای ظریف جدا شده و در لوله‌های آزمایش نگهداری گردید. لاروهای جدا شده تا زمان انتقال بر روی موش ها داخل لوله های آزمایش که درب آن ها با باند گچی و قرار دادن سر سرنگ(جهت اکسیژن رسانی) بسته شده بود داخل ظرف حاوی آب به شکلی که قسمت ته لوله ها داخل آب قرار گرفته بود تا رطوبت مورد نیاز تامین شود و در جای تاریک و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد(داخل انکوباتور) قرار داده شدند.

گروه‌های آزمایش

جهت انجام این مطالعه ۶۰ سر موش خالص سوری در محدوده سنی ۳ تا ۴ هفته و وزن(حدود ۲۰ گرم) و جنس مشابه(نر)، تهیه و در خانه حیوانات براساس شرایط نگهداری حیوانات آزمایشگاهی منتشر شده توسط، NIHدر قفس های تمیز، درجه حرارت – ۲۴ ۲۲درجه سلیسیوس، رطوبت نسبی ۴۰ –۵۰ درصد و ۱۲ساعت روشنایی ۱۲ساعت تاریکی نگهداری و با غذای پلت شده استاندارد و آب تغذیه شدند. پس از گذشت ۳ روز و تطابق حیوانات با محیط و شرایط جدید، سایر مراحل آزمایش برروی موش ها انجام گرفت. جهت انجام مطالعه، ۶ تیمار مورد استفاده قرار گرفت که در ۳ دسته تقسیم بندی شد و برای هر دسته یک گروه از ۵ موش با وزن و سن و جنس مشابه به عنوان کنترل انتخاب شد.

_در دسته اول: ۲ تیمار A1و B1 را قرار داده شد که هر موش توسط ۳۰ لارو کنه آلوده شد. در تیمار A1، ۵ موش توسط لارو کنه آرگاس رفلکسوس آلوده و در تیمار B1، ۱۰ موش آلوده شده که ۵ تای آن ها به وسیله‌ی محلول ۰/۱۴ درصد آمیتراز با مشاهده علایم اولیه آلودگی مورد درمان قرار گرفتند(۲۱)، هم چنین ۲ موش از گروه کنترل درمان شدند.

_در دسته دوم: ۲ تیمار A2 و B2 به ترتیب با ۵ و ۱۰ موش، که در هر موش ۴۰ لارو جهت آلوده سازی به کار رفت.

_در دسته سوم: ۲ تیمارA3، B3 به ترتیب با ۵ و ۱۰ موش، که آلوده سازی هر موش با ۵۰ لارو صورت گرفت(۲۱).

در مورد دسته های دوم و سوم، برای هر دسته دو موش از گروه کنترل توسط محلول آمیتراز ۰/۱۴ درصد مورد درمان قرار گرفت.

آلوده سازی موش‌ها به وسیله کنه آرگاس رفلکسوس

ابتدا موش‌ها را در رستریز قرار داده و مدت زمانی صرف عادت کردن موش ها به محیط جدید شد. نگهداری، آلوده سازی و درمان موش ها بر اساس مقررات مربوط به حقوق حیوانات انجام گرفت. قبل از آلوده ساختن موش ها دما و وزن آن ها اندازه گیری شد، سپس لاروها توسط قلم موهای ظریف به بدن موش‌ها هدایت شدند تا به بدن موش‌ها متصل شوند. بعد از اطمینان از اتصال لاروها، موش‌ها به قفس‌های خود بازگردانده شدند. پس از این که موش‌ها در هر تیمار به وسیله‌ی تعداد مورد نظر لارو کنه آرگاس رفلکسوس آلوده شدند، علایم

فیزیولوژیک ایجاد شده در آن‌ها مثل دما، وزن، علایم پوستی و تغییر رنگ چشم با شروع تغذیه لاروها تا هنگام جدا شدن از بدن موش‌ها و تا ۲۴۰ ساعت پس از آلودگی به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفت(۲۱) و اطلاعات به همراه زمان ایجاد علایم ثبت شد. ۲۰ روز پس از آلوده سازی اولیه موش‌ها با لارو کنه، تعداد ۵ موش زنده مانده از هر دسته‌ای که برروی آن‌ها درمانی صورت نگرفته بود، مجدداً با ۳۰ لارو کنه به شکل قبل آلوده شدند و در کنار آن‌ها یک گروه کنترل از موش‌هایی که قبلاً آلوده شده و یک گروه کنترل از موش‌های که آلوده نشده قرار گرفته و به مدت ۱۰ روز علایم حاصل مشابه قبل اندازه‌گیری و ثبت شد و وضعیت آن‌ها در آلودگی مجدد از نظر تشدید یا تخفیف علایم بررسی شد. هم چنین علاوه بر ثبت علایم فیزیولوژیک بدن موش‌ها از نظر اتصال لارو کنه مورد بررسی قرار گرفت تا زمان جدا شدن کامل لارو مشخص شود. تغییرات وزن و دمای موش های مورد مطالعه با آزمون مربع کای با درجه اطمینان ۹۵ درصد مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج

علائم بالینی و فیزیولوژیک

علائم بالینی و فیزیولوژیک در آلودگی اولیه

در تمام دسته‌های مورد آزمون، بدون توجه به تعداد لاروی که جهت آلوده‌سازی موش‌ها مورد استفاده قرار گرفته بود علائم اولیه بالینی ۴۸ ساعت پس از آلوده کردن شروع شد. قبل از آن تغییر خاصی که حاکی از بیماری یا اختلال در فعالیت موش‌ها باشد به چشم نخورد. تنها پس از این که موش‌ها از داخل محفظه‌های خود به داخل قفسه‌هایشان منتقل شدند تا چند ساعت پس از آن دارای تمایل زیادی به نوشیدن آب داشتند که در مقایسه با گروه‌های کنترل غیر عادی محسوب می‌شد، به طوری که در گروه کنترل متوسط هر سر موش ۱۴ میلی لیتر آب در روز مصرف می کرد ولی در موش های آلوده شده با لارو کنه این عدد به حدود ۱۹ میلی لیتر در روز رسید. این تمایل زیاد به نوشیدن آب نسبت به موش‌های آلوده نشده تا ۲۴ ساعت پس از آزمون نیز با میزان کمتری نسبت به ساعات اولیه آزمایش ادامه یافت و لیکن در روزهای بعدی از بین رفت وحتی با پیشرفت برخی ازعلائم بالینی گوشه گیری و میل کمتر به آب و غذا هم در موش‌های آلوده شده مشاهده شد. علائم بالینی که حاکی از ایجاد اختلال و تغییرات فیزیولوژیک در موش‌های آلوده با لارو کنه آرگاس رفلکسوس بود در تمام دسته‌ها از ۴۸ ساعت پس از آلودگی شکل گرفت که با توجه به نوع علائم در سه فرم طبقه بندی شد. فرم ۱ علائم تغییرات در وضعیت فعالیت طبیعی موش‌های آلوده بود. در این فرم حیوانات آلوده به دور هم جمع شده و فعالیت‌های طبیعی را نظیر موش‌های گروه کنترل نشان نمی‌دادند. هم چنین با تغییرات رفتاری چشم‌ها قدری بسته شده و در هر دو مخاطات چشمی و بینی علائمی از پر خونی مشاهده گردید. این فرم از نشانه‌های بالینی و تغییرات فیزیولوژیک ۴۸ ساعت پس از آلوده کردن موش‌ها در تمام دسته‌ها(۳۰لارو، ۴۰ لارو و ۵۰ لارو) مشاهده شد. در دسته آلوده شده با ۳۰ لارو هیچ کدام از موش‌ها تلف نشدند و ۵ موشی که با آمیتراز درمان شدند روند بهبودی را سریع‌تر نشان دادند. در بازرسی بدنی این موش‌ها پس از ۱۲۰ ساعت نتوانستیم هیچ لاروکنه متصل به پوست پیدا نشد. در این دسته موش‌هایی که مورد درمان با آمیتراز ۱۴/۰٪ قرار گرفتند و عاری از لارو کنه شدند روند بهبودی را سریع‌تر طی کرده وهمگی زنده ماندند. فرم ۲ علائم شامل نشانه‌های تنفسی بود. در این فرم نشانه‌های واضحی از سختی تنفس به شکل دل دل زدن و بی قراری مشاهده گردید. هم چنین علائم فرم ۱ تشدید شده و علاوه بر بسته شدن بیشتر چشم و پر خونی مخاطات، ترشحات بینی و چشمی نیز به علائم قبلی اضافه گردید، این فرم در دسته دوم که با ۴۰ لارو کنه آرگاس رفلکسوس آلوده شده بودند مشاهده شد و همگی موش‌ها تا پایان مطالعه تلف

شدند، اما موش‌های که با آمیتراز درمان شدند همگی زنده ماندند و علائم بهبودی نشان دادند. بررسی سطح بدن موش‌های تلف شده نشان داد که برخی ازلاروهای کنه به صورت اتصال یافته به پوست موش‌ها هنوز قابل رویت بودند. اگر چه موش‌های این دسته، هرگز فرم ۳ علائم را بروز ندادند ولیکن علائم تنفسی شدید و ترشحات چشمی و بینی در موش‌های تلف شده تا زمان مرگ وجود داشت. فرم ۳ علائم که با پیشرفت علائم تنفسی حاصل گردید، نشان دهنده یک درگیری عصبی به شکل اختلالات حرکتی نظیر عدم تعادل و لرزش آشکار گردید. علائم عصبی بعد از علائم شدید تنفسی ایجاد شد. تمام موش‌هایی که وارد این فاز از اختلالات شدند، تلف گردیدند. هیچ گونه علائمی از فلجی در موش‌های آلوده به چشم نخورد. جدول ۱ میزان مرگ و میر موش ها در تیمارهای مختلف را در طول مطالعه نشان می‌دهد. علائم فرم ۳ تنها در دسته‌هایی که با ۴۰ و۵۰ لارو کنه مورد آلودگی قرار گرفته بودند ظاهر شد. در بررسی‌های جلدی بلافاصله پس از مرگ در تمام موش‌های تلف شده حضور لاروهای کنه آرگاس رفلکسوس متصل به بدن مشهود بود ولیکن تعداد لاروها در موش‌هایی که با فاصله کمتری تلف شده بودند بیشتر بود. علائم بالینی و فیزیولوژیک در آلودگی مجدد

علائم جلدی

علائم جلدی در آلودگی اولیه

بررسی وضعیت ظاهری موش‌ها در تمام تیمارها از شروع آزمون تا پایان آن یا پس از مرگ موش‌های آلوده نشان داد که تغذیه نوزادهای کنه آرگاس رفلکسوس قادر به ایجاد علائم قابل رویت جلدی در موش‌های آلوده شده است. با توجه به زمان طولانی تغذیه لارو کنه های نرم، بررسی‌ها در ساعات اولیه پس از آلوده کردن موش‌ها تنها اتصال نوزادهای کنه را در نقاط مختلف بدن موش‌ها به ویژه در پوست ناحیه پشت نشان می‌داد و علائم پوستی از حدود ۲۴ ساعت پس از آلوده کردن موش‌ها شروع به تظاهر نمود. علائم اولیه پوستی که حاکی از التهاب مختصر پوست در محل اتصال نوزادها بود در روزدوم آلودگی تظاهر یافت و براساس تعداد کنه‌هایی که به منظورآلوده کردن موش‌ها استفاده شده بود تفاوت داشت، به طوری که تعداد لارو اتصال یافته به بدن نمایان گر شدت ضایعات بود. بنابراین بیشترین تعداد نقاط گزیدگی و التهاب‌های اطراف آن‌ها مربوط به گروهی بود که توسط ۵۰ لارو آلوده شده بودند. بررسی جلدی نشان دهنده افزایش ضایعات التهابی پوست تا زمان مرگ بود. در موش‌های آلوده‌ای که پس از نشان دادن علائم، درمان روی آن‌ها انجام نگرفت علائم جلدی با گذشت زمان تشدید شد. این علائم به شکل لکه‌های غیر برجسته صورتی رنگ کهیری شکل نمایان شد. لکه های کهیری به قطر حدود ۳ میلی متر در این حیوانات ظاهر شد و مساحت آن ها در موش های مختلف تفاوت معنی داری نداشت. این لکه‌های کهیری از ۱۹۲ ساعت پس از آلودگی شروع به برطرف شدن نموده و در پایان مطالعه(۲۴۰ ساعت پس از آلودگی) تا حدود زیادی محو شدند. علائم پوستی آلرژیک از ۱۲۰ ساعت پس از آلودگی شروع به تظاهر یافت و در موش‌های زنده مانده از ۲۱۶ ساعت پس ازآلودگی شروع به کاهش گذاشت و ۱۵ روز پس از آلودگی هم زمان با التیام نقاط التهابی پوست این علائم نیز تقریباً محوشدند.

علائم جلدی در آلودگی مجدد

در آلودگی مجدد علائم و نشانه‌های که حاکی از اثر کنه باشد مشاهده شد اما این علائم در مقایسه با آلودگی اولیه معنی‌دار نبود. موش‌ها پس از آلوده سازی علائم را به طور ملایم نسبت به آلودگی اولیه از خود نشان دادند در حالی که در گروه کنترل دیده نشد.

تغییرات وزن

تغییرات وزن در آلودگی اولیه

تغییرات در وزن موش‌ها تا ۱۰ روز پس ازآلودگی با فاصله هر ۲۴ ساعت ثبت گردیده و به تفکیک براساس

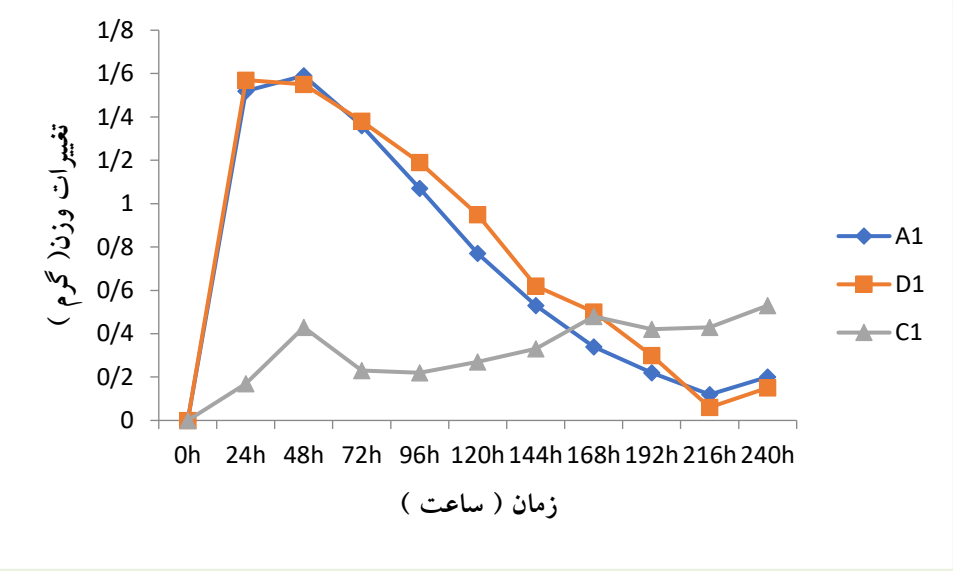
تیمارهای مختلف در نمودارهای ۳-۱ درج شده است. در موش‌هایی که به وسیله نوزاد کنه آرگاس رفلکسوس آلوده شده بودند تغییرات در وزن به شکل معنی‌داری ثبت گردید(نسبت به گروه‌های کنترل). عمده تغییرات وزن در ۲۴ ساعت اول پس از آلودگی مشخص گردید. در موش‌هایی که ۳۰ لارو جهت آلوده‌سازی هر کدام استفاده شده بود و تعدادی از گروه درمان نشده تا پایان آزمون زنده باقی ماندند که تغییرات وزنی آن‌ها با تیمار درمان شده با آمیتراز ۰/۱۴ درصد تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد. در موش‌های آلوده شده با ۳۰ لارو(A_1) افزایش ناگهانی وزن ۲۴ ساعت پس از آلوده شدن مشهود بود و پس از آن با کاهش تدریجی وزن مواجه شده به طوری که پس از گذشت ۱۹۲ ساعت از آلودگی وزن موش‌ها تقریباً به وزن اولیه خود رسید و کاهش وزن تا ۲۴۰ ساعت پس از آلودگی تدریجاً ادامه یافت، هر چند درموش‌های زنده تغییر وزن در پایان آزمون نسبت به وزن اولیه تفاوت معنی‌داری نداشت($P>0.05$). در دسته موش های آلوده شده با ۴۰ لارو کنه، هم افزایش ناگهانی و معنی‌دار وزن ۲۴ ساعت پس از آلودگی ثبت شد و سپس یک افزایش اندک و ولیکن غیر معنی‌دار تا ۷۲ ساعت در تمام موش‌های آلوده شده به چشم خورد و کاهش تدریجی وزن از ۹۶ ساعت پس از آلودگی ثبت گردید و تا گذشت ۱۹۲ الی ۲۱۶ ساعت از آلودگی وزن موش‌های زنده مانده به وزن اولیه خود کاهش یافت و این کاهش وزن تا پایان آزمون در موش‌های زنده ادامه یافت، هر چند در این زمان همانند دسته قبل تفاوت معنی‌داری در وزن اولیه و گروه کنترل نشان ندادند. در این تیمار در زمان زنده ماندن وزن موش‌ها به وزن اولیه تقلیل نیافت و تا زمان مرگ تفاوت معنی‌داری با وزن اولیه خود را داشتند. لذا ۴ موش از تیمار درمان شده با آمیتراز ۱۴/../٪ باقی ماندند که وزن آن‌ها در پایان آزمایش(۲۴۰ ساعت پس از آلوده سازی) به وزن اولیه خود تقلیل یافت. در موش‌هایی که ۵۰ لارو کنه جهت آلوده سازی آن ها استفاده شده بود، همانند دو دسته قبل افزایش ناگهانی و معنی‌دار وزن ۲۴ ساعت پس از آلوده سازی اتفاق افتاد ولیکن افزایش تدریجی وزن به شکل غیر طبیعی در موش‌هایی که تا ۹۶ ساعت پس از آلوده کردن زنده مانده بودند ادامه یافت و کاهش وزن تدریجی از ۱۲۰ ساعت پس از آلودگی در موش‌های زنده مانده شروع شد. تغییرات در وزن موش‌ها از زمان صفر تا ۱۰ روز پس ازآلودگی مجدد با فاصله هر ۲۴ ساعت ثبت گردید که در نمودار ۳ مورد نمایش داده شده است. در این دسته از موش‌ها اگر چه تفاوت‌هایی از نظر میزان افزایش وزن تا پایان آزمون وجود داشت اما این تغییرات در مقایسه با گروه کنترل و گروهی که با آمیتراز درمان شده بود معنی‌دار نبود($P>0.05$). در موش هایی که مجدد توسط ۳۰ لارو کنه آلوده شدند، تا پایان مطالعه(۲۴۰ ساعت) تغییرات معنی‌داری در افزایش یا کاهش وزن در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد. هم چنین در گروه موش هایی که قبلاً آلوده شده و با آمیتراز درمان شدن، تا پایان آزمون تغییرات معنی‌داری از نظر وزن نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. نمودار ۵ مقایسه تغییرات وزن موش‌ها با توجه به تعداد لارو کنه آرگاس رفلکسوس آلوده کننده در دسته‌های مختلف را نشان می‌دهد که اگر چه تفاوت‌های از نظر میزان افزایش وزن با تعداد لارو کنه استفاده شده جهت آلوده سازی مشهود بود ولیکن این تفاوت معنی‌دار نبود($P>0.05$).

تغییرات دما

هر چند در همه گروه های آلوده شده با لارو کنه و بدون درمان، تا پایان آزمایش تغییراتی در دمای بدن ثبت شد ولیکن این تغییرات در مقایسه با گروه کنترل(بدون آلودگی) و گروه درمان شده با آمیتراز معنی دار نبود($p>0.05$). هم چنین در آلودگی مجدد تغییرات دمای بدن موش ها در مقایسه با گروه های کنترل و درمان شده معنی دار نبود($p>0.05$).

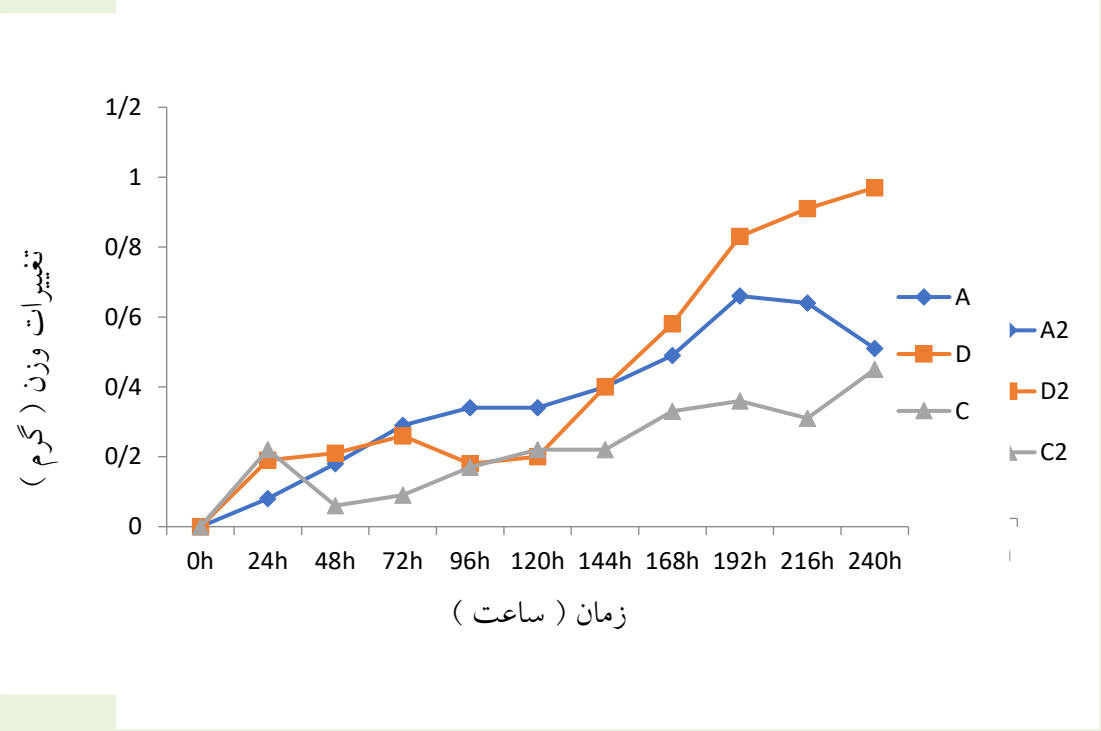
جدول ۱-میزان مرگ و میر موش‌های آلوده با لارو کنه آرگاس رفلکسوس در زمان‌های مختلف مطالعه

	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	۱۲۰ ساعت	۱۴۴ ساعت	۱۶۸ ساعت	۱۹۲ ساعت	۲۱۶ ساعت	۲۴۰ ساعت
دسته اول ۳۰ لارو									
موش های تلف شده						۱/۱۵	۳/۱۵	۶/۱۵	۶/۱۵
موش های زنده مانده									۹/۱۵
موش های زنده مانده پس از تیمار									۵
درمان									
دسته دوم ۴۰ لارو									
موش های تلف شده					۲/۱۵	۴/۱۵	۷/۱۵	۹/۱۵	۱۰/۱۵
موش های زنده مانده									۵
موش های زنده مانده پس از تیمار									۵
درمان									
دسته سوم ۵۰ لارو									
موش های تلف شده		۲/۱۵	۳/۱۵	۸/۱۵	۹/۱۵	۱۱/۱۵			۱۱/۱۵
موش های زنده مانده									۰/۱۵
موش های زنده مانده پس از تیمار									۴
درمان									



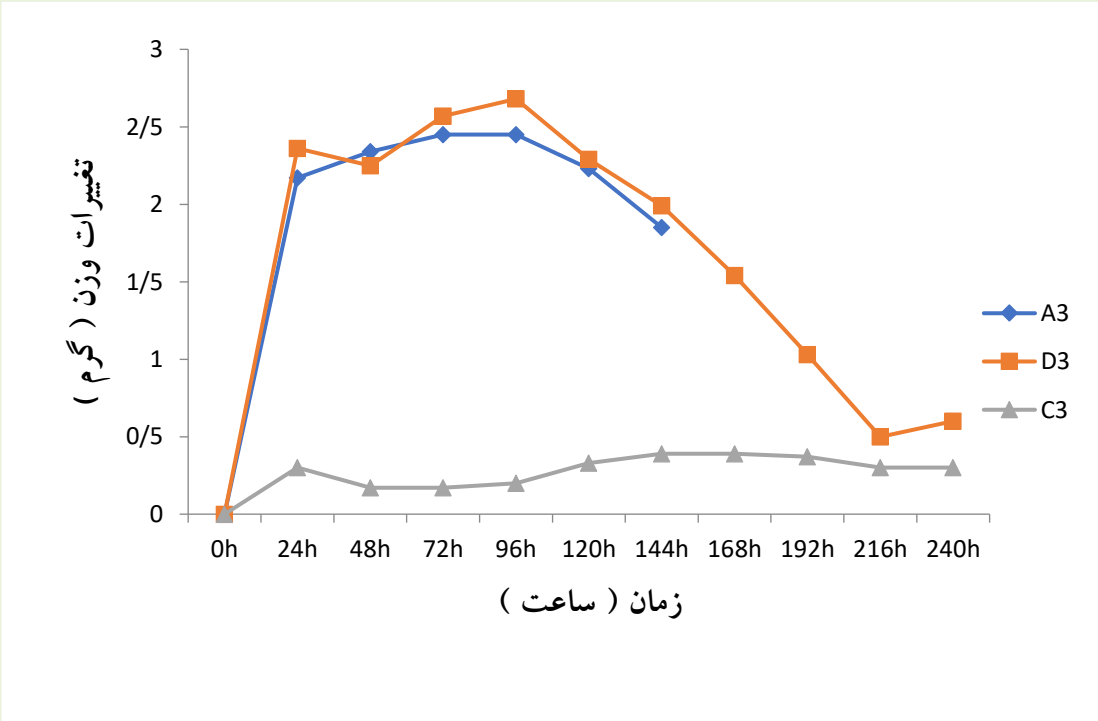
نمودار ۱- بررسی تغییرات وزن در آلودگی با ۳۰ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس*

A1 موش‌های که با ۳۰ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس* آلوده شدند، D1 موش‌های که پس از آلودگی با آمیتراز درمان شدند، C1 گروه کنترل



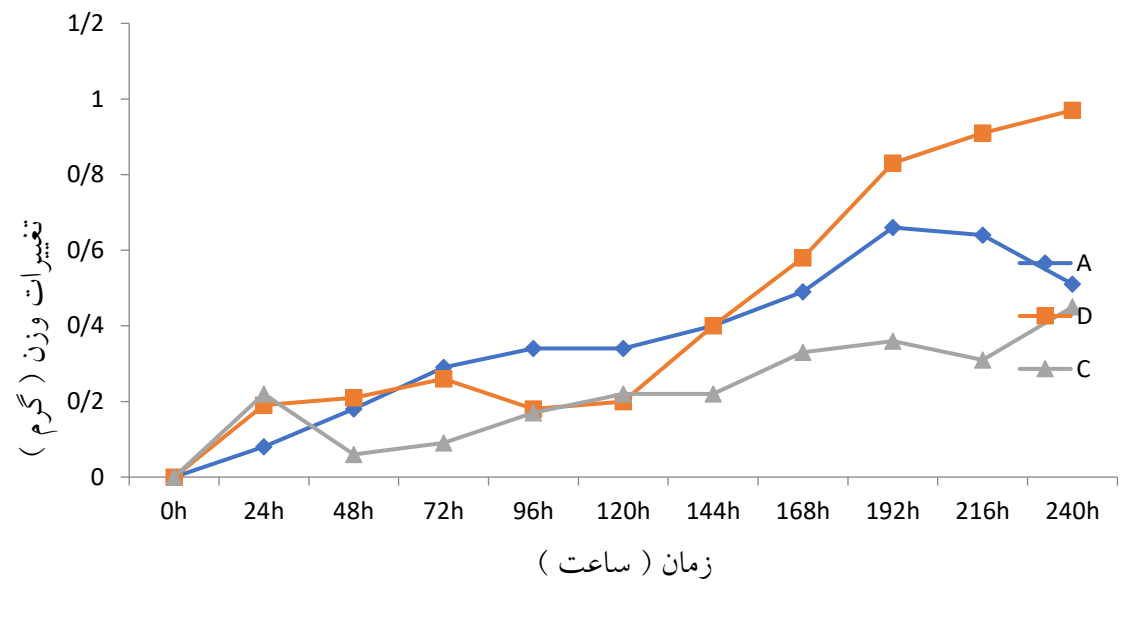
نمودار ۲-بررسی تغییرات وزن در آلودگی با ٤٠ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس*

A_2 موش‌هایی که با ۴۰ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس* آلوده شدند، D_2 موش‌هایی که پس ازآلودگی با آمیتراز درمان شدند، C_2 گروه کنترل



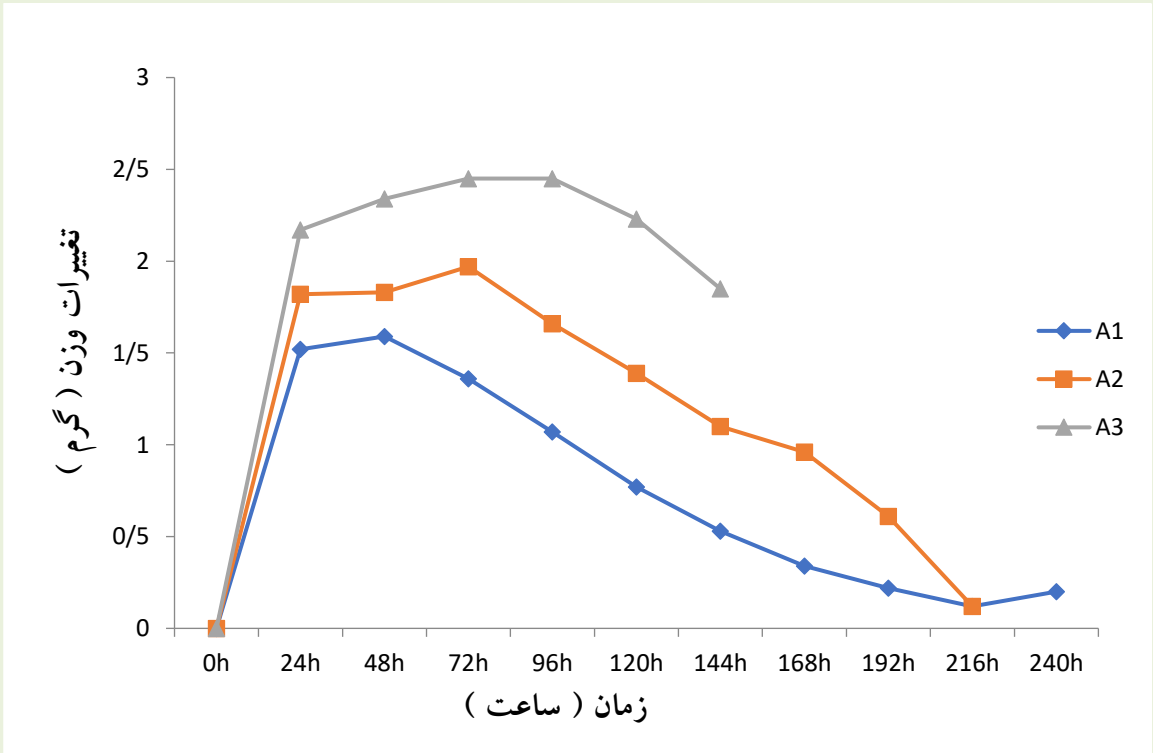
نمودار ۳-بررسی تغییرات وزن در آلودگی با ۵۰ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس*

A_3 موش‌هایی که با ۵۰ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس* آلوده شدند، D_3 موش‌هایی که پس از آلودگی با آمیتراز درمان شدند، C_3 گروه کنترل



نمودار ٤-بررسی تغییرات وزن در آلودگی مجدد با ۳۰ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس*

A آلودگی مجدد با ۳۰ لارو کنه *آرگاس رفلکسوس* در موش های زنده مانده از آلودگی اولیه، D موش‌های که قبلاً آلوده شده و با آمیتراز درمان شده بودند، C گروه کنترل



نمودار ٥-مقایسه تغییرات وزن در آلودگی با تعداد مختلف لارو کنه *آرگاس رفلکسوس*

A_1 موش‌های که با ۳۰ لارو *آرگاس رفلکسوس* آلوده شدند، A_2 موش‌های که با ۴۰ لارو *آرگاس رفلکسوس* آلوده شدند، A_3 موش‌های که با ۵۰ لارو *آرگاس رفلکسوس* آلوده شدند

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از حیوانات آزمایشگاهی به عنوان مدل آلوده سازی در کنه ها به دلیل نیاز کنه ها به خون خواری جهت تکامل رایج است. به غیر از مرحله تخم، بقیه مراحل تکاملی کنه ها نیازمند میزبان زنده جهت رشد و تکامل است و با آلوده سازی حیوانات آزمایشگاهی به مراحل مختلف تکاملی کنه ها می توان در مورد اثرات مختلف ناشی از گزش این بندپایان در میزبان های تجربی مطالعه کرد(۲). در مورد کنه آرگاس رفلکسوس، تاکنون مطالعات آزمایشگاهی در مورد اثرات فیزیولوژیک ناشی از گزش این کنه در حیوانات آزمایشگاهی منتشر نشده است و تحقیقات انجام گرفته اغلب بر روی مواردی از انسان هاست که به شکل اتفاقی توسط این کنه مورد حمله قرار گرفته اند و علائم بالینی که بشتر واکنش های ازدیاد حساسیت هست را نشان داده اند. لذا در مورد تاثیرات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و پاتولوژیک ناشی از گزش این کنه در مدل حیوان آزمایشگاهی اطلاعی در دست نیست. به همین منظور در تحقیق حاضر اثرات فیزیولوژیک لارو کنه آرگاس رفلکسوس روی موش‌های آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات نشان می‌دهد که آلرژن‌های آرگاس رفلکسوس به میزان کافی جهت القاء ازدیاد حساسیت قوی هستند و حتی در افرادی که فاقد یک تمایل فردی به ایجاد آلرژی باشند می توانند باعث این واکنش‌ها شوند(۸). در تحقیق حاضر که از لاروهای آرگاس رفلکسوس روی موش‌های آزمایشگاهی استفاده شد، که بروز واکنش‌های جلدی و هم چنین علائم تنفسی می‌تواند تا حدودی بیان گر واکنش‌های آلرژیک میزبان باشد. Hilger و همکاران(۲۰۰۵)، واکنش‌های آنافیلاکتیک ایجاد شده به وسیله گزش کنه آرگاس رفلکسوس را در چندین کشور اروپایی مورد بررسی قرار دادند. وجود علائم آلرژیک در افراد با توجه به یک تاریخچه از گزش کنه، ایجاد علائم در فصل فعالیت کنه‌ها(فصل گرم) و حضور کبوترها در مجاورت محل زندگی و حتی یافتن انگل در محل زندگی می‌تواند باعث ظن به آلرژی ناشی از گزش آرگاس رفلکسوس در افراد شود که تشخیص قطعی نیازمند آزمون‌های اختصاصی(تست SPT و IgE اختصاصی) است(۹،۱۰،۱۸). Klotz و همکاران(۲۰۰۹) واکنش‌های آلرژیک بر اثر گزش کنه آرگاس رفلکسوس را توصیف نمودند(۱۱). هم چنین Gholizadeh و همکاران(۲۰۱۵)، در آلودگی تجربی کبوتر با لارو کنه آرگاس رفلکسوس، علائمی نظیر ادم، پرخونی عروقی، نقاط خونریزی، نکروز و پاسخ های التهابی متوسط تا شدید پوستی در مقاطع آسیب شناسی مشاهده کردند(۷). Alipour-Teharany و Laffitte(۲۰۱۸)، گزارشی از وقوع درماتیت و پروریت همراه با آلرژی در فردی که با کنه آرگاس رفلکسوس مورد گزش واقع شده بود مشاهده کردند(۱). گزارشات دیگری در مورد تاثیرات مستقیم ناشی از گزش سایر کنه‌های نرم و سخت در حیوانات مختلف و انسان وجود دارد. اگر چه اهمیت اصلی کنه‌ها در انتقال اجرام بیماری‌زا به میزبان‌هایشان است. لذا برخی اثرات مستقیم ناشی از گزش کنه‌ها نظیر فلجی، مسمومیت، حساسیت‌های ناشی از گزش و تغییرات پاتولوژیک و فیزیولوژیک حاصله می‌تواند گاه از اهمیت بالاتری برخوردار باشد(۱۱). در آلودگی تجربی گاوهای مقاوم و حساس به کنه آمبلیوما و ریپی‌سفالوس مشخص شد که نواحی اتصال کنه دارای ضایعات التهابی حاد و در گاوهای با مقاومت بالا نشان دهنده ضایعات ازدیاد حساسیت تأخیری به همراه پوستول‌های داخل اپیدرمی و افزایش معنی‌دار مقدار گرانولوسیت‌ها بود(۱۳). در خرگوش‌هایی که قبلاً با این کنه‌ها تماس یافته بودند در گزش مجدد وزیکولی شدن اپیدرمی و حرکت معنی‌دار

ائوزینوفیل‌ها در نواحی تغذیه کنه ثبت شد(۱۲). در یک بررسی تجربی نشان داده شد که اتصال نوزاد کنه ایکسودس رسینوس به موش سفید آزمایشگاهی باعث تغییرات پاتولوژیک می‌شود. حضور مواد سیمانی در اطراف ضمائم دهانی کنه در اولین و دومین روز تغذیه و فقدان آن در آخرین روز این دوره مشخص شد(۶). در مطالعه‌ی Venzal و همکاران(۲۰۰۷) تاثیرات ایجاد شده ناشی از تغذیه لارو کنه اورنیتودروس پوئیتوریسنسیس را در موش سفید آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند(۲۱). در بررسی اخیر موش های آزمایشگاهی با افزایش تعداد لاروهای کنه آلوده کننده، علائم بالینی شدیدتری نشان دادند و درمان با آمیتراز باعث کاهش قابل توجه در بروز علائم بالینی داشت. در مطالعه حاضر نیز اثرات فیزیولوژیکی ناشی از تغذیه لارو کنه آرگاس رفلکسوس روی موش سفید آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که با افزایش تعداد لاروها جهت آلوده سازی موش‌های آزمایشگاهی شدت و حدت علائم نیز افزایش می‌یابد. از آن جایی که لارو کنه‌های نرم از جمله کنه آرگاس رفلکسوس جهت تغذیه زمان طولانی‌تری را تا چندین روز به میزبان متصل باقی می‌ماند لذا به نظر می‌رسد که با افزایش زمان تغذیه، عوامل حدت زای موجود در بزاق این کنه به میزان فراوان‌تری وارد بدن میزبان می‌شوند و منجر به پیشرفت علائم حاصله می‌شود. اگر چه تاکنون گزارشاتی از تأثیرات آلرژیک کنه آرگاس رفلکسوس ثبت شده است(۸)، لذا در مورد نوزاد این کنه و هم چنین تأثیرات بالینی و فیزیولوژیک ناشی از گزش مراحل مختلف این انگل در حیوانات آزمایشگاهی مطالعه ای انجام نشده است. در بررسی این فرضیه که سندرم ایجاد شده به صورت یک نتیجه مستقیم از تغذیه لاروها است و هیچ گونه عامل عفونت‌زایی در این امر دخیل نیست، یک پروتکل درمان با آمیتراز در مطالعه گنجانده شد. موش‌های درمان شده با آمیتراز در فاصله زمانی کوتاهی از نظر علائم بالینی بهبود یافتند که در نتیجه جدا شدن لاروهای نیمه خونخواری کرده بود و به نظر می‌رسد که تغذیه لاروها پاسخ گویی برای علائم بالینی ایجاد شده باشد. نظر به اینکه علائم ایجاد شده بر اثر گزش لارو کنه آرگاس رفلکسوس در موش سوری، می تواند در میزبان های غیر اصلی دیگر نظیر انسان نیز ایجاد شود و هم چنین ممکن است سایر مراحل تکاملی کنه نظیر نوچه‌ها و بالغین نیز چنین معضلاتی را در میزبان های خود القاء کنند، لذا اهمیت این کنه در بهداشت عمومی بیشتر آشکار می شود و می تواند توضیحی برای ایجاد برخی علائم بالینی شدید و حتی گاه مرگ در قربانیان انسانی کنه آرگاس رفکسوس باشد.

منابع

1.Alipour-Tehrany و Y., Laffitte, E. (2018). Argas reflexus dermatitis and nocturnal pruritus. IDCases, 14; e00456. 1-2/

2.Almazán, C., Bonnet, S., Cote, M., Slovák, M., Park, Y., Šimo, L. (2018). A versatile model of hard tick infestation on lLaboratory rabbits. Journal of Visualized Experiments, 140; 1-7.

3.Bonnet. S., Liu, X. (2012). Laboratory artificial infection of hard ticks: a tool for the analysis of tick-borne pathogen transmission. Acarologia, 52(4); 453-464.

4.Dautel و H., Knülle, W. (1998). Seasonal oviposition and temperature requirements of eggs may limit northern distribution of European Argas reflexus (Acari: Argasidae). Journal of Medical Entomology, 35(1); 26-37.

5.Estrada-Peña, A., Jongejan, F. (1999). Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. Experimental and applied acarology, 23(9);685-715.

6.Fisher, E. J., Mo, J., Lucky, A.W. (2006). Multiple pruritic papules from lone star tick larvae bites. Archives of Dermatology, (4); 491-4.

7.Gholizadeh, M., Tavassoli, M., Rezaei, F., Nikousefat, Z. (2015). Evaluation of

histopathological features of Argas reflexus bite in pigeon. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, 6(2); 29-41.
8.Haag-Wackernagel, D., Bircher, A.J. (2010). Ectoparasites from feral pigeons affecting humans. Dermatology, 220(1); 82-92.
9.Hilger, C., Bessot, J.C., Hutt,N., Grigioni, F., de Blay, F., Pauli. G., Hentges. F. (2005). IgE-mediated anaphylaxis caused by bites of the pigeon tick Argas reflexus: cloning and expression of the major allergen Arg r 1. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 115(3): 617-622.
10. Kleine-Tebbe, J., Heinatz, A., Gräser, I., Dautel, H., Hansen, G.N., Kespohl, S. (2006). Bites of the *European pigeon* tick (*Argas reflexus*): Risk of IgE-mediated sensitizations and anaphylactic reactions. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 117(1); 190-195.
11. Klotz, J. H., Klotz, S. A., Pinnas, J.L. (2009). Animal bites and stings with anaphylactic potential. Journal of Emergency Medicine, 36; 148-156.
12. Latif, A. A., Maina, J. N., Dhadialla, T.S, Nook. S. (1990). Histological reactions to bites of *Amblyomma variagatum* and *Rhipicephalus appendiculatus* (Acari: Ixodidae) fed simultaneously on naive or sensitized rabbits. Journal of Medical Entomology, 27(3); 316-323.
13. Latif, A. A., Punyua, D. K., Capstick, P. B., Nokoe, S., Walker, A. R., Fletcher, J. D. (1991). Histopathology of attachment sites of *Amblyomma variegatum* and *Rhipicephalus appendiculatus* on zebu cattle of varying resistance to ticks. Veterinary Parasitology, 38(2-3); 205-213.
14. Mans, B. J., Andersen, J. F., Schwan, T. G, Ribeiro, J.M. (2008). Characterization of anti-hemostatic factors in the argasid, *Argas monolakensis*: implications for the evolution of blood-feeding in the soft tick family. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 38(1); 22-41.
15. Masina,S., Broady, K.W. (1999). Tick paralysis: development of a vaccine. International Journal for Parasitology, 29(4); 535-41.
16. McGinley-Smith, D. E., Tsao, S. S. (2003). Dermatoses from ticks. Journal of the American Academy of Dermatology, 49(3); 363-392.
17. Mohi El-Din, M. M. (2010). Pathological studies on naturally *Argas reflexus*-infected squabs. Minufiya Vet, 7(1); 175-182.
18. Sirianni, M. C., Mattiacci, G., Barbone,B., Mari, A., Aiuti, F., Kleine-Tebbe, J. (2000). Anaphylaxis after *Argas reflexus* bite. Allergy (Copenhagen), 55(3); 303-307.
19. Soulsby, E. J. L. (2012). Helminths Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals, 19Th ed. EWP. Pp; 321-368.
20. Tavssoli, E., Zare, S., Ghaderi, P. F., Tehrani, A. A., Tavassoli, M. (2007). Histopathological features of *Ornithodoros lahorensis* bite on rat. Iranian Journal of Parasittology, 2 (4); 17-24.
21. Venzal, J. M., Estrada-Peña, A., de Luco. D. F. (2007). Effects produced by the feeding of larvae of *Ornithodoros aff*. puertoricensis (Acari: Argasidae) on laboratory mice. Experimental and Applied Acarology, 42(3);217-23.
22. Vial, L. (2009). Biological and ecological characteristics of soft ticks (*Ixodida: argasidae*) and their impact for predicting tick and associated disease distribution. Parasite, 16(3); 191-202.
23. Wall, R., Shearer, D. (1997). Veterinary entomology, 1th Chapman and Hall International Thompson Publisher Co. London. Pp;96-149..

Physiological and Behavioral Effects of Feeding of *Argas reflexus* Larvae in Laboratory Mice

F. Rezaei [1], M. Karimi-Dehkordi [2], F. Khavaran [3]

1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran.
f.rezaei@razi.ac.ir

2.Department of clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3.MSc graduet of Biology, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Iran**.**

Received:2021.13. 4 **Accepted: 2021.7.10**

Abstract

Inroduction & Objective: ***Argas reflexus*** **or pigeon tick is a soft tick of Argas genus. This tick is an external parasite of poultry that often feeds on pigeon blood and is one of the most important pigeon ectoparasites that can endanger human health. The aim of this study was to investigate the physiological and behavioral effects of feeding** ***Argas reflexus*** **larvae on mice.**

Material and Method: After collecting the ***Argas reflexus*** **ticks and in vitro production of their larvae, mice were infected with 30, 40 and 50 larvae in three treatments, respectively, and 5 mice were treated in each treatment. Then, Physiological symptoms such as changes in weight and temperature, behavioral changes and skin symptoms were monitored and recorded daily.**

Results: The results of this study show with increasing the number of larvae in infected mice, the severity of symptoms also increase. It also seems that in addition to the number of larvae, the longer feeding of larvae from the body of laboratory animals, the greater the severity of clinical and cutaneous symptoms and their stability.

Conclusion: According to the results, it is necessary to pay attention to the dangers of the presence of this tick in birds as the main host of this tick and also in the habitat of humans and to develop control and preventive programs against this tick.

Keywords: *Argas reflexus*, Larvae, Physiologic, Mice.

.