View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۱، شماره ۴/ زمستان ۱۳۸۸/ ۶۲-۵۷

ارزیابی سروپارازیتولوژیکی بیماری مالاریا ناشی از *پلاسمودیوم ویواکس* و پایداری آنتی بادی های ضد پلاسمودیومی در شهرستان پارس آباد، استان اردبیل

دکتر حسین نهروانیان*[1]، دکتر مهدی آسمار**، دکتر احمد رئیسی***، مهین فرهمند†، زهرا فرزانه نژاد††، دکتر شهنام عرشی†††، دکتر همایون صادقی†††، دکتر بابک گروسی†††، داریوش امدادی•، شهرام سیف نژاد•، سید محمد کاظمی اصل•

*دانشیار گروه انگل شناسی- انستیتو پاستور ایران، **استاد گروه انگل شناسی- انستیتو پاستور ایران، ***دانشیار مرکز مدیریت بیماری ها، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، †مربی گروه انگل شناسی – انستیتو پاستور ایران، ††کارشناس گروه انگل شناسی-انستیتو پاستور ایران، †††استادیار گروه عفونی – دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، •کارشناس بهداشتی –دانشگاه علوم پزشکی اردبیل.

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۲ تاریخ تایید: ۸۸/۵/۳۰

چکیده:

زمینه و هدف: مالاریا یکی از مهمترین بیماری های انگلی در جهان و برخی از مناطق ایران محسوب می شود. علاوه بر مناطق آندمیک این بیماری در جنوب و جنوب شرقی، در سال های اخیر، شمال غربی کشور نیز با ظهور مالاریای ویواکس مواجه شده است. این مطالعه به منظور بررسی مقایسه ای سروپارازیتولوژی مالاریا با روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم (IFA) و پایداری آنتی بادی های ضد پلاسمودیومی شهرستان پارس آباد واقع در استان اردبیل در شمال غربی ایران صورت گرفته است.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی – تحلیلی بر روی ۲۵۰ نمونه از افراد مبتلا به مالاریا که با روش میکروسکوپی تایید شده و تحت درمان با ترکیبات ضد مالاریا بوده اند و ۲۵۰ نمونه از گروه شاهد منفی، بین سال های ۸۴-۱۳۸۲ انجام پذیرفت. پایداری آنتی بادی‌های ضد پلاسمودیوم ویواکس در سرم های تهیه شده از گروه های آزمون و شاهد در پایان دوره مطالعه با استفاده از روش های ایمونوفلوئورسانس (IFA) و مستقیم مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده های به دست آمده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و t دانشجویی تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها: در بررسی انجام شده به روش میکروسکپی، از مبتلایان به مالاریا همگی به *پلاسمودیوم ویواکس* آلوده و گروه شاهد همگی منفی بودند و هیچگونه آلودگی مضاعف با این روش مشاهده نشد. نتیجه بررسی سروپارازیتولوژیک با روش ایمونوفلوئورسانس نشانگر آن بود که ۴۷ مورد (۱۹٪) از گروه آزمون و ٤ مورد (۱/٦٪) از گروه شاهد آنتی بادی ضد پلاسمودیوم ویواکس را دارا بودند (P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: بر اساس میزان آنتی بادی ضد پلاسمودیومی پس از تشخیص میکروسکوپی پایداری طولانی نداشته و برای ارزیابی اپیدمیولوژیک آلودگی به مالاریا مناسب نمی باشد. در نتیجه برای بیماریابی جمعیت منطقه و درمان آنان، بکار گیری روش های دیگر و تحقیقات وسیع تر می تواند کمک موثرتری داشته باشد.

واژه های کلیدی: اردبیل، ایمونوفلوئورسانس، *پلاسمودیوم ویواکس*، پارازیتولوژی، مالاریا.

مقدمه:

مالاریا یک بیماری انگلی است که توسط پشه آنوفل و به وسیله تک یاخته ای از جنس پلاسمودیوم (Plasmodium, P) ایجاد می‌شود. در چرخه زندگی مالاریای انسانی حضور دو میزبان مهـــره دار (انسـان) و بـــی مهره (پشه) ضروری است. سالیانه تخمین زده می شود که حدود ۳۰۰ میلیون نفر به این بیماری آلوده شوند که با ۲ تا ۳ میلیون نفر مرگ و میر همراه است (۲،۱). این بیماری در حال حاضر اکثراً در مناطق مالاریا خیز جنوب شرقی ایران

[1]نویسنده مسئول: تهران-میدان پاستور- انستیتو پاستور ایران- بخش انگل شناسی- تلفن: ۶۶۹۶۸۸۵۵-۰۲۱، E-mail:mobcghn@yahoo.co.uk

شامل استان های سیستان و بلوچستان، کرمان و هرمزگان و مواردی هم از کانون های شمالی کشور در مناطق مرزی ایران و جمهوری آذربایجان در استان های گیلان، اردبیل، آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی انتشار دارد (۵-۳).

مالاریا به عنوان یک بیماری در جنـــوب شرقی ایـــران با شیوع ۲۵/۵ در هر ۱۰۰۰ نفر وجود دارد که شیوع بیمـــاری توسط هر دو گونه *P. vivax* و *P. falciparum* در مناطق آندمیک دیده می شود. ضمناً کانون های بومی بیماری در استان های هرمزگان، سیستان و بلوچستان و کرمان استقرار دارند که موارد بیماری تا سال ۲۰۰۰ رو به کاهش بوده است (۷،۶،۳).

عامل بیماری در ایران گونه های *P. vivax* و *P. falciparum* می باشند که از نظر فراوانی تقریباً مساوی بوده اما در سال های اخیر *P. vivax* نسبت به *P. falciparum* از فراوانی بیشتری برخوردار شده که با مواردی از آلودگی مضاعف در برخی از مناطق نیز همراه بوده است (۹،۸).

تشخیص صحیح بیماری در مطالعات اپیدمیولوژیک می تواند بعنوان یک معیار مهم برای عملیات درمان و کنترل بیماری بکار رود (۱۰).

استفاده از روش ایمونوفلوئورسانس (Immunofluorescence) در بررسی سرواپیدمیولوژی مالاریا برای اولین بار در سال ۱۳۵۱ در آزمایشگاه تک یاخته های خونی-نسجی واحد تک یاخته شناسی گروه اپیدمیولوژی و پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی در روستاهای شهرستان بندرعباس و میناب به مرحله اجرا درآمد. در این مطالعه ارزش روش آنتی بادی فلوئورسنت در مشخص نمودن وضعیت بیماری و تعیین میزان آلودگی و یافتن موارد کم انگل به خوبی مشاهده شد و لزوم استفاده از این روش در برنامه ریشه-کنی مالاریا در سایر نقاط کشور مورد تایید قرار گرفت. کاربرد اصلی و عملی این تکنیک در مالاریا و استفاده از آن در مطالعات سرواپیدمیولوژی و تعیین درصد آلودگی، میزان آندمیسیته (Endemicity) و پیدا کردن موارد کم انگل و بدون علامت (Asymptomatic) به اثبات رسیده است (۱۰).

شمال استان اردبیل به دلیل شرایط اقلیمی آب و هوایی، میزان رطوبت و همجواری با کشورهای منطقه، توانایی بالقوه برای ابتلا به مالاریا را دارا می باشد. ولی علیرغم این واقعیت، بررسی هایی که تاکنون در زمینه تعیین شیوع واقعـــی این بیماری در منطقه انجام شده است بسیار محـــدود می باشـــد و عـــلاوه بر آن تعداد پژوهش های با رویکرد اپیدمیولوژیک نیز بسیار اندک می باشد. از آنجایی که پایه ریزی یک برنامه منسجم و کارآمد با عنوان کنترل و پیشگیری و درمان یک بیماری نیازمند در اختیار داشتن اطلاعات کافی از وضعیت پراکندگی آن بیماری می باشد، لذا لزوم انجام پژوهش هایی از این دست به وضوح قابل درک است. از طرفی، یافته های حاصل از این مطالعه، میزان آلودگی را در افراد مبتلا به مالاریا در منطقه پارس آباد تایید می‌کند و نتیجه آن به بررسی راهکارهای ممانعت از گسترش بیماری با همکاری کشورهای همجوار ایران کمک شایانی خواهد نمود. بدیهی است بکارگیری روش‌های دیگر و تحقیقات وسیع‌تر می‌تواند در بیمـــاریابی جمعیت منطقه و درمان آنان کمک موثر داشته باشد. لذا این مطالعه با هدف بررسی ســـروپارازیتولوژی مـــالاریا و تعیین میزان حضور پادتن‌های ضد مالاریایی بیماران در شهرستان پارس آباد از استان اردبیل، شمال غرب ایران و مقایسه آن در گروه های آزمون و شاهد با توجه به نتایج روش میکروسکوپی بین سال های ۸۴-۱۳۸۲ انجام شد.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی که از نظر آماری از نوع شاهد دار تصادفی (Randomized Control Trial) می باشد، گروه های آزمون و شاهد بصورت تصادفی از بین یک جامعه بزرگتر انتخاب شدند.

در این بـــررسی که با استفـــاده از روش های آماری و

نمونه‌برداری خوشه‌ای تصادفی (Cluster Random Sampling) صورت گرفته، ۲۵۰ نمونه مبتلا به مالاریا و ۲۵۰ نمونه از گروه شاهد منفی از مراکز درمانگاهی و بیمارستانی شهرستان پارس آباد استان اردبیل انتخاب و با روش میکروسکوپی جهت تشخیص مستقیم انگل و روش ایمونوفلوئورسانس مستقیم (IFA) جهت بررسی آنتی‌بادی ضد پلاسمودیوم ویواکس مورد بررسی قرار گرفتند.

نمونه های گسترش خونی تهیه شده از مبتلایان به مالاریا به روش میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفته و از نظر وجود یا عدم وجود پلاسمودیوم مورد اثبات قرار گرفتند. سرم‌های تهیه شده از گروه های آزمون و شاهد در پایان دوره مطالعه پس از تشخیص میکروسکوپی و درمان بیماران با روش سرولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفتند تا پایداری آنتی بادی های ضد پلاسمودیوم ویواکس مورد کنکاش قرار گیرند.

برای گرفتن خون وریدی در بیماران از ورید دست استفاده کرده و قبل از جداسازی سرم، یک قطره خون را هر چه سریع تر قبل از منعقد شدن آن به لام شیشه ای منتقل شده تا دو گسترش نازک (Thin Smear) و ضخیم (Thick Smear) تهیه شوند. گسترش های نازک و ضخیم تهیه شده از نمونه‌های خون مربوط به بیماران و گروه کنترل به آزمایشگاه انگل شناسی منتقل و پس از تثبیت گسترش نازک با اتانول، دو گسترش را با گیمسای ۱۰ درصد بمدت ۲۰ دقیقه رنگ آمیزی کرده پس از شستشو با آب معمولی در حرارت اطاق (۲۵ °C-۲۲) آنها را خشک نموده و سپس با میکروسکوپ معمولی مورد بررسی قرار دادیم، تشخیص مالاریا به مشاهده اشکال مختلف انگل درخون محیطی بستگی دارد (۸).

در این تحقیق از روش شولتزر (Scultzer) که یکی از روش های انتخابی برای تهیه لام آنتی ژن مالاریا می باشد جهت انجام تست های IFA استفاده گردید. در این روش خون هپارینه حاوی انگل مالاریا را سانتریفیوژ کرده و پلاسمای آنرا جدا نموده، سپس رسوب حاصله را پنج مرتبه با ده برابر حجم خون شستشو داده تا آنتی‌کورهای موجود در خون کاملاً شسته شوند. عناصر سلولی شسته شده را که حاوی انگل مالاریا است به نسبتی که تعداد معینی انگل در یک میدان میکروسکوپی داشته باشد رقیق نموده و از آن قطرات کوچک با فاصله معینی روی لام با وسیله مخصوص (هموبیل) قرار داده شد. پس از اینکه خون روی لام خشک شد بلافاصله آنرا بسته بندی و در سرمای ۷۰°C- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در مواردی که ضخامت گسترش خون زیاد باشد قبل از آزمایش آنرا با آب مقطر همولیز نمودیم. در این روش سرم مورد آزمایش را روی لام آنتی ژن ریخته و بمدت ۳۰ دقیقه در محفظه مرطوب و در دمای ۳۷ °C انکوبه شدند. سپس مقدار اضافی سرم را دوباره با PBS شستشو داده و بعد سرم کنژوگه (Conjugated antihuman antibody) بر علیه سرم انسانی (Jackson Immuno Research, USA) را به آن افزوده و مجدداً سی دقیقه در انکوباسیون مرطوب قرار دادیم. چون سرم کونژوگه متصل به ماده فلوئورسنت می باشد پس از شستشو با PBS و مونتاژ لام ها با محلول گلیسیرین تامپون دار، با میکروسکوپ فلوئورسانس (Leitz LABOROLUX 12, Germany) قابل مشاهده می‌باشند. در صورتی که در سرم مورد آزمایش آنتی بادی‌های ضد مالاریا وجود داشته باشد انگل‌های مالاریا رنگ درخشان زرد مایل به سبز فلوئورسنت را نشان خواهند داد. در این روش سیتوپلاسم انگل مالاریا خاصیت آنتی ژنیک دارد و هسته و پیگمان واکنش ضعیف تری نشان می دهند. در این مطالعه ارزش روش فلوئورسنت آنتی‌بادی در مشخص نمودن وضعیت بیماری و تعیین میزان آلودگی و یافتن موارد کم انگل را بخوبی می توان مشاهده کرد. کاربرد اصلی و عملی این تکنیک در مالاریا و استفاده از آن در مطالعات سرواپیدمیولوژی و تعیین درصد آلودگی، میزان آندمیسیته (Endemicity) و پیدا کردن موارد کم انگل و بدون علامت (Asymptomatic) کاملاً به اثبات رسیده است (۱۳،۱۲،۱۰).

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار

Graph Pad Prism و آزمون آماری Student's t-test مورد آنالیز قرار گرفتند.

یافته ها:

نمونه های گسترش خونی تهیه شده از مبتلایان به مالاریا تماماً به پلاسمودیوم ویواکس آلوده بوده اند و گروه شاهد همگی منفی بودند، ضمناً هیچگونه آلودگی مضاعف با این روش مشاهده نشد. نتیجه بررسی سروپارازیتولوژیک نشان داد که در افراد با سابقه مالاریا و گروه شاهد که با روش IFA مورد آزمایش قرار گرفتند جمعاً ۵۱ مورد (۱۰/۲٪) از کل ۵۰۰ نفر مورد مطالعه از آنتی‌بادی ضد پلاسمودیوم ویواکس برخوردار بودند. به طوری که ۴۷ مورد (۱۹٪) از گروه آزمون و ۴ مورد (۱/۶٪) از گروه شاهد با روش IFA مثبت بودند (P<۰/۰۰۱). بر اساس آزمون آماری t دانشجویی میزان موارد مثبت سرولوژیکی پس از درمان در مبتلایان به مالاریا و گروه شاهد اختاف معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۰۱).

بحث:

سرم های تهیه شده در پایان دوره مطالعه و پس از گذراندن دوره کامل درمانی بیماران با روش IFA مورد ارزیابی قرار گرفتند تا موارد مثبت سرولوژیک از طریق پایداری آنتی بادی‌های ضد پلاسمودیوم ویواکس مورد کنکاش قرار گیرند. یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که IFA تنها ۱۹ درصد از مواردی را که با روش میکروسکوپی مثبت شده بودند ردیابی کرده است و در نتیجه ناپایداری آنتی بادی های ضد پلاسمودیومی را در آلودگی مزمن مالاریا تایید نمود. بنابراین میزان آنتی‌بادی ضد پلاسمودیومی پس از تشخیص میکروسکوپی پایداری طولانی نداشته و برای ارزیابی اپیدمیولوژیک آلودگی به مالاریا مناسب نمی‌باشد. در نتیجه برای بررسی راهکارهای نظارت و ممانعت از گسترش بیماری، بیماریابی جمعیت منطقه و درمان آنان، بکارگیری روش های دیگر و تحقیقات وسیع تر می تواند کمک موثرتری را داشته باشد.

با توجه به گزارش های منتشر شده، از نقاط ضعف روشهای سرولوژیک می‌توان از محدودیت حضور پادتن بر علیه پلاسمودیوم پس از ابتلا یا پس از آغاز پارازیتمی نام برد (۱۶-۱۴). عیار آنتی بادی در روز سی ام به حداکثر خود می رسد و سپس بصورت ثابت تا چندین هفته بعد از آن نیز باقی می ماند و سپس به آرامی تقلیل پیدا می‌کند، هر چند که وجود واکنش‌های متقاطع ایمونولوژیک (Cross Reaction) در مورد برخی گونه های پلاسمودیوم ها به اثبات رسیده است ولی وجود پادتن های اختصاصی از ویژگی های این روش می باشد (۱۶-۱۰).

از طرفی دیگر وجود ۴ مورد (۱/۶٪) مورد مثبت سرولوژیک با روش IFA در گروه شاهد که با روش میکروسکوپی تشخیص داده نشده‌اند، موید محدودیت های این روش بوده که در هر حال وجود یک میکروسکوپیست مالاریا از ضروریت‌های این روش می‌باشد. با وجود اینکه در زمینه تشخیص آزمایشگاهی مالاریا تحقیقات زیادی انجام گرفته است و روش های مختلف سرولوژیک و مولکولی ارایه شده است، معهذا آزمایش میکروسکوپی گسترش خون هنوز، ساده ترین، متداول ترین و نسبتاً دقیق ترین روش تشخیص آزمایشگاهی بیماری و تعیین نوع پلاسمودیوم می باشد و هنوز هم روش انتخابی و استاندارد طلایی بشمار می‌آید (۱۸،۱۷،۱۰). تحقیقات وسیع تر و ادامه دار و بکارگیری روش‌های تشخیصی مولکولی می تواند در بیماریابی جمعیت مناطق آلوده به مالاریا از جمله منطقه نوار مرزی شمال غرب کشور و بویژه شهرستان پارس‌آباد و حومه، تعیین الگوی انتقال بیماری، تشخیص قطعی نوع انگل و درمان آنان کمک موثرتری داشته باشد.

در دهه اخیر، این منطقه و بویژه ناحیه دریای خزر با ظهور مالاریایی مواجه شده است که به نظر می رسد از طریق آذربایجان، ارمنستان و یا از مناطق جنوبی ایران منشا گرفته باشد. نتیجه این مطالعه که برای ارزیابی وضعیت

کنـــونی مالاریا در شهرستـــان پارس آباد با استفاده از روش های میکروسکوپی و سرولوژیک انجام پذیرفته است، در ارزیابی راهکارهای نظارت و ممانعت از گسترش بیماری با همکاری کشورهای همجوار کمک شایانی خواهد نمود (۱۹،۲۰).

در ارزیابی مقایسه ای این مطالعه با مطالعات پیشین که در کشورهای دیگر (۱۳،۱۷-۱۱) و در استان هـــای بومی مالاریا در ایران (۹،۱۲،۲۱) انجام شـــده است یافته‌های حاصله موید توانمندی محدود روش‌های سرولوژیکی در غربالگری‌های اپیدمیولوژیک می باشد و کاربرد توام این روش با روش‌های دیگر از جمله روش میکروسکوپی و مولکولی مورد تاکید قرار می گیرد. شواهد مبتنی بر یافته های حاصل از این مطالعه، میزان پایداری آنتی بادی را در موارد مثبت میکروسکوپی، برای ارزیابی سروپارازیتولوژیک آلودگی در افراد مبتلا به مالاریا در منطقه پارس آباد مشخص کرده و نتیجتاً به بررسی راهکارهای نظارت و ممانعت از گسترش بیماری کمک شایانی خواهد نمود.

بنابراین، حاصل مطالعات اجرایی از این دست، شناخت بیماری و کنترل آن از طریق بیماریابی و پیش بینی وضعیت اپیدمیولوژیک مالاریا و پایداری آنتی بادی های آن می باشد، بدیهی است که این امر انجام نخواهد شد مگر ظرفیت کشوری و منطقه ای در راستای برنامه ریزی مدون علمی و اجرایی و ارزیابی بهینه از نحوه عملکرد برنامه های پژوهشی، پیشگیری، کنترل و مبارزه با مالاریا تقویت یافته و توسعه یابد. لازم به یادآوری است که در این راستا نبایستی از هیچ کوششی دریغ نمود و این شامل کل اجزای تشکیل دهنده هرم مدیریت بهداشتی کشور می شود (۴،۵،۱۰).

نتیجه گیری:

بر اساس میزان آنتی بادی ضد پلاسمودیومی پس از تشخیص میکروسکوپی پایداری طولانی نداشته و برای ارزیابی اپیدمیولوژیک آلودگی به مالاریا مناسب نمی باشد. در نتیجه برای بیماریابی جمعیت منطقه و درمان آنان، بکار گیری روش های دیگر و تحقیقات وسیع تر می تواند کمک موثرتری داشته باشد.

تشکر و قدردانی:

از آقـای دکتـر مهـدی گویـا ریاسـت محتـرم مرکـز مدیریت بیماری ها بواسطه همکاری های بـی دریغـی کـه در انجام این پـژوهش مبـذول داشـته انـد کمـال سپاسـگزاری را داریم.

منابع:

1. Zaim M. Malaria control in Iran present and future. J Am Mosq Control Assoc. 1987 Sep; 3(3): 392-6.

2. Hommel M, Snewin V, Behr C. 40th forum in immunology discussion. Res Immunol. 1991 Oct; 142(8): 722-35.

3. Edrissian GH. [A review on malaria situation in Iran. J Institute Public Health Res. 2002; 1(1): 50-61.]Persian

4. Ministry of Health and Medical Education. [National program for malaria control. Tehran: Center for Diseases Control Pub. 1988; p: 223-36.]Persian

5. Ministry of Health and Medical Education. National program for malaria control. Tehran: Center for Diseases Control Pub. 2002; p: 86-95.]Persian

6. Edrissian GH, Afshar A, Sayedzadeh A, Mohseni Gh, Satvat MT. Assessment of the response in vivo and in vitro of *Plasmodium falciparum* to sulphadoxine-pyrimethamine in the malarious areas of Iran. J Trop Med Hyg. 1993 Aug; 96(4): 237-40.

7. Edrissian GH. [Antimalarial drugs, treatment and chemoprophylaxis in malaria, drug resistance and chloroquine resistance to *Plasmodium falciparum* in south and southeastern part of Iran. Daroo & Darman J. 1989; 6(3): 35-46.]Persian

8. Assmar M, Terhovanessian A, Jahani MR, Nahrevanian H, Amirkhani A, Piazak N. Molecular epidemiology of malaria disease in endemic areas of Iran. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2003; 34(Suppl 2): 15-19.

9. Zakeri S, Najafabadi ST, Zare A, Djadid ND. Detection of malaria parasites by nested PCR in south-eastern, Iran: evidence of highly mixed infections in Chahbahar district. Malar J. 2002 Feb; 1(1): 1-6.

10. Nahrevanian H, Eskandarian A. [Malariology and malaria parasites. 1st ed. Tehran: Khosravi Med Pub. 2005; p: 12-60.]Persian

11. Snounou G, Viriyakosol S, Jarra W, Thaitong S, Brown KN. Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of high prevalence of mixed infections. Molecular and Biochemical Parasitology. 1993 Apr; 58(2): 283-92.

12. Edrissian GH, Voller A, Zovein Z. Comparison of immunofluorescence and ELISA in the detection of malaria antibodies in southern Iran. Iranian J Public Health, 1979; 8(2): 103-10.

13. Lari FA, Burney MI, Rab MA. Sero-epidemiological survey of malaria by immunofluorescence in Pakistan (District Gujranwala-Punjab). J Pak Med Associ. 1991 Sep; 41(9): 216-19.

14. Miranda IB, Weber C, Fleischmann E, Bretzel G, Loscher T. Validity of malaria diagnosis in nonimmune travelers in endemic areas. J Travel Med. 2008 Nov-Dec; 15(6): 426-31.

15. Kim SH, Nam MH, Roh KH, Park HC, Nam DH, Park GH. Evaluation of a rapid diagnostic test specific for Plasmodium vivax. Trop Med Int Health. 2008 Dec; 13(12): 1495-500.

16. Park JW, Yoo SB, Oh JH, Yeom JS, Lee YH, Bahk YY. Diagnosis of vivax malaria using an IgM capture ELISA is a sensitive method, even for low levels of parasitemia. Parasitol Res. 2008 Aug; 103(3): 625-31.

17. Rawlins SC, Chaillet P, Validum L, Ragoonanansingh RN, Mangru S, Prabhakar P, et al. Evaluation of methods for the laboratory diagnosis of malaria in Guyana. West Indian Med J. 1993 Sep; 42(3): 111-14.

18. Galinski MR, Barnwell JW. Plasmodium vivax: who cares? Malaria J. 2008 Dec; 7(Suppl 1): 9.

19. Nahrevanian H, Gholizadeh J, Farahmand M, Assmar M. Patterns of co-association of C-reactive protein and nitric oxide in malaria in endemic areas of Iran. Mem Inst of Oswaldo Cruz. 2008 Feb; 103(1): 39-44.

20. Nahrevanian H, Gholizadeh J, Farahmand M, Assmar M, Sharifi K, Ayatollahi Mousavi SA, et al. Nitric oxide induction as a novel immunoepidemiological target in malaria-infected patients from endemic areas of the Islamic Republic of Iran. Scan J Clinical and Laboratory Investigation. 2006; 66(3): 201-9.

21. Edrissian GH, Montazemi K, Nasseri AR, Afshar A. Malarial antibodies and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency. Iranian J Pubic Health. 1983; 12(1-4): 9-15.

22. Arevalo-Herrera M, Chitnis C, Herrera S. Current status of *Plasmodium vivax* vaccine. Hum Vaccin. 2009; 6(1): 18.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences

Received: 12/Nov/2008 *Accepted: 21/Aug/2009*

Seroparasitological evaluation of *Plasmodium vivax* malaria and stability of the anti-plasmodial antibodies in Parsabad, Ardabil province

Nahrevanian H (PhD)*[1], Assmar M (PhD)**, Raeisi A (MD)***, Farahmand M (MSc)†, Farzaneh-Nejad Z (BSc)††, Arshi Sh (MD)†††, Sadeghi H (MD)†††, Garousi B (MD)†††, Amdadi D (BSc)●, Saif-Nejad Sh (BSc)●, Kazemi-Asal SM (BSc)●

**Associate professor, Parasitology Dept., Pasteur Institute Tehran, Iran, **Professor, Parasitology Dept., Pasteur Institute, Tehran, Iran, ***Associate professor, Center for diseasecControl, Ministry of Health and Medical Education, †Lecturer of parasitology Dept., Pasteur Institute, Tehran, Iran, †† Parasitology Dept., Pasteur Institute Tehran, Iran, †††Assistant professor, Infectious Diseases Dept., Ardabil Univ. of Med. Sci. Ardabil, Iran, ●Ardabil Univ. of Med. Sci. Ardabil, Iran.*

Background and aim: Malaria is one of the most important parasitic diseases in the world and a major health problem in some areas of Iran. In addition to endemic areas in the south and south-eastern part of Iran, a new threat of *Plasmodium vivax* malaria importation emerged from the Parsabad district, which is located in Ardabil province in the north western part of the country. Malaria in this area may have originated from Azerbaijan, Armenia or southern part of Iran. This study has been carried out to clarify seroparasitological results from Indirect Fluorescence Assay (IFA), stability of antiplasmodial antibodies and its comparison with those of confirmed direct microscopy in Parsabad district during 2003-2005.

Methods: This seroparasitological study has been carried out on 250 samples from malaria infected patients which was previously confirmed by microscopy and treated with routine antimalarial agents, and 250 samples of healthy control with no history of malaria in Parsabad during two years (2003-2005). Sera of collected blood samples were assessed for the presence of anti-plasmodial antibodies using IFA assay. Statistical analysis was applied by using ANOVA and Student's t-tests with Graph Pad Prism.

Results: The results of this study indicated that all blood smears of test group were detected as positive by observation of P. vivax by direct microscopy and no positive smears were found among control group. Moreover, no mixed-infection was observed among collected samples. In addition, serological results revealed that 47 cases (19%) from test group and 4 cases (1.6%) from control group had antibodies against *P. vivax* malaria ($P<0.001$).

Conclusion: The results of this study demonstrated that the rate of anti-plasmodial antibodies is not stable in malaria infected patients which was previously confirmed by microscopy and can not be used for epidemiological evaluation for malaria in this area. Therefore, more investigation is needed for evaluation and detection of the malaria.

Keywords: **Ardabil, Malaria, *Plasmodium vivax*, Seroparasitilogy.**

[1]*Corresponding author:*
Parasitology Dept., Pasteur Institute Tehran, Iran.
Tel:
021-66968855
E-mail:
mobcghn@yahoo.co.uk