[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

کارایی روش مولکولی در تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت مالاریا در راستای اجرای برنامه حذف مالاریا در استان هرمزگان

حبیب اله ترکی [۱] زینب حسینی [۲] مریم سارانی [۱] ایمان قاسم‌زاده [۳] امین قنبر نژاد [۴]
نازنین پورنصراله سرایی [۵] گلثوم رشید [۱*]

۱. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.
ORCID: 0000-0002-4888-7144
۲. گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۳. مرکز تحقیقات مراقبت اچ‌آی وی و عفونت‌های آمیزشی، مرکز همکار سازمان جهانی بهداشت، پژوهشکده آینده‌پژوهی در سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
۴. گروه بهداشت عمومی، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی در ارتقاء سلامت، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۵. مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

چکیده

هدف: برنامه حذف مالاریا با حمایت فنی سازمان بهداشت جهانی از سال ۱۳۸۹ در ایران آغازشده است. به‌منظور دستیابی به حذف مالاریا، بایستی همه موارد مثبت به‌خصوص موارد بدون علامت و کم انگل تشخیص داده‌شده و به‌موقع درمان شوند، هدف اصلی این مطالعه تعیین کارآیی روش مولکولی در تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت مالاریا در راستای اجرا موفق برنامه حذف مالاریا در ایران است.

روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، ۲۱۰ نمونه به‌طور تصادفی از ساکنین مناطق پرخطر مالاریا استان هرمزگان جمع‌آوری شد. میزان عفونت بدون علامت پلاسمودیوم با استفاده از تکنیک‌های میکروسکوپی، Rapid Diagnostic Test و Nested-PCR (با استفاده از 18ssrRNA) تعیین گردید.

نتایج: با توجه به نتایج روش‌های میکروسکوپی و RDT هیچ مورد بدون علامتی در بین افراد موردمطالعه مشاهده نشد اما با استفاده از روش مولکولی سه مورد مثبت (۱/۴ درصد) تشخیص داده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که حساسیت روش‌های مولکولی در تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت بیشتر از سایر روش‌های تشخیصی مالاریا است و Nested-PCR تکنیک مناسبی برای تشخیص موارد بدون علامت مالاریا است، لذا استفاده از روش حساس مولکولی هم‌زمان با روش‌های میکروسکوپی و RDT به منظور تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت مالاریا لازم و ضروری است.

کلیدواژه‌ها: مالاریا، تشخیص، ذخایر انگلی.

نوع مقاله: پژوهشی

دریافت مقاله: ۹۸/۱۱/۰۳ پذیرش مقاله: ۹۸/۰۸/۲۶

ارجاع: ترکی حبیب اله، حسینی زینب، سارانی مریم، قاسم‌زاده ایمان، قنبر نژاد امین، نازنین پور نصر اله سرایی، رشید گلثوم. کار آیی روش مولکولی در تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت مالاریا در راستای اجرای برنامه حذف مالاریا در استان هرمزگان. طب پیشگیری. ۱۳۹۸؛ ۶(۲):۴۲-۳۴.

مقدمه

مالاریا مهم‌ترین بیماری عفونی خونی و یکی از هشت بیماری گرمسیری مطرح‌شده در برنامه‌های سازمان بهداشت جهانی است (۱). علیرغم کاهش موارد مالاریا طی چند دهه، این بیماری معضل مهم بهداشتی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا است (۲،۳). بیش از ۴۰ درصد جمعیت جهان را تهدید می‌کند، ۹۱ کشور در دنیا درگیر مالاریا هستند (۴)، طبق آمار ارائه‌شده سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۷، ۲۱۹ میلیون نفر را مبتلا و ۴۳۵ هزار مرگ گزارش شده است (۵). در ایران بیماری مالاریا از دیرباز از مشکلات مهم بهداشتی و درمانی بوده و موجب زیان‌های اقتصادی و اجتماعی فراوانی شده است (۸-۶).

تأثیر مالاریا بر بهداشت عمومی و مؤلفه‌های ارتقاء سلامت باعث شده است که این بیماری در کانون توجه سازمان‌های

نویسنده مسئول: گلثوم رشید، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سالمت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
تلفن: ۷۶۳۳۳۳۶۲۰۲ ۹۸+ پست الکترونیکی: golirashid3@gmail.com Orcid: 0000000179210788

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

بین‌المللی قرارگرفته و درنهایت برنامه‌ریزی جامع برای کنترل، حذف و ریشه‌کنی مالاریا را تصویب کنند (۴). به دنبال اجرای دقیق برنامه‌ی کنترل مالاریا و کاهش معنی‌دار موارد مثبت، برنامه حذف مالاریا با حمایت فنی سازمان بهداشت جهانی از سال ۱۳۸۹ در ایران آغازشده است و در حال حاضر برنامه حذف مالاریا در ایران، در حال اجرا است (۹).

حذف بیماری مالاریا از اهداف مشترک سازمان جهانی بهداشت و نظام سلامت در ایران است (۱۰). هدف نهایی برنامه حذف مالاریا قطع انتقال محلی مالاریا است، یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های برنامه حذف مالاریا، موارد کم انگل و بدون علامت است که به روش‌های روتین تشخیص مالاریا (میکروسکوپی و RDT) قابل‌شناسایی نیستند و به‌عنوان ذخایر انگلی بدون علامت در جامعه عمل می‌کنند (۱۱،۱۲). مطالعات فراوان در کشورهای مختلف نشان داده‌اند که افراد بدون علامت، حامل گامتوسیت بوده و به‌عنوان منابع آلوده‌کننده مداوم پشه آنوفل و برقراری چرخه انتقال بیماری می‌باشند، لذا شناسایی و درمان این افراد در راستای اجرای موفق برنامه‌های حذف مالاریا بسیار مهم و حیاتی هست (۲،۱۳).

اولین گام در برنامه‌ریزی جهت کنترل و حذف بیماری مالاریا، شناسایی تمامی موارد مثبت و درمان به‌موقع آن به‌خصوص موارد کم انگل و بدون علامت است که ضرورت آن انتخاب یک روش مناسب و کارآمد تشخیصی است (۳،۱۲).

مطالعه میکروسکوپی گسترش رنگ‌آمیزی شده خون محیطی به‌عنوان روش استاندارد برای تشخیص مالاریا است، اما این روش اگرچه ساده، اختصاصی و کم‌هزینه می‌باشد، اما در تشخیص موارد کم انگل، عفونت توأم و ذخایر انگلی بدون علامت، به‌اندازه کافی حساس و مؤثر نمی‌باشد (۳). در سال‌های اخیر روش‌های سریع از جمله Dipstick در تشخیص مالاریا استفاده‌شده است که تحقیقات نشان داده شناسایی موارد بدون علامت و کم انگل با کمک روش RDT به‌سادگی امکان‌پذیر نمی‌باشد (۱۴،۱۵)، لذا برای تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت، استفاده از روشی با حساسیت و ویژگی بالا نظیر تکنیک‌های مولکولی که ابزاری قدرتمند و بسیار مفید برای تشخیص عاملین بدون علامت و موارد کم انگل می‌باشد و همچنین حساسیت بیشتری نسبت به روش‌های قبلی دارد، امری ضروری است (۳،۱۶،۱۷).

هدف اصلی این مطالعه استفاده از روش‌های مولکولی Nested-PCR، میکروسکوپی و RDT به منظور کشف ذخایر انگلی بدون علامت مالاریا در شهرستان بندرعباس است. نتایج حاصل از این پژوهش ضمن فراهم آوردن اطلاعات‌پایه‌ای از وضعیت مالاریای بدون علامت، کمک زیادی به اجرای موفق برنامه حذف مالاریا در استان هرمزگان خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی- تحلیلی به صورت مقطعی در شهرستان بندرعباس به منظور بررسی کارایی روش مولکولی در تشخیص موارد بدون علامت و کم انگل مالاریا انجام گرفت، جامعه آماری شامل ساکنین بومی در بخش هایی از شهرستان بندرعباس که سابقه انتقال مالاریا وجود داشته است همچنین اتباع بیگانه ساکن درشهرستان بندرعباس است.

در این مطالعه تعداد نمونه مطابق با فرمول کوکران محاسبه گردید و به منظور افزایش دقت حجم نمونه ۲۱۰ نفر تعیین شد که به صورت تصادفی از سطح شهرستان بندرعباس انتخاب شدند.

$$n = \frac{z^2pq}{d^2} = \frac{(1.96)^2 \times (0.15) \times (0.85)}{(0.05)^2} \approx 196$$

n= حجم نمونه

z= مقدار متغییر نرمال با سطح اطمینان ۹۵ درصد

p= احتمال موفقیت

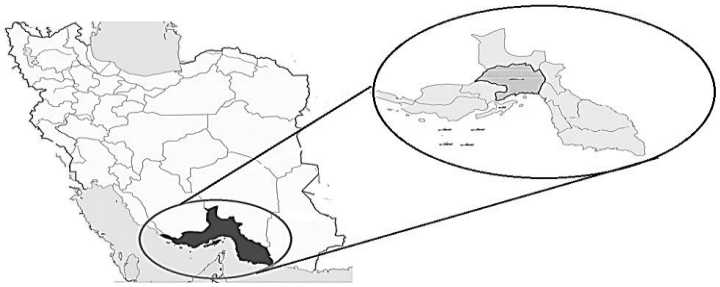
q= احتمال شکست

d= دقت مطالعه

شهرستان بندرعباس در شمال تنگه هرمز قرار دارد. وسعت آن ۲۷۳۱۶ کیلومترمربع است به استناد سرشماری سال ۱۳۹۵ شهر بندرعباس ۶۸۰۳۶۶ نفر جمعیت دارد (شکل ۱). برای انجام طرح با هماهنگی مرکز بهداشت استان هرمزگان، همچنین بر اساس اهداف مطالعه و بررسی خصوصیات جمعیتی و

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

اکولوژی، شهر بندرعباس به عنوان محل نمونه‌گیری انتخاب شد. در ابتدا توضیح کامل در مورد طرح و مراحل انجام آن داده شد و به منظورتکمیل پرسش نامه، رضایت آگاهانه کلیه افراد قبل از شرکت در مطالعه، ضمن تشریح روند کامل تحقیق توسط پرسشگر اطلاعات دموگرافیک افراد شامل نام و نام خانوادگی، سن و جنس، شغل، سابقه ابتلا و سابقه سفر، در فرم مخصوص ثبت گردید.



شکل ۱- نقشه منطقه موردمطالعه، استان هرمزگان، شهرستان بندرعباس

سپس افراد از لحاظ وجود و یا عدم وجود علائم کلینیکی (اختصاصی یا غیراختصاصی) ارزیابی و نتایج در فرم‌های مربوطه ثبت گردید، از هر شرکت‌کننده ۲ سی‌سی خون گرفته شد و در لوله‌های استریل حاوی ۵۰ میکرولیتر EDTA نیم مولار جهت انجام تست‌های PCR جمع‌آوری شد.

گسترش نازک و ضخیم خون، جهت تشخیص میکروسکوپی مالاریا تهیه و به‌طور همزمان تست تشخیص سریع (RDT) با استفاده از کیت (Premier Medical Corporation Ltd. Mumbai, India). انجام شد.

گسترش تهیه شده خون محیطی به آزمایشگاه دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بندرعباس منتقل شد و بر مبنای دستورالعمل استاندارد سازمان جهانی بهداشت با متانول فیکس و به روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد (۱۸) و سپس بررسی میکروسکوپی انجام گرفت.

در این پژوهش به دلیل مطالعه موارد کم انگل، حدوداً ۴۵ دقیقه گسترش نازک و ۲۰۰ میدان در گسترش ضخیم موردبررسی قرار گرفت.

تمامی افراد شرکت‌کننده در مطالعه، همزمان با نمونه‌گیری با استفاده از کیت RDT موردبررسی قرار گرفتند. اساس این روش بر پایه ایمنوکروماتوگرافی و تهیه و ثابت کردن منوکلونال آنتی‌بادی علیه یکی از آنتی‌ژن‌های مالاریا بر روی نوارهای نیترو سلولز می‌باشد. آنتی‌ژن‌های هدف برای pLDH RDTs, HRP-2 و آلدولاز پلاسمودیوم هستند (۱۹). یک قطره کوچک و منفرد از خون را با استفاده از پیپت یک‌بارمصرف برداشته و در حفره مخصوص نمونه، روی نوار تست قرار می‌دهیم. سپس دو قطره بافر موردنظر را در حفره مخصوص بافر ریخته و نوار را در یک سطح صاف قرار می‌دهیم. بعد از ۲۰ دقیقه نتیجه را گزارش می‌کنیم کیت مورد نظر دارای سه باند بوده که باند اول برای کنترل و دو باند دیگر در صورتی‌رنگی شدن نشان‌دهنده‌ی وجود انگل است. تغییر رنگ باند کنترل نشان‌دهنده اعتبار تست می‌باشد.

پس از استخراج DNA انگل با استفاده از روش مولکولی Nested PCR که حساسیت بالای در تشخیص موارد کم انگل و بدون علامت دارد، در مرحله اول تشخیص جنس و در مرحله دوم تشخیص گونه‌های پلاسمودیوم‌های ویواکس و فالسیپاروم در نمونه های مورد مطالعه صورت گرفت (۲۰).

استخراج DNA به‌منظور جدا کردن و حذف چربی‌ها، پروتئین‌ها و املاح اضافه از نمونه می‌باشد. در این مطالعه جهت دستیابی به DNA با درجه خلوص بالا و عاری از هرگونه ممانعت کننده در واکنش PCR از کیت Genomic DNA (Blood/Culture Cell Mini kit) ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما ایران استفاده گردید.

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

در Nested PCR-1، پس از افزودن ۲ میکرولیتر DNA الگو مخصوص هر نمونه به سایر اجزای واکنش و همچنین با استفاده از پرایمر ویژه تعیین جنس پلاسمودیوم (۱۲۰۰ bp) مخلوط واکنش در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر تهیه و در دستگاه PCR (ترموسایکلر) قرار گرفته و با دادن برنامه مناسب به دستگاه، PCR انجام گرفت.

در Nested PCR-2، محصول مرحله اول به عنوان DNA الگو و از پرایمر اختصاصی گونه برای تعیین گونه‌های پلاسمودیوم ویواکس (۱۲۰ bp) و پلاسمودیوم فالسیپاروم (bp ۲۰۵) مورد استفاده قرار گرفت. هر مرحله ۲۵–۳۰ سیکل تکرار شده و دمای Annealing برای هر دو مرحله ۷۲ درجه سانتیگراد تعیین شد.

در نهایت محصول مرحله دوم PCR، در ژل آگارز ۲ درصد و در حضور شاخص مولکولی به اندازه ۱۰۰ جفت باز مورد بررسی قرار گرفت و و از ژل نیز توسط سیستم عکس‌برداری دیجیتالی برای گزارش نهایی نتایج عکس گرفته شد.

پس از بررسی دقیق تمامی نمونه‌ها، با استفاده از روش میکروسکوپی و RDT هیچ مورد مثبتی یافت نشد، اما به روش مولکولی، سه مورد مثبت تشخیص داده شد؛ که دو مورد پلاسمودیوم ویواکس و یک مورد پلاسمودیوم فالسیپاروم بود (جدول ۳ و ۲).

جدول ۲– جدول فراوانی موارد مثبت مالاریای بدون علامت برحسب روش تشخیص

روش	میکروسکوپی		RDT		مولکولی	
وضعیت	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی
تعداد	۰	۲۱۰	۰	۲۱۰	۳	۲۰۷
درصد	۰	۱۰۰	۰	۱۰۰	۱/۴	۹۸/۶
کل	۲۱۰(٪۱۰۰)					

جدول ۳– جدول فراوانی موارد مثبت مالاریای بدون علامت برحسب گونه

گونه	پلاسمودیوم ویواکس		پلاسمودیوم فالسیپاروم	
وضعیت	مثبت	منفی	مثبت	منفی
تعداد	۲	۲۰۸	۱	۲۰۹
درصد	۰/۹۵	۹۹/۰۵	۰/۴۷	۹۹/۵۳
کل	۲۱۰ (٪۱۰۰)			

کنترل مثبت، DNA های استخراج‌شده از خون افراد مبتلابه مالاریا بود که مثبت بودن آن به روش میکروسکوپی به اثبات رسیده بود. کنترل منفی، DNA های استخراج‌شده از خون افراد سالمی بود که قبلاً به مالاریا مبتلا نشده بودند و سابقه سفر به مناطق آندمیک مالاریا را نیز نداشتند.

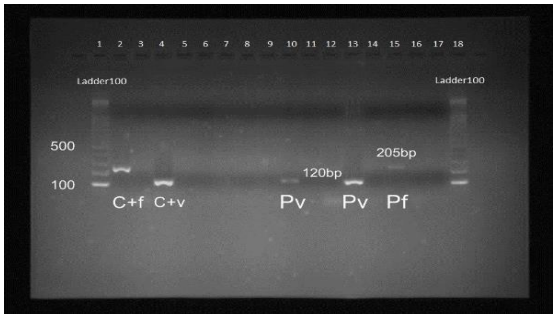
یافته‌ها

تعداد افراد شرکت‌کننده در مطالعه ۲۱۰ نفر بودند که ۱۷/۶ درصد افراد تحت مطالعه مؤنث و ۸۲/۴ درصد مذکر بودند. دامنه سنی افراد بین ۴ تا ۶۵ سال و میانگین سن آن‌ها ۲۴/۰۴۷ بود (جدول ۱).

جدول ۱– فراوانی افراد بدون علامت مالاریا به تفکیک سن، جنس

متغیر	گروه سنی (سال)				جنس	
گروه	۱۵>	۱۵–۳۰	۴۵–۳۰	۴۵<	مذکر	مؤنث
تعداد	۲۵	۱۴۴	۳۳	۸	۱۷۳	۳۷
درصد ٪	۱۱/۹	۶۸/۶	۱۵/۷	۳/۸	۸۲/۴	۱۷/۶
کل	۲۱۰(٪۱۰۰)					

به‌منظور اطمینان از صحت نتایج مولکولی در هر سری آزمایش همراه با نمونه‌ها از کنترل مثبت و منفی نیز استفاده شد (شکل ۲).



شکل ۲– ژل الکتروفورز محصولات NESTED-PCR (ستون ۱ و ۱۸ Ladder، ستون‌های ۲ و ۴ به ترتیب کنترل مثبت پلاسمودیوم‌های فالسیپاروم و ویواکس، ستون‌های ۱۰ و ۱۳ نمونه های مثبت پلاسمودیوم ویواکس، ستون ۱۵ نمونه مثبت پلاسمودیوم فالسیپاروم

بحث و نتیجه‌گیری

بیماریابی، تشخیص تمامی موارد مثبت و درمان به‌موقع از استراتژی‌های مهم برنامه حذف مالاریا است، در این راستا

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

مهم‌ترین چالش، تشخیص موارد بدون علامت و کم انگل مالاریا است (۱۰،۱۳)، این افراد به دلیل عدم بروز علائم کلینیکی و پایین بودن میزان انگل، با استفاده از روش‌های روتین تشخیص مالاریا قابل‌شناسایی نیستند (۲،۲۱) در این مطالعه به‌منظور افزایش دقت و صحت نتایج، همزمان از سه روش میکروسکوپی، سرولوژی و مولکولی استفاده گردید، روش میکروسکوپی به‌عنوان روش استاندارد تشخیص مالاریا، روش سرولوژی RDT به‌عنوان یک روش تکمیلی و کمک‌کننده و تکنیک مولکولی Nested-PCR به‌عنوان یک روش با حساسیت و اختصاصیت بالا که می‌تواند موارد کم انگل را تشخیص دهد (۱۴،۱۶،۲۲). نتایج تمامی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های میکروسکوپی و RDT منفی بود و هیچ مورد مثبتی با استفاده از این دو روش گزارش نشد، اما با استفاده از روش مولکولی سه مورد مثبت تشخیص داده شد که نشان‌دهنده کار آیی و اهمیت استفاده از روش مولکولی در تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت است.

حسن‌پور و همکاران در سال ۲۰۱۷ در یک مطالعه مروری مالاریای بدون علامت را به‌عنوان چالش بزرگ برنامه حذف مالاریای موردبررسی قراردادند و استفاده از تکنیک مولکولی در تشخیص آن را ضروری دانستند، میرشکاری و همکاران در سال ۲۰۱۶ مطالعه‌ای در مورد وضعیت مالاریای بدون علامت در جنوب استان کرمان انجام دادند، همچنین مطالعه ترکی و همکاران که در سال ۲۰۱۵ در میناب انجام شد و استفاده از تکنیک مولکولی در تشخیص موارد بدون علامت را مورد تأکید قراردادند که نتایج این دو مطالعه بامطالعه حاضر همخوانی دارد (۲،۳،۱۰)

مطالعه محمد عبدل نعییم و همکاران که در سال ۲۰۱۸ در پاکستان انجام شد (۲۳). همچنین مطالعه‌ای که توسط بائوم و همکاران در سال ۲۰۱۶ در منطقه مرزی تایلند و میانمار برای بررسی مالاریای بدون علامت انجام گرفت (۲۴) و مطالعه‌ای مارادیگا و همکاران که در سال ۲۰۱۶ باهدف بررسی عفونت بدون علامت مالاریا در مناطق اندمیک هندوراس انجام شد (۲۵) با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد، نتایج مطالعه آن‌ها بیانگر ضرورت استفاده از روش مولکولی در تشخیص موارد کم انگل و بدون علامت بود. موریرا و همکاران در سال ۲۰۱۵ در یک مطالعه مروری باهدف بررسی نظام‌مند عفونت کم انگل پلاسمودیوم ویواکس انجام شد عنوان کردند که شیوع عفونت پلاسمودیوم ویواکس اندازه‌گیری شده به‌وسیله PCR به‌طور مشخص بالاتر از شیوع آن به روش میکروسکوپی می‌باشد. میانگین شیوع عفونت تشخیص داده‌شده به روش میکروسکوپی درصد کمتر از شیوع آن توسط PCR است. نتایج حاصل از این مطالعه بامطالعه ما همخوانی دارد (۲۶).

مطالعات متعددی که در امریکای جنوبی، افریقا و آسیا به‌منظور کشف ذخایر انگلی بدون علامت انجام‌شده تأکید بر استفاده از روش مولکولی دارند که با نتایج مطالعه اخیر مطابقت کامل دارد (۲۴،۲۷،۲۸). در بررسی‌های به‌عمل‌آمده هیچ مطالعه‌ای یافت نشد که بیانگر حساسیت کمتر روش مولکولی در تشخیص مالاریا نسبت به سایر روش‌های روتین تشخیص باشد. نتایج مطالعات ذکرشده نشان دادند که حساسیت روش‌های مولکولی در تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت بیشتر از سایر روش‌های تشخیصی مالاریا است و Nested-PCR تکنیک مناسبی برای تشخیص موارد بدون علامت مالاریا است (۳،۲۲) که در پژوهش ما نیز همزمان از روش‌های میکروسکوپی، RDT و مولکولی Nested-PCR جهت تشخیص مالاریای بدون علامت استفاده گردید.

نقطه قوت مطالعه استفاده از تکنیک مولکولی در کنار سایر روش‌های روتین تشخیص مالاریا است و از محدودیت‌های مطالعه حجم نمونه نسبتاً کم می‌باشد. در راستای اجرای موفق برنامه حذف مالاریا در ایران، تشخیص ذخایر انگلی بدون علامت در مناطق اندمیک، ضرورتی حیاتی است و استفاده از روش کارآمد و مؤثر مولکولی Nested-PCR که یک روش حساس و انتخابی در تشخیص موارد کم انگل و بدون علامت مالاریا است، در کنار روش‌های روتین تشخیصی (میکروسکوپی و RDT)، اجتناب‌ناپذیر است. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های در راستای پایش حضور و فراوانی آلودگی‌های بدون علامت مالاریا در ساکنین بومی و اتباع بیگانه در سایر

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

مناطق پرخطر استان هرمزگان که دارای ظرفیت انتقال مالاریا هستند، با تأکید استفاده از روش مولکولی در کنار روش‌های روتین تشخیص مالاریا، به‌صورت دوره‌ای انجام گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان بابت حمایت مالی طرح، همکاری پرسنل و کارشناس‌های مالاریای معاونت بهداشتی در انجام مراحل پژوهش و افرادی که در طرح مشارکت کردند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

تاییدیه اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب جلسه شورای پژوهشی ۱۳۹۶ و جلسه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان با کد اخلاق HUMS.REC.1396.40 است.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

سهم نویسندگان

حبیب اله ترکی (نویسنده اول) طراحی مطالعه و نگارش مقاله، تشخیص نمونه ها، بررسی و تایید نسخه اصلی مقاله ۲۵ درصد. زینب حسینی (نویسنده دوم) گردآوری داده ها، مطالعه و تایید نسخه اصلی مقاله ۱۰ درصد. مریم سارانی (نویسنده سوم) نمونه گیری و همکاری درگردآوری داده ها، مطالعه و تایید نسخه اصلی مقاله ۱۰درصد. ایمان قاسم‌زاده (نویسنده چهارم) همکاری در طراحی مطالعه، همکاری در گردآوری نمونه ها و تشخیص، مطالعه و تایید نسخه اصلی مقاله ۱درصد. امین قنبرنژاد (نویسنده پنجم) تفسیر و تحلیل داده ها، مطالعه و تایید نسخه اصلی مقاله ۱۰درصد. نازنین پورنصراله سرایی (نویسنده ششم) همکاری در نمونه گیری و تشخیص، آماده سازی نمونه ها، مطالعه و تایید نسخه اصلی مقاله ۱۰درصد. گلثوم رشید (نویسنده هفتم و مسئول) همکاری در طراحی مطالعه مشارکت درتشخیص نمونه ها، و بازبینی و اصلاح نهایی مقاله، بررسی و تایید نسخه اصلی مقاله ۲۵ درصد.

حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان انجام شده است.

References

1. Ashley EA, Pyae Phyo A, Woodrow CJ. Malaria. Lancet Infect Dis. 2018; 391(10130):1608-21. Doi: 10.1016/S0140-6736(18)30324-6
2. Amirshekari MB, Nateghpour M, Raeisi A, Motevalli Haghi A, Farivar L, Edrissian G. Determination of asymptomatic Malaria among afghani and pakistani immigrants and native population in south of Kerman province, Iran J Parasitol. 2016; 11(2):247-52. PMID: 28096860
3. Turki H, Raeisi A, Malekzadeh K, Ghanbarnejad A, Zoghi S, Yeryan M, et al. Efficiency of nested-PCR in detecting asymptomatic cases toward Malaria elimination program in an endemic area of Iran. Iran J Parasitol. 2015; 10(1):39-45. PMID: 25904944
4. Tanner M, Greenwood B, Whitty CJ, Ansah EK, Price RN, Dondorp AM, et al. Malaria eradication and elimination: Views on how to translate a vision into reality. BMC Med. 2015;13:167. Doi: 10.1186/s12916-015-0384-6
5. World Health Organization. World Malaria report 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Availabale at: https://www.who.int/Malaria/publications/world-Malaria-report-2018/en/
6. Azizi MH, Bahadori M. Brief historical perspectives of Malaria in Iran. Arch Iran Med. 2013; 16(2):131. PMID: 23360639
7. Edrissian G. Malaria in Iran: Past and present situation. IJP. 2006; 1(1):1-14.

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

8. Norouzinejad F, Ghaffari F, Raeisi A. Epidemiological status of Malaria in Iran, 2011–2014. Asian Pac J Trop Med. 2016; 9(11):1055-61. Doi: 10.1016/j.apjtm.2016.09.007

9. Turki H, Zoghi S, Mehrizi AA, Zakeri S, Raeisi A, Khazan H, et al. Absence of asymptomatic Malaria infection in endemic area of Bbashagard district, Hormozgan province, Iran. IJP. 2012; 7(1):36-44. PMID: 23133470

10. Hassanpour G, Mohebali M, Zeraati H, Raeisi A, Keshavarz H. Asymptomatic Malaria and its challenges in the Malaria elimination program in Iran: A systematic review. J ArthropodBorne Dis. 2017 ;11(2):172-81. PMID: 29062842

11. Lindblade KA, Steinhardt L, Samuels A, Kachur SP, Slutsker L. The silent threat: Asymptomatic parasitemia and Malaria transmission. Expert Rev Anti Infec. 2013; 11(6):623-39. Doi: 10.1586/eri.13.45

12. Hemami MR, Sari AA, Raeisi A, Vatandoost H, Majdzadeh R. Malaria elimination in Iran, importance and challenges. IJPM. 2013; 4(1):88. PMID: 23413116

13. Liu Y, Sturrock HJW, Yang H, Gosling RD, Cao J. The challenge of imported Malaria to eliminating countries. Lancet Infect Dis. 2017; 17(2):141. Doi: 10.1016/S1473-3099(17)30006-3

14. Visser T, Daily J, Hotte N, Dolkart C, Cunningham J, Yadav P. Rapid diagnostic tests for Malaria. Bull World Health Organ. 2015; 93(12):862-6. Doi: 10.2471/BLT.14.151167

15. Nateghpour M, Turki H, Keshavarz H, Edrissian GH, Mohebali M, Foroushani AR. A parasitological and serological study in Malaria suspected patients in Hormozgan province, southeastern Iran. IRCMJ. 2010; 12(3):242.

16. Zimmerman PA, Howes RE. Malaria diagnosis for Malaria elimination. Curr Opin Infect Dis 2015;28(5):446-54. Doi: 10.1097/QCO.0000000000000191

17. Ebrahimzadeh A, Dalir SN, Mirahmadi H, Mehravaran A, Khorashad AS, Turki H. The incidence of current infection with different human Malaria species by polymerase chain reaction for diagnosis of suspicious Malaria patients on elimination region Sistan and Baluchistan province, southeast of Iran. Jundishapur J Microbiol. 2017; 10(10): e58254. Doi: 10.5812/jjm.58254.

18. World Health Organization. Basic Malaria microscopy. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2010. Availabale at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44208/9789241547826_eng.pdf

19. World Health Organization. Malaria rapid diagnostic tests Geneva: World Health Organization; 2017. Availabale at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255038/9789241512275-eng.pdf

20. Snounou G, Viriyakosol S, Jarra W, Thaithong S, Brown KN. Identification of the four human Malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections. Mol Biochem Parasite. 1993; 58(2):283-92. Doi: 10.1016/0166-6851(93)90050-8

21. Turki H, Rashid G, Shekari M, Raeisi A, Sharifi-Sarasiabi K. Malaria elimination program: Absence of asymptomatic Malaria and low parasitic in endemic area of Rudan district, Hormozgan Province, Iran. HMJ. 2017; 21(4):225-31.

22. Roth JM, Korevaar DA, Leeflang MM, Mens PF. Molecular Malaria diagnostics: A systematic review and meta-analysis. Crit Rev Cl Lab Sci. 2016;53(2):87-105. Doi: 10.3109/10408363.2015.1084991

23. Naeem MA, Ahmed S, Khan SA. Detection of asymptomatic carriers of Malaria in Kohat district of Pakistan. Malar J. 2018; 17(1):44. Doi: 10.1186/s12936-018-2191-y

24. Baum E, Sattabongkot J, Sirichaisinthop J, Kiattibutr K, Jain A, Taghavian O, et al. Common asymptomatic and submicroscopic Malaria infections in Western Thailand revealed in longitudinal molecular and serological studies: A challenge to Malaria elimination. Malar J. 2016; 15(1):333. Doi: 10.1186/s12936-016-1393-4

25. Maradiaga A, García JS, Mejía-Torres RE, Escober L, Matamoros J, Enríquez L, et al. Asymptomatic Malaria infections in an endemic city of Honduras. Hum Parasit Dis. 2016; 2016(8):37-41. Doi: 10.4137/HPD.s40183

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

26. Moreira CM, Abo-Shehada M, Price RN, Drakeley CJ. A systematic review of submicroscopic Plasmodium vivax infection. Malar J. 2015; 14(1):360. Doi: 10.1186/s12936-015-0884-z

27. Recht J, Siqueira AM, Monteiro WM, Herrera SM, Herrera S, Lacerda MV. Malaria in Brazil, Colombia, Peru and Venezuela: Current challenges in Malaria control and elimination. Malar J. 2017; 16(1):273. Doi: 10.1186/s12936-017-1925-6

28. De Andrade ALS, Martelli CM, Oliveira RM, Arias JR, Zicker F, Pang L. High prevalence of asymptomatic Malaria in gold mining areas in Brazil. Clin Infect Dis. 1995; 20(2):475. Doi: 10.1093/clinids/20.2.475

[DOI: 10.29252/jpm.6.2.4]
Downloaded from jpm.hums.ac.ir at 22:41 +0430 on Tuesday June 2nd 2020

Efficacy of molecular method in detecting asymptomatic parasitic reservoirs of Malaria

Habibollah Turki[1] Zeinab Hoseini[2] Maryam Sarani[1] Iman Ghasemzadeh[3] Amin Ghanbarnejad[4]
Nazanin Pournasrollah[5] Golsoom Rashid[1]*

1. Infectious and Tropical Diseases Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran. ORCID: 0000-0002-4888-7144
2. Department of Medica Parasitology and Micology, Faculty of Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.
3. HIV/STI Surveillance Research Center, and WHO Collaborating Center for HIV Surveillance, Institute for Futures Studies in Health, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
4. Department of Public Health, Social Determinants in Health Promotion Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.
5. Molecular Medicine Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

ABSTRACT

Introduction: Malaria Elimination Program Has Launched with the Technical Support from The World Health Organization Since 2007 in Iran. In Order to Achieve The Elimination of Malaria, All Positive Cases Should Be Diagnosed and Treated Promptly, Especially Asymptomatic and Low Parasitic cases. This Study Was Conducted to Determine The Effectiveness of The Molecular Method in The Detection of Asymptomatic Malaria Cases towards the successful Malaria Elimination Program in Iran.

Methods: In This Descriptive-analytical Study, 210 Samples Were Randomly Collected from Residents of High Risk malarious Areas of Hormozgan Province. The Rate of Asymptomatic Plasmodium Infection Was Evaluated Using Microscopic, RDT, and Nested-PCR Techniques (using18 ssrRNA).

Results: According to The Results, No Positive Asymptomatic Cases Were Observed with The Microscopic and RDT Methods, But by Using The Molecular Method, Three Positive Cases (1.4%) Were Detected.

Conclusion: The Results of This Study Showed That The sensitivity of molecular methods to detect asymptomatic parasitic reserviors is higher than other diagnostic methods and Nested-PCR is a good technique for detecting asymptomatic cases of malaria, therefore Use of a Sensitive Molecular Techniques With Wicroscopic and RDT Methods Is Necessary for The Detection of Asymptomatic Malaria Cases.

Key Words: Malaria, Detection, Parasitic Reservoir.

Original Article
Received: 22 Feb 2019 Accepted: 17 Nob, 2019

Citation: H Turki, Hoseini Z, Sarani M, Ghasemzadeh I, Ghanbarnejad A, Pournasrollah N, Rashid G. Efficacy of molecular method in detecting asymptomatic parasitic reservoirs of Malaria .JPM. 2020; 6(2):34-42

Correspondence: Golsoom Rashid, MSC, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.
Tel: +9833336202 Email: Golirashid3@gmail.com ORCID: 0000000179210788