Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 22, No. 3, Autumn 2022, Pages 259-268

Serological and Molecular Investigation of Toxoplasmosis Using B1 Gene in HIV-Positive Patients in Tehran

Khanaliha K[1], Bokharaei-Salim F*[2], Sadeghi M[3], Salemi B[4]

1. Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Virology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Deputy of Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Student Research committee, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
* Corresponding author. Tel: +982186703002, Fax: +982188602205, E-mail: bokharaei.f@iums.ac.ir

Received: Nov 12, 2022 Accepted: Jan 9, 2023

ABSTRACT

Background & objectives: *Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular parasite with global distribution. Diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection with high sensitivity and specificity is very important in managing and treating this disease. The purpose of this study is serological and molecular investigation of toxoplasmosis using B1 gene in HIV- positive patients referred to hospitals affiliated with Iran University of Medical Sciences.

Methods: In this study, 660 blood samples were collected from HIV/AIDS- positive patients referred to hospitals affiliated with Iran University of Medical Sciences. Patient samples were examined for the presence of IgG and IgM antibodies against *Toxoplasma gondii* using an ELISA kit. Genomic DNA was extracted from the patient's serum, as well as peripheral blood mononuclear cell (PBMC) and whole blood samples, and then Real time-PCR was performed.

Results: Although IgG antibody against *Toxoplasma gondii* was positive in 158 (23.9%) patients out of 660 HIV- positive patients, IgM antibody was positive in 5 (0.76%) patients. The results of Real-Time PCR showed that 7 (1.06%) patients were positive in PBMC samples, of which five patients were positive for IgM antibodies against *Toxoplasma gondii* while two patients had high- level *Toxoplasma* IgG antibody titers.

Conclusion: The results of the study indicate that the Real-time PCR method using PBMC DNA samples is a suitable method for the diagnosis of toxoplasmosis. This method, together with the antibody test, especially the high titer of Toxoplasma IgG antibodies, can be helpful in the diagnosis of toxoplasmosis.

Keywords: Seroprevalence; Toxoplasmosis; Real-Time PCR; HIV

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]

[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

بررسی سرولوژیک و مولکولی توکسوپلاسموز با استفاده از ژن B1 در بیماران HIV مثبت در تهران

خدیجه خانعلی‌ها[۱] فرح بخارایی سلیم[۲]*، محسن صادقی[۳]، برنا سالمی[٤]

۱. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی اطفال، پژوهشکده ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲. گروه ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳. معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
٤. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۱۸۶۷۰۳۰۰۲ فاکس: ۰۲۱۸۸۶۰۲۲۰۵ پست الکترونیک: bokharaei.f@iums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: توکسوپلاسماگوندی یک انگل داخل سلولی اجباری با توزیع جهانی است. تشخیص عفونت توکسوپلاسماگوندی با حساسیت و ویژگی بالا در مدیریت و درمان این بیماری بسیار مهم است. هدف از مطالعه حاضر بررسی سرولوژیک و مولکولی توکسوپلاسموز با استفاده از ژن B1 در بیماران HIV مثبت مراجعه کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران بود.

روش کار: دراین مطالعه مقطعی، ۶۶۰ نمونه خون از بیماران HIV/AIDS مثبت مراجعه کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران جمع‌آوری گردید. نمونه‌های بیماران از نظر آنتی‌بادی IgG و IgM ضد توکسوپلاسما گوندی با کیت الایزا مورد بررسی قرار گرفتند. DNAی ژنومیک نمونه‌های سرم، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و نمونه خون کامل افراد مورد بررسی، استخراج شد و سپس برای ردیابی ژنوم توکسوپلاسما گوندی با روش Real-time-PCR مورد آزمایش قرارگرفت.

یافته ها: اگرچه آنتی بادی IgG ضد توکسوپلاسما گوندی در (۲۳/۹٪) ۱۵۸ بیمار از ۶۶۰ بیمار مبتلا به HIV مثبت بود، آنتی‌بادی IgM در (۰/۷۶٪) ۵ مورد از بیماران مثبت بود. نتایج Real-Time PCR نشان داد که ۷ بیمار (۱/۰۶٪)مبتلا به توکسوپلاسموز با استفاده از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی خون بیماران مثبت بود که شامل ۵ بیمار از نظر آنتی‌بادی IgM ضد توکسوپلاسما گوندی مثبت و دو بیمار با تیتر بالای آنتی‌بادی IgG بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاکی از آن است که روش Real-time PCR با استفاده از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی روش مناسب در تشخیص توکسوپلاسموز می‌باشد. این روش به همراه سنجش آنتی‌بادی، به ویژه تیتر بالای آنتی‌بادی‌های IgG توکسوپلاسما می‌تواند برای تشخیص توکسوپلاسموز مفید باشد.

واژه های کلیدی: شیوع سرمی، توکسوپلاسموزیس، HIV،Real-Time PCR

دریافت: ۱۴۰۱/۸/۲۱ **پذیرش:** ۱۴۰۱/۱۰/۱۹

مقدمه

توکسوپلاسماگوندی یک انگل داخل سلولی اجباری با توزیع جهانی است که با دامنه میزبان نسبتاً وسیع وجود دارد و پستانداران و پرندگان را آلوده می‌کند [۱]. توکسوپلاسموز به طور کلی در افراد با ایمنی کامل بدون علامت است، در حالی‌که در زنان باردار، و بیماران دارای نقص ایمنی همانند بیماران دریافت‌کننده پیوند و بیماران با نقص ایمنی اکتسابی

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

HIV دارای عوارض شدید می‌باشد، بنابراین تشخیص عفونت در انسان خصوصاً در زنان باردار و بیماران دچار نقص ایمنی اکتسابی HIV حائز اهمیت می‌باشد. شیوع توکسوپلاسموزیس در بیماران HIV در سراسر جهان متفاوت است. شیوع کلی سرمی گزارش شده در جهان ۳۵/۸ درصد می‌باشد که بر اساس مناطق مختلف متفاوت است. شیوع کلی سرمی در خاورمیانه و شمال افریقا حدود ۶۰/۷ درصد و در آسیا و اقیانوسیه به ۲۵/۱ درصد می‌رسد. علت اصلی توکسوپلاسموز در یک بیمار HIV فعال‌شدن مجدد عفونت نهفته به ویژه در مغز است که منجر به آنسفالیت توکسوپلاسمایی می‌شود [۲،۳]. در مطالعات مختلف برآورد شده است که یک سوم جمعیت جهان به توکسوپلاسماگوندی آلوده شده‌اند. میزان شیوع سرمی توکسوپلاسموز در جمعیت ایران حدود ۳۹/۳ درصد گزارش شده است [٤]. تخمین زده می‌شود شیوع IgG اختصاصی توکسوپلاسماگوندی از ۱۰ تا ۸۰ درصد با توجه به شرایط اقلیمی و عادات غذایی، در سراسر جهان وجود دارد و با سن افزایش می‌یابد [۵]. بیشترین شیوع توکسوپلاسموز در ایران به ترتیب در مناطق معتدل شمالی در حدود ۷۰ درصد و شیوع نسبتاً پایین در مناطق گرم و خشک حدود ۲۹ درصد و در مناطق مرطوب جنوب به میزان ۳۵-۲۰ درصد گزارش شده است [۶].

تشخیص عفونت توکسوپلاسماگوندی با حساسیت و ویژگی بالا در مدیریت و درمان این بیماری بسیار مهم است. توکسوپلاسموز به طور کلی با جداسازی آنتی‌بادی‌های اختصاصی IgM و IgG به آنتی‌ژن‌های توکسوپلاسما در نمونه سرم بیمار تشخیص داده می‌شود. اکثر تست‌های تجاری موجود از آنتی‌ژن‌های بومی توکسوپلاسماگوندی استفاده می‌کنند که تغییرات گسترده‌ای را در دقت تست نشان می‌دهند. تفاوت‌های مشاهده شده بین این تست‌های سرولوژیک احتمالاً تا حدی به دلیل استفاده از آنتی‌ژن‌های مختلف مورد استفاده برای تشخیص آنتی‌بادی سرم می‌باشد [۷]. با این حال روش‌های مولکولی برای تشخیص انگل در نمونه‌های بیولوژیکی مانند خون موثر هستند. روش‌های مولکولی در چندین مطالعه برای تشخیص توکسوپلاسموز در مرحله حاد بیماری که آزمایشات سرولوژیک کافی نیست استفاده شده است [۸]. سنجش سرولوژیکی به‌عنوان بیشترین روش چالش‌برانگیز در نظر گرفته می‌شود، زیرا ممکن است آنتی‌بادی‌های خاص در مراحل اولیه عفونت به ویژه در بیماران مبتلا به نقص ایمنی موجود نباشند [۹]. استفاده از یک روش حساس مانند PCR برای شناسایی ژن B1 توکسوپلاسما گوندی می‌تواند روشی موثر و دقیق در تشخیص توکسوپلاسموز باشد [۱۰].

کنترل مناسب توکسوپلاسموز در بیماران HIV نیازمند اطلاعات دقیق در مورد شیوع آنتی‌بادی‌های ضد توکسوپلاسما گوندی در بین جمعیت‌های مختلف و تشخیص مولکولی توکسوپلاسموز می‌باشد[۱۶-۱۱]. .هدف از مطالعه حاضر بررسی سرولوژیک و مولکولی توکسوپلاسموز با استفاده از ژن B1 در بیماران HIV مثبت مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران بود.

روش کار

در مطالعه مقطعی حاضر ۶۶۰ نمونه خون از بیماران HIV/AIDS مثبت مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران از تاریخ شهریور۱٤۰۰ تا آبان۱٤۰۱ جمع‌آوری گردید.

تعیین حجم نمونه

نمونه گیری به روش تصادفی طبق فرمول $N=Z^2\times P(1-P)/D^2$ انجام شد.

با توجه به شیوع سرمی توکسوپلاسموز در بیماران HIV مثبت در تهران ٤۹/۷۵% در مطالعه قبلی [۱۶]، P میزان شیوع توکسوپلاسموز (50٪) در نظر گرفته شد و با در نظر گرفتن Z=۱/۹۶ و D=۰/۰٤ جمعیت مورد مطالعه ۶۰۰ نفر تعیین گردید، ولی بطور کلی

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

۶۶۰ نمونه خون از بیماران HIV/AIDS مثبت مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران جمع‌آوری گردید. طرح در کمیته اخلاق دانشگاه علوم‌پزشکی ایران با کد اخلاق IR.IUMS.REC.1400.711 تصویب گردیده و کلیه شرکت‌کنندگان پس از اخذ رضایت نامه وارد طرح گردیدند و تمامی فرایند اجرایی طبق معاهده هلسینکی انجام گرفت.

اطلاعات دموگرافیک مانند سن، جنس، عوامل خطر انتقال HIV مانند مصرف مواد مخدر، سابقه زندان، انتقال از مادر به فرزند، رابطه جنسی غیرمحافظت‌شده و اطلاعات آزمایشگاهی شامل بار ویروسی و تعداد لنفوسیت‌های CD4 مثبت در بیماران HIV مثبت ثبت گردید. توکسوپلاسموز مغزی بر اساس معیارهای مرکز پیشگیری و کنترل بیماری (CDC) با علائم بالینی، از جمله ناهنجاری عصبی کانونی، کاهش سطح هوشیاری، آتاکسی و همی‌پلژی بعلاوه نتایج تصویربرداری (MRI) و بیوپسی مغز تشخیص داده شد.

نمونه‌های بیماران از نظر آنتی بادی IgG و IgM ضد توکسوپلاسما گوندی با کیت تجاری (پیشتاز طب، ایران) مورد بررسی قرار گرفتند. حدود ۵ میلی‌لیتر خون محیطی با EDTA برای استخراج DNA و آماده‌سازی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی جمع‌آوری شد. جداسازی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی از ۵ میلی لیتر خون با EDTA توسط سانتریفیوژ با روش گرادیان چگالی با استفاده از Ficoll انجام شد. (Amersham Biosciences Europe Gmbh, Milan, Italy)

استخراج DNA و Real-time polymerase chain

DNA ژنومی با استفاده از سرم بیماران و همچنین سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و نمونه خون کامل استخراج شد (Qiagen, Hilden, Germany) و پرایمرها با استفاده از ژن B1 انتخاب شدند که قطعه ۱۱۵ جفت باز را تکثیر می کردند. تمام پروتکل‌ها و شرایط PCR بر اساس روش کانتینی[1] و همکاران انجام شد. واکنش‌ها در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از Master SYBR Green I انجام شد. ۱۲/۵ میکرولیتر سایبرگرین و هر پرایمر در غلظت ۰/۵ میکرومولار، ۲ میلی مولار MgCl2 و ۵ میکرولیتر DNA اضافه شد [۱۰]. همه آزمایشات با آب مقطر به عنوان شاهد منفی و نمونه DNA سویه RH توکسوپلاسما گوندی به عنوان کنترل مثبت انجام شد. تهیه DNA از خون بیماران توکسوپلاسموز مثبت و توکسوپلاسموز منفی نیز انجام گرفت و در کنار بیماران HIV مثبت با Real-time-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه برای Real-time PCR در جدول ۱ خلاصه شده است.

محاسبات آماری

برای محاسبات آماری از SPSS-18، همچنین تست مجذور کای برای مقایسه متغیرها استفاده گردید و *p*-Value کمتراز ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

[1] Contini

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای Real-time PCR در این مطالعه

	سکانس پرایمر	Annealing	Amplified fragment (bp)	Refs
Forward B1–B22 Reverse B1–B23	5′-AACGGGCGAGTAGCACCTGAGGAGA-3′ 5′-TGGGTCTACGTCGATGGCATGACAAC-3′	۶۲	۱۱۵	Bretagne,1993

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۶۰ بیمار مبتلا به HIV، ۶۰-۵ سال با میانگین سنی ۳۸/۵ سال شامل ۶۸/۵ درصد مرد و ۳۱/۵ درصد زن وارد مطالعه شدند. شایع‌ترین راه انتقال HIV از طریق مصرف مواد مخدر داخل وریدی (۴۸/۲٪) بود. میانگین لنفوسیت‌های CD4 مثبت در افراد با Real-timePCR منفی ۲۱۱/۳±۴۱۵/۱ بود و در افراد HIV مثبت بدون توکسوپلاسموز مغزی ۲۲/۵±۳۱۵/۵ بود ولی این میزان در افراد HIV مثبت دچار توکسوپلاسموز مغزی ۳۴/۵±۵۱/۵ بود که این اختلاف معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

پارامترهای دموگرافیک، آزمایشگاهی و اپیدمیولوژیک افراد مبتلا به عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی در جدول ۲ خلاصه گردیده است. اگرچه آنتی‌بادی IgG ضد توکسوپلاسما گوندی در ۱۵۸ بیمار (۲۳/۹٪) از ۶۶۰ بیمار مبتلا به HIV مثبت بود، اما IgM در ۵ مورد (۰/۷۶٪) از بیماران مثبت بود. نتایج Real-Time PCR نشان داد که ۷ بیمار (۱/۰۶٪) مبتلا به توکسوپلاسموز بودند که ۵ مورد از آنها دارای آنتی‌بادی IgM ضد توکسوپلاسما گوندی مثبت و دو مورد دارای آنتی‌بادی با تیتر IgG >۲۰۰ بودند.

نتایج Real-time PCR در ۷ بیمار مثبت بود که در ۵ بیمار نتایج Real-time PCR در نمونه مربوط به سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی مثبت بوده و نمونه سرم آنان منفی بود، فقط در ۲ بیمار نتایج PCR در نمونه سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و خون تام مثبت بودند.

نتایج Real-time PCR و آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسما گوندی در تشخیص توکسوپلاسموز در بیماران مبتلا به HIV/AIDS در جدول ۳ خلاصه شده است.

جدول ۲. پارامترهای دموگرافیک، آزمایشگاهی و اپیدمیولوژیک افراد مبتلا به عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی

بیماران HIV/AIDS	موارد مثبت Real-time PCR	موارد منفی Real-time PCR	کل بیماران	P-Value
مرد	۷(٪۱۰۰)	۴۴۵(٪ ۶۸/۱)	۴۵۲(٪۶۸/۵)	۰/۰۹۵
زن	۰(٪۰/۰)	۲۰۸(٪۳۱/۹)	۲۰۸(٪۳۱/۵)	
سن	۴۸/۳ ± ۲/۵	۳۸/۵±۱۰/۵	۳۸/۵± ۸/۶	۰/۰۶۵
بار ویروسی IU/mL	۵۰۶۱۰/۰ (۳۹۵۶۴–۵۸۳۲۵)	۴۵۹۳/۰ (۷۵–۱۰۱۱۷۹۳)	۶۱۱۸/۵ (۷۵–۱۰۱۱۷۹۳)	۰/۱۶۳
CD4 count توکسوپلاسموز مغزی (۲)	۵۱/۵ ± ۳۴/۵ (۳۷–۹۸)	۴۱۵/۱±۲۱۱/۳ (۸۹–۹۰۰)	۴۰۱/ ۴± ۲۱۸/ ۷ (۱۷–۹۰۰)	* ۰/۰۰۱
CD4 count بدون توکسوپلاسموز مغزی (۵)	۳۱۵/۵±۲۲/۵ (۱۲۰ -۳۳۸)	۴۱۵/۱±۲۱۱/۳ (۱۵۰–۹۰۰)	۴۳۲/۵±۱۵/۳ (۱۲۰-۹۰۰)	۰/۵۲۵
آنتی‌بادی IgGمثبت	۷(٪۱۰۰)	۱۵۱(٪۲۳/۱)	۱۵۸(٪۲۳/۹)	*۰/۰۰۰۱
آنتی‌بادی IgM مثبت	۵(٪ ۷۱/۴)	۰(٪۰,۰)	۵(٪۰/۷۶)	*۰/۰۰۰۱
مصرف مواد مخدر داخل وریدی	۴(٪۵۷/۱)	۳۱۴(٪۴۸/۱)	۳۱۸(٪۴۸/۲)	۰/۶۳۳
مصرف مواد مخدر داخل وریدی همسر	۰(٪۰,۰)	۱۹۶(٪۳۰/۱)	۱۹۶(٪۲۹/۶)	۰/۰۸۳
سابقه زندان	۲(٪۲۸/۶)	۲۸۵(٪۴۳/۶)	۲۸۷(٪۴۳/۵)	۰/۴۲
رابطه جنسی غیرمحافظت شده	۱(٪۱۴/۳)	۲۴۳(٪۳۷/۲)	۲۴۴(٪۳۷)	۰/۲۱۱
انتقال از مادر فرزند	۰(٪۰,۰)	۴(٪۰/۶)	۴(٪۰/۶)	۰/۸۳۵

* اختلاف معنی دار است

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

جدول ۳. نتایج Real-time PCR و آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسما گوندی در تشخیص توکسوپلاسموزیس در بیماران مبتلا به HIV/AIDS

آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسما گوندی		Real-time PCR			
IgG	IgM	سرم	خون تام	PBMC	نمونه بیمار
+	+	–	+	+	۱
+	+	–	–	+	۲
>۲۰۰	–	–	–	+	۳
+	+	–	–	+	٤
+	+	–	–	+	۵
+	+	–	+	+	۶
>۲۰۰	–	–	–	+	۷

PBMC: سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی

بحث

توکسوپلاسموز یکی از شایع‌ترین عفونت‌های فرصت‌طلب در بیماران بخصوص در افراد مبتلا به HIV/AIDS می‌باشد که سبب درگیری ارگان‌های مختلف بدن از جمله سیستم اعصاب مرکزی شده که متعاقباً منجر به آنسفالیت توکسوپلاسمایی و مرگ می‌گردد [۱۱]. تست‌های سرولوژیک مانند IgM و IgG اصلی‌ترین روش‌ها برای تشخیص توکسوپلاسموز هستند، اما این تست‌ها برای افتراق مرحله حاد از مزمن دارای مشکلاتی هستند از جمله اینکه IgM برای مدتی می‌تواند در خون باقی بماند، بعلاوه در فعال‌شدن مجدد یک عفونت مزمن توکسوپلاسمایی نیز کارایی لازم را ندارند [۱۲]. امروزه روش‌های مولکولی به عنوان ابزارهای تشخیصی مهم برای تشخیص توکسوپلاسموز شناخته می‌شوند و بخصوص در میزبان‌های با سیستم ایمنی سرکوب‌شده در تشخیص توکسوپلاسموز موثر می‌باشند [۱۳].

در مطالعه حاضر شیوع سرمی IgG و IgM ضد توکسوپلاسما در بیماران مبتلا به HIV/AIDS به‌ترتیب ۲۳/۹ و ۰/۷۶ درصد بودند. نتایج Real-Time PCR نشان داد که این ۷ بیمار (۱/۰۶٪) دارای DNA انگل در نمونه سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بودند.

نتایج یک مطالعه مروری که توسط دریانی و همکاران در سال ۲۰۱٤ صورت گرفته نشان داد که میزان شیوع سرمی (IgG) توکسوپلاسموز در بین افراد مبتلا به HIV/AIDS در ایران ۵۰/۰۵ درصد بوده است. علاوه بر این، میزان شیوع سرمی IgM ٤/۸۵ درصد برآورد شد [۱٤]. باید توجه داشت که میزان شیوع سرمی (IgG) توکسوپلاسموز در جمعیت ایران حدود ۳۹/۳ درصد گزارش گردیده است [٤].

در مطالعه‌ای که توسط باوند و همکاران در سال ۲۰۱۹ در تهران صورت گرفته، شیوع سرمی IgG و IgM توکسوپلاسموز در بیماران مبتلا به HIV/AIDS به ترتیب ٤۶/۳ درصد و ۲/۷ درصد گزارش شده است که ٤/۷ درصد از بیماران با روش Real-time PCR مثبت بودند [۱۵]. محرز و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای دیگر شیوع کلی سرمی توکسوپلاسموز در بیماران HIV مثبت را ٤۹/۷۵ درصد و شیوع سرمی IgM را یک درصد در تهران گزارش کردند [۱۶].

در مطالعه حاضر نتایج شیوع سرمی IgG در بیماران HIV/AIDS در مقایسه با مطالعات قبلی در تهران کمتر بوده ولی از نظر شیوع سرمی IgM توکسوپلاسموز با نتایج مطالعه محرز و همکاران مشابهت دارد.

در بخش‌های دیگر ایران نتایج مطالعات شیوع سرمی توکسوپلاسموز در بیماران مبتلا به HIV/AIDS متفاوت بودند. در مطالعه‌ای که توسط شفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مشهد صورت گرفته،

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

شیوع سرمی IgG و IgM به ترتیب ۳۸/۱ درصد و ۲/۵ درصد بوده است [۱۷]. در مطالعه‌ای که توسط داورپناه و همکاران در سال ۲۰۰۷ در شیراز انجام گرفته است شیوع کلی سرمی توکسوپلاسموز ۱۸/۲ درصد گزارش شده است [۱۸]. در مطالعه‌ای که توسط افراسیابیان و همکاران در سال ۲۰۰۸ در کردستان صورت گرفته، شیوع کلی سرمی IgG توکسوپلاسموز ٤۶/۹ درصد و در مطالعه‌ای دیگر که توسط رستمی و همکاران در سال ۲۰۱٤ در سنندج صورت گرفته، شیوع سرمی IgG توکسوپلاسموز ۱۹/۱ درصد گزارش گردیده است [۲۰،۱۹]. در مطالعه دیگر که توسط مردانی و همکاران در سال ۲۰۰٤ در استان قم انجام گرفته است شیوع کلی سرمی توکسوپلاسموز ۶۱/۳۳ درصد گزارش گردیده است [۲۱].

برخلاف مطالعات فوق در مطالعه دریانی و همکاران، در سال ۲۰۱۱ شیوع بالای توکسوپلاسموز در شمال ایران گزارش شده است. در این مطالعه ۷۷/٤ درصد نمونه‌های سرم افراد HIV/AIDS از نظر آنتی‌بادی IgG توکسوپلاسما گوندی مثبت بودند و ۹/۷ درصد از نظر آنتی‌بادی IgM مثبت بودند که در مقایسه با گروه کنترل که به ترتیب ۷۵/۶ درصد و ۹ درصد گزارش گردیده، نتایج تقریباً مشابه است [۲۲].

در ایران بیشتر مطالعات سرواپیدمیولوژی در خانم‌ها شامل زنان در شرف ازدواج و زنان باردار انجام گرفته است. در یک مطالعه که توسط شکرابی و همکاران در سال ۱۳۷٤ صورت گرفته، شیوع کلی سرمی توکسوپلاسموز در زنان در شرف ازدواج در تهران ۳۱ درصد مشخص شده است [۲۳]. در مطالعه ای که توسط حضرتی تپه و همکاران در سال ۱۳۹٤ در ارومیه در زنان باردار انجام گرفت، ۲۸/۳۲ درصد افراد مورد مطالعه از نظر آنتی‌بادی IgG ضد توکسوپلاسما مثبت بودند و۱/٤٤ درصد نمونه‌ها از نظر آنتی‌بادی IgM مثبت بودند [۲٤]. در مطالعه حاضر شیوع سرمی IgG و IgM ضد توکسوپلاسما در بیماران مبتلا به HIV/AIDS به‌ترتیب ۲۳/۹ درصد و ۰/۷۶ درصد بود که نتایج مطالعه تقریباً مشابه شیوع سرمی آنتی بادی IgG و IgM ضد توکسوپلاسما در جمعیت معمولی مطالعات فوق می‌باشد.

بر طبق مطالعه فالوسی[1] و همکاران، تنوع جغرافیایی گسترده‌ای در شیوع توکسوپلاسموز در جهان وجود دارد. شیوع کلی سرمی توکسوپلاسموز بین ۷۵-۳۰ درصد در آمریکای لاتین، اروپا، آسیا و آفریقا گزارش شده است و در ایالات متحده، شیوع سرمی توکسوپلاسموز برای افراد آلوده به HIV بین ۲۲-۳ درصد است [۲۵]. در مطالعه ای که توسط گرنت[2] و همکاران در سال ۱۹۹۰ در ایالات متحده صورت گرفته، آنتی‌بادی توکسوپلاسما گوندی در ۳۲ درصد بیماران مبتلا به ایدز یافت شده است. از این میان، توکسوپلاسموز با درگیری سیستم اعصاب مرکزی در ۲٤ درصد بیماران دیده شده و توکسوپلاسموز عصبی در ۲۸ درصد بیماران که از نظر آنتی‌بادی IgG مثبت بودند ملاحظه گردیده است [۲۶]. نیساپاتوم[3] و همکاران در سال ۲۰۰٤ شیوع سرمی توکسوپلاسموز در بیماران مبتلا به HIV/AIDS در مالزی را ٤٤/۸ درصد گزارش نمودند [۲۷]. نایتو[4] و همکاران در سال ۲۰۰۷ در ژاپن شیوع سرمی آنتی‌بادی IgG را ۵/٤ درصد گزارش نمودند [۲۸]. شیملیس[5] و همکاران در سال ۲۰۰۹ در اتیوپی شیوع سرمی آنتی‌بادی IgG را ۹۳/۳ درصد گزارش کردند [۲۹]. بر طبق نظر مسکیتا[6] و همکاران، تشخیص DNA توکسوپلاسما گوندی در خون نشان‌دهنده عفونت فعال است و ارتباط نزدیکی با تظاهرات بالینی بیماران HIV دارد [۳۰،۳۱].

[1] Falusi
[2] Grant
[3] Nissapatorn
[4] Naito
[5] Shimelis
[6] Mesquita

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

در مطالعه حاضر نتایج Real-time PCR برای شناسایی توکسوپلاسما گوندی با استفاده از ژن B1 در ۷ نمونه سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی خون بیماران HIV/AIDS مثبت گردید همچنین در خون تام دو بیمار نیز نتیجه Real-time PCR مثبت بود.

بر طبق مطالعه کاردونا[1] و همکاران در سال ۲۰۱۱، ٤ بیمار (۱۸/۸٪) از ۲۲ بیمار HIV مثبت که مبتلا به توکسوپلاسموز مغزی بودند و ۲ بیمار (۷/٤٪) از ۲۷ بیمار مبتلا به سایر اختلالات عصبی توکسوپلاسموز با استفاده از ژن B1 با روش Real-Time PCR نتایج مثبتی داشتند که این دو مورد اخیر فقط IgG مثبت داشتند و IgM آنان منفی بود [۳۲]. نتایج مطالعه فوق با مطالعه حاضر که در دو مورد نتایج مثبت Real-Time PCR در بیماران HIV مثبت که IgG مثبت با تیتر بالا و IgM منفی داشتند مشابهت دارد.

در مطالعه‌ای که توسط رستمی و همکاران در سال ۲۰۱٤ صورت گرفته، ۹٤ نمونه خون از بیماران HIV مثبت در شهر سنندج جمع‌آوری شد و بیماران از نظر توکسوپلاسموز با روش PCR با استفاده از ژن B1 مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد از (۱۹/۱٪) ۱۸ نفر از آنها که از نظر آنتی‌بادی توکسوپلاسما IgG مثبت بودند و تنها یک نمونه با استفاده از PCR مثبت شد و این نمونه دارای تیتر بالای آنتی‌بادی در الیزا بود [۲۰].

در تحقیقی که توسط مسکیتا و همکاران در سال ۲۰۱۰ در برزیل صورت گرفته، توکسوپلاسموز مغزی در ۵۰ بیمار HIV مثبت با تشخیص بالینی و رادیولوژیکی تایید شد در این مطالعه ۳۶ خون و ۱٤ نمونه CSF از بیماران گرفته شد. نتایج مثبت در ۳۳/۶ درصد از بیماران با روش Real-time PCR مشاهده شد [۳۰]. در مطالعه حاضر، نتایج مثبت Real-time PCR برای شناسائی توکسوپلاسموز مغزی در دو بیمار HIVمثبت مشاهده گردید و این نتایج با تشخیص بالینی بیماران و نتایج رادیولوژیکی آنها تایید گردید.

نتایج مطالعه‌ای که توسط سنیدمن[2] و همکاران در سال ۲۰۰۵ صورت گرفته نشان داد که اگرچه وجود DNA توکسوپلاسما در خون می‌تواند نشان‌دهنده یک عفونت اخیر یا یک بیماری فعال بالینی باشد، در عین حال، می‌تواند فقط به دلیل آزادشدن مقدار کمی انگل از کیست‌های بافتی به داخل خون در موارد تحت بالینی باشد، به ویژه در موارد بدون علامت که فقط توسط Real Time PCR قابل تشخیص است [۳۳].

بطورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که Real-time PCR با استفاده از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی روش مناسب در تشخیص توکسوپلاسموز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاکی از آن است که روش Real-time PCR به همراه سنجش آنتی‌بادی، به ویژه تیتر بالای آنتی‌بادی‌های IgG توکسوپلاسما می‌تواند برای تشخیص توکسوپلاسما گوندی مفید باشد.

تشکر و قدردانی

این طرح با شماره ۱٤۰۰-۲-۷۸-۲۱۹۳۹ توسط دانشگاه علوم پزشکی ایران تصویب و مورد حمایت مالی قرار گرفت. نویسندگان مقاله از کلیه شرکت‌کنندگان در این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچگونه تعارضی در منافع اعلام نمی‌کنند.

[1] Cardona

[2] Snydman

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

References

1- Cenci-Goga BT, Rossitto PV, Sechi P, McCrindle CM, Cullor JS. Toxoplasma in animals, food, and humans: an old parasite of new concern. Foodborne Pathog Dis. 2011 Jul; 8 (7):751-762.
2- Dupont D, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart MP, Garnaud C ,Wallon M, Pelloux H. Serology for *Toxoplasma* in immunocompromised patients: still useful? Trends Parasitol.2021 Mar;37(3):205-213.
3- Chemoh W, Sawangjaroen N, Siripaitoon P, Andiappan H, Hortiwakul T, Sermwittayawong N, et al. *Toxoplasma gondii*–prevalence and risk factors in HIV-infected patients from Songklanagarind hospital, Southern Thailand. Front Microbiol. 2015 Nov; 25;6:1304.
4- Daryani A, Sarvi S, Aarabi M, Mizani A, Ahmadpour E, Shokri A, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian general population: a systematic review and meta-analysis. Acta trop. 2014 Sep; 137:185-194.
5- Pappas G, Roussos N, Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. Int J Parasitol. 2009 Oct; 39 (12):1385-1394
6- Mostafavi SN, Jalali Monfared L. Toxoplasmosis epidemiology in Iran: a systematic review. J Isfahan Med School. 2012 Spring; 30 (176):74-88. [Full text in Persian]
7- Kotresha D, Noordin R. Recombinant proteins in the diagnosis of toxoplasmosis. APMIS . 2010 Aug; 118 (8):529-542.
8- Wahab T, Edvinsson B, Palm D, Lindh J. Comparison of the AF146527 and B1 repeated elements, two real-time PCR targets used for detection of *Toxoplasma gondii*. J Clin Microbiol. 2010 Feb; 48 (2):591-592.
9- Sensini A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. Clin Microbiol Infect. 2006 Jun; 12 (6):504-512.
10- Contini C, Seraceni S, Cultrera R, Incorvaia C, Sebastiani A, Picot S. Evaluation of a Real-time PCR-based assay using the lightcycler system for detection of *Toxoplasma gondii* bradyzoite genes in blood specimens from patients with toxoplasmic retinochoroiditis. Int J Parasitol. 2005 Mar;35 (3):275-283.
11- Luft BJ, Chua A. Central nervous system toxoplasmosis in HIV pathogenesis, diagnosis, and therapy. Curr Infect Dis Rep. 2000 Aug; 2 (4):358-362.
12- Dhakal R, Gajurel K, Pomares C, Talucod J, Press CJ, Montoya JG. Significance of a positive *Toxoplasma* immunoglobulin M test result in the United States. J Clin Microbiol. 2015 Nov; 53 (11):3601-3605.
13- Liu Q, Wang ZD ,Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. Parasites Vectors. 2015 May; 8:292.
14- Ahmadpour E, Daryani A, Sharif M, Sarvi S, Aarabi M, Mizani A, et al. Toxoplasmosis in immunocompromised patients in Iran: a systematic review and meta-analysis. J Infect Dev Ctries. 2014 Dec; 8 (12):1503-1510.
15- Bavand A, Aghakhani A, Mohraz M, Banifazl M, Karami A, Golkar M, et al . Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies and DNA in Iranian HIV Patients. Iran J Pathol. 2019 Winter;14 (1):68-75.
16- Mohraz M, Mehrkhani F, Jam S, SeyedAlinaghi SA, Sabzvari D, Fattahi F, et al. Seroprevalence of toxoplasmosis in HIV+/AIDS patients in Iran. Acta Med Iran. 2011; 1;49(4):213-218.
17- Shafiei R, Riazi Z, Sarvghad M, Galian Sharifdini M, Mahmoudzadeh A, Hajia M. Prevalence of IgG and IgM anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in HIV positive patients in northeast of Iran. Iran J Pathol. 2011 Spring ;6 (2), 68 - 72.
18- Davarpanah M, Mehrabani D, Neirami R, Ghahremanpoori M, Darvishi M. Toxoplasmosis in HIV/AIDS patients in Shiraz, southern Iran. Iran Red Crescent Med J. 2007 Jan; 9 (1): 22-27.
19- Afrasiabian S, Hajibagheri K, Yousefinejad V, Rezaiee S, Shahmoradi F. The frequency of *Toxoplasma* and Cytomegalovirus infections in HIV-positive patients in HIV/AIDS counseling and care center in Kurdistan in 1385. SJKU. 2008 Summer; 10;13(2):34-41. [Full text in Persian]

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]

20- Rostami A, Keshavarz H, Shojaee S, Mohebali M, Meamar AR . Frequency of *Toxoplasma gondii* in HIV positive patients from West of Iran by ELISA and PCR. Iran J Parasitol. 2014 Oct –Dec; ;9 (4): 474-481.
21- Mardani A, Keshavarz H, Hosseini Ghavanlooei S. Seroprevalence study of antitoxoplasmic antibodies (IgG and IgM) in individuals infected with HIV in Qom regional blood transfusion center. Iranian J Infect Dis Trop Med .2004 ;9 (27):19-23. [Full text in Persian]
22- Daryani A, Sharif M, Meigouni M. Seroprevalence of IgG and IgM anti—Toxoplasma antibodies in HIV/AIDS patients, northern Iran. Asian Pac J Trop Med. 2011 Apr ; 4 (4):271-274.
23- Shekarabi M, Khanaliha K. Serological investigation of *Toxoplasma* in women referred for marriage using ELISA and indirect fluorescence method. Lab Diagnosis. 1999; 1(4-5):31-33. [Full text in Persian]
24- Hazrati Tappeh K, Mousavi S J, Bouzorg Omid A, Ali Nejad V, Alizadeh H. Seroepidemiology and risk factors of toxoplasmosis in pregnant women in Urmia city. Stud Med Sci. 2015 Spring; 26 (4):296-302. [Full text in Persian]
25- Falusi O, French AL, Seaberg EC, Tien PC, Watts DH, Minkoff H, et al. Prevalence and predictors of *Toxoplasma* seropositivity in women with and at risk for human immunodeficiency virus infection. Clin Infect Dis. 2002 Dec; 35 (11):1414-1417.
26- Grant IH, Gold JW, Rosenblum M, Niedzwiecki D, Armstrong D . *Toxoplasma gondii* serology in HIV-infected patients: the development of central nervous system toxoplasmosis in AIDS. AIDS. 1990 Jun;4(6):519-21.
27- Nissapatorn V, Lee C, Quek KF, Leong CL, Mahmud R, Abdullah KA . Toxoplasmosis in HIV/AIDS patients: a current situation. Jpn J Infect Dis. 2004 Aug;57(4):160-5.
28- Naito T, Inui A, Kudo N, Matsumoto N, Fukuda H, Isonuma H, et al . Seroprevalence of IgG anti-T*oxoplasma* antibodies in asymptomatic patients infected with human immunodeficiency virus in Japan. Intern Med. 2007 Jul;46(14):1149-50.
29- Shimelis T, Tebeje M, Tadesse E, Tegbaru B, Terefe A . Sero-prevalence of latent *Toxoplasma gondii* infection among HIV-infected and HIV-uninfected people in Addis Ababa, Ethiopia: a comparative cross-sectional study. BMC Res Notes. 2009 Oct; 2: 213.
30- Mesquita RT, Ziegler AP, Hiramoto RM, Vidal JE, Pereira-Chioccola VL . Real-time quantitative PCR in cerebral toxoplasmosis diagnosis of Brazilian human immunodeficiency virus-infected patients. J Med Microbiol. 2010 Jun;59 (6):641-647.
31- Mesquita RT, Vidal JE, Pereira-Chioccola VL. Molecular diagnosis of cerebral toxoplasmosis: comparing markers that determine *Toxoplasma gondii* by PCR in peripheral blood from HIV-infected patients. Braz J Infect Dis . 2010 Jul-Aug;14(4):346-50.
32- Cardona N, Basto N, Parra B, Zea AF, Pardo CA, Bonelo A, et al . Detection of *Toxoplasma* DNA in the peripheral blood of HIV-positive patients with neuro-opportunistic infections by a real-time PCR assay. Journal of Neuroinfectious Diseases. 2011 Dec; 2; 110402.
33- Walker M, Zunt JR. Parasitic central nervous system infections in immunocompromised hosts. Clin Infect Dis . 2005 Apr;40(7):1005-15.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.3.8.7]
[DOI: 10.52547/jarums.22.3.259]