گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۳۹۸، دوره ۲۱، صفحه ۱۴۶-۱۴۰

بررسی مولکولی و سرولوژیکی جهت تعیین فاز حاد و مزمن توکسوپلاسموزیس در بیماران مبتلا به HIV

فضل اله شکری (MSc)[۱]، رحمت عباس‌زاده (MSc)[۲]، مصطفی رستم نژاد (Pharm.D)[۳]، سامان حیدری دیگه سرا (MD)[۴]، نادر مرندی (MSc)[۵]، امیر بایرامی کوزه کنان (PhD)[۲]، موسی ابوالحسنی (BSc)[۶]، محمدجواد غروی (PhD)[۲*]

۱-گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲-گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۳-گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴-گروه رادیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۵-گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۶-گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

دریافت: ۹۷/۴/۱۵، اصلاح: ۹۷/۹/۱۳، پذیرش: ۹۷/۱۰/۳

خلاصه

سابقه و هدف: توکسوپلاسما گوندی با عوارض متعددی از جمله مشکلات عصبی، آسیب های چشمی و آنسفالیت در افراد با نقص سیستم ایمنی همراه می باشد. تشخیص زود هنگام این عفونت می‌تواند مدیریت بهتر این بیماری را در پی داشته باشد، لذا این مطالعه با هدف تشخیص توکسوپلاسما گوندی با دو روش سرولوژیکی و مولکولی در افراد مبتلا به HIV انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی به صورت سرشماری، ۱۰۲ بیمار مذکر مبتلا به HIV با میانگین سنی۹/۲±۴۰ سال، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه سرمی برای مطالعه سرولوژیکی با روش ELFA، به منظور تعیین فاز حاد و مزمن و نمونه سلولی با استفاده از روش مولکولی Real time- PCR، جهت تعیین فاز حاد بیماری مورد بررسی قرار گرفت. ارتباط بین گروه‌های سنی و راه انتقال HIV و همچنین گروه سنی با نتیجه آزمایش توکسوپلاسما گوندی بررسی و مقایسه گردید.

یافته‌ها: از ۱۰۲ نمونه مورد بررسی از نظر وجود IgM علیه آنتی ژن توکسوپلاسما گوندی با روش ELFA، تمامی (۱۰۰٪) نمونه ها منفی بود ولی از نظر وجود IgG ضد این انگل، ۴۴ نمونه (۴۳/۱٪) مثبت و ۵۸ نمونه (۵۶/۹٪) منفی گزارش شد. همچنین از ۱۰۲ نمونه تحت بررسی با روش RT-PCR، تمامی (۱۰۰٪) نمونه‌ها از نظر DNA توکسوپلاسما منفی بود. از لحاظ آماری ارتباط معنی داری بین گروه‌های سنی و راه انتقال (p<۰/۰۰۱) و همچنین بین گروه سنی با سطح IgG ضد توکسوپلاسما گوندی مشاهده شد(p<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه استفاده از روش های ELFA–IgM و RT–PCR برای تشخیص بیماری در فاز حاد و ELFA–IgG در فرم مزمن بیماری دارای اهمیت است. با تشخیص فرم مزمن توکسوپلاسموز می توان از درمان‌های پیشگیرانه در بیماران HIV^+ استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: HIV، توکسوپلاسما گوندی، روش سرولوژیکی و مولکولی.

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی یک انگل اجباری داخل سلولی از خانواده اپی‌کمپلسا بوده که در سراسر جهان پراکنده می باشد. این انگل علاوه بر انسان، تعداد زیادی از پستانداران را آلوده نموده و در طیف وسیعی از سلول‌های میزبان تکثیر می‌یابد (۱). در انسان توکسوپلاسموز مادرزادی، سبب عوارض خطرناکی نظیر سقط جنین و مرده‌زایی می گردد و مشکلات عصبی، آسیب های چشمی و آنسفالیت در افراد با نقص سیستم ایمنی (ایدز) را نیز موجب می شود(۴-۲). میزبان نهایی این انگل، گربه سانان هستند که سیکل جنسی در بدن این حیوانات طی می‌شود و میزبان واسط آن انسان و سایر پستانداران می‌باشند(۵). عفونت توکسوپلاسمایی شامل عفونت های حاد و مزمن می‌باشد که علائم بیماری بیشتر در مرحله حاد بروز پیدا می‌کند(۶). در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی، از جمله مبتلایان به HIV، شایع‌ترین تظاهرات بالینی مربوط به درگیری سیستم عصب مرکزی، قلب، ریه و چشم می باشد. یکی از علل مرگ و میر در مبتلایان به ایدز، فعال شدن عفونت‌های مزمن توکسوپلاسمایی در سیستم اعصاب مرکزی بوده که از شایع ترین علل آنسفالیت در این بیماران محسوب می‌شود(۷). با وجود اهمیت توکسوپلاسموزیس، مطالعات بسیار اندکی درباره میزان شیوع توکسوپلاسموز در بیماران مبتلا به HIV انجام شده و تمام مطالعات انجام شده نیز شیوع سرمی توکسوپلاسموز را بررسی

▣ این مقاله حاصل پایان نامه رحمت عباس زاده دانشجوی رشته انگل شناسی و طرح تحقیقاتی به شماره ۱۳۹۶.۴۰۳۸ دانشگاه علوم پزشکی البرز می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر محمدجواد غروی
آدرس: کرج، دانشگاه علوم پزشکی البرز، گروه انگل شناسی. تلفن: ۰۲۶-۳۴۳۴۹۸۰۹
E-mail: Mjgharavi@gmail.com

نموده اند (۱۰–۸). تشخیص سرمی توکسوپلاسموز بخصوص در بیماران با نقص سیستم ایمنی در بسیاری از موارد با نتایج منفی کاذب همراه می‌باشد(۱۲و۱۱)، که تشخیص و درمان دیر هنگام نیز در اکثر مواقع منجر به مرگ بیمار می گردد(۱۳). بر اساس نتایج مطالعات انجام شده استفاده از روش‌های مولکولی از جمله PCR، جهت تشخیص توکسوپلاسما گوندی از خون، مایع آمنیوتیک و جفت از ارزش بالاتری برخوردار می‌باشد(۱۵و۱۴). در مطالعه‌ای که از تکنیک RT-PCR برای تشخیص توکسوپلاسموز استفاده شد، مشخص گردید که این روش از حساسیت و اختصاصیت بالایی برای تشخیص برخوردار می باشد (۱۶).

از آنجاییکه توکسوپلاسما در بیماران مبتلا به HIV صدمات جبران ناپذیری را وارد می کند که در برخی از موارد این ابتلا می تواند منجر به مرگ گردد، تشخیص زود هنگام این عفونت می‌تواند مدیریت بهتر این بیماری را در پی داشته باشد، لذا این مطالعه با هدف تشخیص توکسوپلاسما گوندی با روش سرولوژی ELFA از لحاظ وجود آنتی‌بادی‌های IgM و IgG و همچنین روش مولکولی Real-time PCR از نظر وجود DNA توکسوپلاسما گوندی انجام شد و سپس به مقایسه این دو روش از نظر تشخیص، در افراد مبتلا به HIV پرداخته شد.

مواد و روش ها

جامعه مورد مطالعه: این مطالعه مقطعی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی البرز با کد IR. ABZUMS. PSRC. REC. ۱۳۹۶.۴۰۳۸ بر روی بیماران مبتلا به HIV در زندان قزل حصار کرج انجام شد. با رعایت ملاحظات اخلاقی و اطمینان از محرمانه ماندن اطلاعات و کسب رضایت کتبی از بیماران، افراد بیماری که مبتلا به HIV (HIV^+) بودند، به صورت سرشماری به این مطالعه وارد شدند. تمامی افراد مورد مطالعه مرد و محدوده سنی آنها بین ۲۰ تا ۶۰ سال بود. معیار ورود به این مطالعه، رضایت آگاهانه بیماران HIV^+ و معیارهای خروج از مطالعه شامل؛ نمونه خون لیز شده، فوت، انتقال به زندان یا شهری دیگر و عدم تمایل به همکاری در پژوهش بود. با استفاده از نرم افزار Version 3.1.9.2 GPower و با توجه به مطالعه Rezanezhad و همکاران (۱۷)، با شیوع ۲۱/۱ درصد، سطح اطمینان ۹۵ درصد و خطای ۵ درصد، حجم نمونه ۱۲۸ نفر تعیین گردید. ولی در مطالعه ما با توجه به اینکه، تمام زندانیان HIV^+ به صورت سرشماری وارد مطالعه شدند، فقط ۱۰۲ نفر از آنها تمایل به شرکت در این پژوهش را داشتند، که مورد بررسی قرار گرفتند. از هر بیمار به اندازه ۴ml خون دریافت شده و به درون لوله EDTA دار وارد گردید، سپس نمونه سرمی و سلول های خونی آنها از هم جدا شده و نمونه سرم به منظور بررسی سرولوژیکی با روش ELFA از نظر آنتی‌بادی ضدتوکسوپلاسما گوندی به بخش سرولوژی آزمایشگاه منتقل گردید. همچنین نمونه سلول خون برای استخراج DNA با استفاده از کیت QIAamp DNA Mini Kit که از شرکت QIAGEN تهیه شد، به بخش مولکولی آزمایشگاه منتقل شده و DNA آن با خلوص بالا استخراج گردید و سپس با استفاده از روش مولکولی Real time- PCR از نظر وجود DNA توکسوپلاسما گوندی مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی روش سرولوژیکی: برای انجام آزمایشات ELFA از دستگاه mini VIDAS و از کیت مخصوص ساخت شرکت Biomerieux استفاده شد. کیت مورد نظر حاوی strip(STR) بوده که قسمت‌های مختلف آن شامل:

چاهک ۱: جایگاه سمپل کردن نمونه (sample well)،

چاهک ۲: رقیق کننده سرم (Serum diluents)،

چاهک ۳: بافر پیش ساز محلول شستشو دهنده (Pre-Wash Buffer)،

چاهک ۴–۵–۷–۸: محلول شستشو دهنده (wash buffer)،

چاهک ۶: کونژوگه (Conjugate)،

چاهک ۹: چاهک خالی،

چاهک ۱۰: سوبسترا (Cuvette with Substrate) بود.

ابتدا STR به دمای اتاق رسانده شد و سپس ۱۰۰میکرولیتر از نمونه به چاهک شماره ۱ اضافه گردید. هر STR مربوط به یک نمونه بود و STR در محل مخصوص دستگاه قرار داده شد.

بررسی روش مولکولی: به منظور بررسی مولکولی تشخیص توکسوپلاسما گوندی، DNA از خون استخراج گردید و سپس برای توالی تکراری 529bp از ژن B1توکسوپلاسما گوندی ، پرایمر طراحی شد. توالی پرایمرهای متصل شونده به عنصر 529bp شامل ′5-CACAGAAGGG ACAGAAGT-3′ و ′5-TCGCCTTCATCTACAGTC-3′ می باشد. طول قطعه‌ی تکثیر شده بین این دو پرایمر ۹۴bp است. سیکل های دمایی و زمانی در طی انجام RT-PCR شامل، تکرار ۳۰ سیکل از ^oC ۹۴ به مدت ۳۰ ثانیه، ^oC ۵۵ به مدت ۳۰ ثانیه و ^oC ۷۲ دمای برای ۳۰ ثانیه و در نهایت final extension به مدت ۵دقیقه در ^oC ۷۲ انجام شد. برای انجام واکنش از دستگاه Real-time از شرکت Sacace استفاده شد و به منظور تعیین صحت واکنش‌ها از کنترل مثبت و منفی استفاده گردید.

پارامتر های اپیدمیولوژیک: در این مطالعه پارامترهای اپیدمیولوژیک مثل راه‌های انتقال آلودگی، سن و راه‌های تشخیص بالینی توکسوپلاسموز بررسی شد. داده‌ها پس از انتقال به نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی (شامل میانگین، انحراف معیار و درصد) و تحلیلی (آزمون کای دو) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p<۰/۰۵$ معنی دار درنظر گرفته شد.

یافته ها

روش سرولوژیکی: از ۱۰۲ نمونه بررسی شده از نظر وجود IgM ضد توکسوپلاسما گوندی با روشELFA، تمامی(۱۰۰٪) نمونه ها منفی بوده ولی از نظر IgG ضد توکسوپلاسما گوندی ۴۴ نمونه (۴۳/۱٪) مثبت و ۵۸ نمونه (۵۶/۹٪) منفی بود (جدول ۱).

روش مولکولی: از ۱۰۲ نمونه تحت بررسی با RT-PCR، تمامی(۱۰۰٪) نمونه‌ها از نظر DNA توکسوپلاسما منفی بود. در نمودار شماره ۱، نتایج به دست آمده از دو روش سرولوژی و مولکولی مورد مقایسه قرار گرفت. طبق مطالعه ما بیشترین راه انتقال آلودگی ویروس HIV از طریق تزریق با سرنگ آلوده (۵۴/۹٪) بود و انتقال از طریق چاقوی آلوده نیز (۰/۹۸٪) کمترین میزان انتقال را به همراه داشته است(جدول ۲). میانگین ن افراد ۹/۲±۴۰ سال بود. با استفاده از آزمون کای دو ارتباط بین گروه‌های سنی و راه انتقال HIV ($p<۰/۰۰۱$) و همچنین بین گروه سنی با سطح IgG ضد توکسوپلاسما گوندی ($p<۰/۰۰۱$) معنی دار بود. بیشترین میزان آلودگی به HIV در سنین ۳۹–۳۰ سال (۴۱/۲٪) مشاهده گردید(جدول ۳). از بین افراد تحت بررسی، ۲۷ نفر ضمن آلودگی به HIV به HCV (۲۶/۴٪)، ۴

نفر به سل (TB) (۳/۹٪)، ۱ نفر به هپاتیت B (HBV) (۰/۹۸٪) و ۳ نفر نیز هم زمان به هپاتیت C (HCV) و TB (۲/۹۴٪) مبتلا بودند.

جدول ۱. مقایسه فراوانی آلودگی به توکسوپلاسما گوندی با دو روش سرولوژی و ملکولی

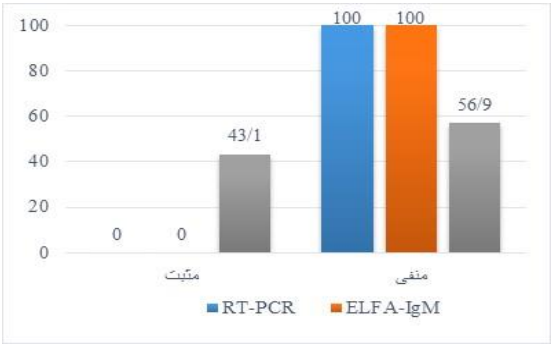
نتایج / روش سنجش	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)
RT-PCR	۰(۰)	۱۰۲(۱۰۰)	۱۰۲(۱۰۰)
ELFA-IgM	۰(۰)	۱۰۲(۱۰۰)	۱۰۲(۱۰۰)
ELFA-IgG	۴۴(۴۳/۱)	۵۸(۵۶/۹)	۱۰۲(۱۰۰)

جدول ۲. فراوانی راه‌های انتقال بیماری ایدز در افراد مورد بررسی در مطالعه

روش انتقال	تعداد(درصد)
تزریق	۵۶(۵۴/۹)
رابطه پر خطر	۳۴(۳۳/۳۳)
خالکوبی	۹(۸/۸۳)
ژیلت آلوده	۲(۱/۹۶)
چاقوی آلوده	۱(۰/۹۸)
جمع	۱۰۲(۱۰۰)

جدول ۳. شیوع میزان ایدز در گروه های سنی مورد مطالعه

گروه سنی	افراد HIV^+ تعداد(درصد)
۲۰-۲۹	۳۳(۳۲/۴)
۳۰-۳۹	۴۲(۴۱/۲)
۴۰-۴۹	۱۹(۱۸/۶)
>۵۰	۸(۷/۸)



نمودار ۱. مقایسه توزیع آلودگی به توکسوپلاسما گوندی با دو روش سرولوژی و RT-PCR

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر با استفاده از روش ELFA، آنتی بادی IgM ضد توکسوپلاسما صفر درصد و آنتی بادی IgG ۴۳/۱درصد می باشد که این مورد نشان‌دهنده آلودگی قبلی با این انگل است. همچنین این مطالعه نشان‌دهنده این مورد است که روش IgM– ELFA و RT– PCR برای تشخیص بیماری در فاز حاد می تواند ارجحیت داشته باشد. Shafiei و همکاران در مشهد با روش الایزا و وسترن بلات شیوع سرمی IgG و IgM را در افراد HIV^+ به ترتیب ۳۸/۰۱ ٪ و ۲/۵ ٪ گزارش کردند (۱۰). Rahimi و همکاران در مازندران با روش الایزا شیوع سرمی IgG ضد توکسوپلاسما در افراد HIV^+ را ۹۶/۳ ٪ گزارش کردند. ضمن این که هیچکدام از نمونه ها از نظر IgM مثبت نبود (۱۸). Ahmadpour و همکاران در یک مطالعه متاآنالیز شیوع سرمی توکسوپلاسما را در افراد HIV^+ در ایران ۵۰/۰۵٪ گزارش کردند (۱۹).

Davarpanah و همکاران در شیراز شیوع سرمی IgG ضد توکسوپلاسما را در افراد HIV^+ با روش الایزا ۱۸/۲۶٪ گزارش کردند (۹). در مطالعه‌ای که Chemoh و همکاران در تایلند با روش الایزا انجام دادند شیوع سرمی IgG ضد توکسوپلاسما درافراد HIV^+، ۳۶/۳٪ گزارش شد (۲۰). Walle و همکاران در شمال اتیوپی شیوع سرمی IgG و IgM ضدتوکسوپلاسما در افراد HIV^+ را با روش الایزا به ترتیب ۸۷/۴٪ و۱۰/۴٪ گزارش کردند (۲۱). با مرور تعدادی از مطالعات گذشته در ارتباط با توکسوپلاسما گوندی در افراد HIV^+ به این نتیجه می‌رسیم که میزان شیوع توکسوپلاسموز در مناطق مختلف جهان و حتی ایران متفاوت است و این تفاوت ناشی از سطح بهداشت، مصرف گوشت خام، وجود رطوبت بالا، آلوده نمودن محیط توسط گربه به عنوان میزبان نهایی این انگل و ... می‌باشد (۲۲و۱۸). همانطور که در مطالعه حاضر بین سن افراد و سطح آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی ارتباط معنی داری وجود دارد، در بررسی Jones و همکاران نیز مشخص شد که بین آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی و سن افراد ارتباط وجود دارد (۲۳). از ویژگی های مطالعه حاضر می‌توان به این مهم اشاره کرد که برای اولین بار در استان البرز صورت پذیرفت. همچنین از موارد دیگر، انتخاب روش سرولوژی ELFA است که دارای حساسیت و ویژگی بالا نسبت به روش های الایزا، کمی لومینسانس و ایمونوفلورسانس می‌باشد (۲۴).

روش اتوماتیک ELFA به دلیل تکرار پذیری بالا، صرفه جویی در زمان و هزینه کمتر، روش مناسبی ارزیابی می شود (۲۵). همچنین در این مطالعه از تکنیک RT-PCR استفاده شد. در این روش از قطعه تکرار شونده 529pb استفاده می شود که از حساسیت بالایی در تشخیص DNA توکسوپلاسما برخوردار است(۲۶). لذا در این مطالعه می توان به مقایسه دو روش مولکولی و سرولوژیکی به منظور تشخیص توکسوپلاسما گوندی پرداخت. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش میزان آلودگی افراد HIV^+ به توکسوپلاسما گوندی با روش ELFA–IgG بیشتر از روش RT–PCR بود و نشان‌دهنده این مهم است که هیچکدام از افراد مورد بررسی عفونت حاد نداشتند و قبلاً با این عفونت در تماس بودند. همچنین نتایج ELFA– IgM تاکیدی بر این است که در هیچکدام از نمونه‌های مورد بررسی، عفونت فعال وجود ندارد. وجود آنتی بادی IgG ضد توکسوپلاسما گوندی نشان‌دهنده شکل مزمن بیماری می‌باشد و شاخصی برای بررسی میزان گسترش توکسوپلاسموز است. آزمایش‌های سرولوژیکی کمک می‌کند تا به شناسایی بیماران HIV^+ بپردازیم که آنتی بادی IgG آنها مثبت است و مستعد آنسفالیت هستند (۲۷). در این راستا روش تشخیصی که دارای حساسیت و تکرار پذیری بالا باشد و در زمان کم نتیجه دهد، می‌تواند بسیار مفید باشد. IgG منفی به همراه IgM منفی نشان‌دهنده در معرض قرار نگرفتن فرد به انگل توکسوپلاسما گوندی و عدم ایمنی‌زایی می‌باشد. باید اشاره شود که عفونت حاد در افراد HIV^+ که مواجهه قبلی با توکسوپلاسما گوندی نداشتند به خوبی کنترل نمی‌شود واین افراد مستعد عوارض ثانوی خواهند بود(۲۸). بنابراین بررسی آزمایش های سرولوژیکی به خصوص

ELFA که برای سنجش IgM بسیار مناسب است، به منظور شناسایی افرادی که قبلا در معرض این انگل نبوده اند نیز حائز اهمیت است. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و پژوهش های مشابه، توکسوپلاسما گوندی یکی از انگل های شایع در بین بیماران HIV^+ می‌باشد و عوارض کشنده را به دنبال دارد. بنابراین استفاده از روش‌های ELFA–IgM و RT– PCR برای تشخیص بیماری در فاز حاد و همچنین تست سرولوژیکی ELFA–IgG در فرم مزمن بیماری به منظور غربالگری بیماران HIV^+ حائز اهمیت است. با تشخیص فرم مزمن توکسوپلاسموز می‌توان از درمان‌های پیشگیرانه به منظور جلوگیری از بروز عوارضی مثل آنسفالیت در بیماران HIV^+ استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مسئولین زندان قزل حصار و پرسنل آزمایشگاهی آن که همکاری‌های لازم جهت انجام این مطالعه داشتند، تقدیر و تشکر می گردد.

Molecular and Serological Techniques to Determine the Acute and Chronic Phase of Toxoplasmosis in HIV Patients

F. Shokri (MSc)[1], R. Abbaszadeh (MSc)[2], M. Rostamnezhad (Pharm.D)[3], S. Heidari Digesara (MD)[4], N. Marandi (MSc)[5], A. Bairami Kuzehkanan (PhD)[2], M. Abolhassani (BSc)[6], M.J. Gharavi (PhD) *[2]

1.Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
2.Department of Medical Parasitology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, I.R.Iran
3.Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
4.Department of Radiology, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, I.R.Iran
5.Department of Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R.Iran
6.Department Of Epidemiology, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 21; 2019; PP: 140-6
Received: July 6th 2018, Revised: Dec 4th 2018, Accepted: Dec 24th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Toxoplasma gondii is associated with several complications including neurological problems, ocular damage and encephalitis in immunodeficiency individuals. Early diagnosis of this infection can lead to better management of this disease. Therefore, this study was conducted to determine the presence of Toxoplasma gondii with two serologic and molecular methods in HIV-infected individuals.

METHODS: In this cross-sectional study, 102 male patients with HIV with a mean age of 40 ± 9.2 years were examined. The serum sample was used for ELISA to determine the acute and chronic phase and cellular samples using Real Time-PCR for determining the acute phase of the disease. The relationship between age groups and the HIV transmission pathway, as well as the age group, was compared with the results of the Toxoplasma gondii test.

FINDINGS: Out of 102 samples tested for IgM anti-Toxoplasma gondii antigen by ELFA, all (100%) samples were negative, but for anti-IgG anti-parasite, 44 samples (43.1%) were positive and 58 Sample (56.9%) was negative. Out of 102 samples tested by RT-PCR, all (100%) samples were negative for Toxoplasma DNA. There was a statistically significant relationship between age groups and transmission pathways ($p<0.001$), as well as between age groups with anti-Toxoplasma gondii IgG levels ($p<0.001$).

CONCLUSION: According to the results of this study, the use of IgM-ELFA and PCR-RT methods for the diagnosis of acute phase and IgG-ELFA in the chronic phase of the disease is important. With the diagnosis of chronic form of toxoplasmosis, preventive treatments can be used in HIV + patients.

KEY WORDS: *HIV, Toxoplasma Gondii, Serological and Molecular Methods*.

Please cite this article as follows:

Shokri F, Abbaszadeh R, Rostamnezhad M, Heidari Digesara S, Marandi N, Bairami Kuzehkanan A, Abolhassani M, Gharavi MJ. Molecular and Serological Techniques to Determine the Acute and Chronic Phase of Toxoplasmosis in HIV Patients. J Babol Univ Med Sci. 2019;21:140-6.

***Corresponding Author: M.J. Gharavi (PhD)**
Address: Department of Parasitology, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, I.R.Iran
Tel: +98 26 34349809
E-mail: Mjgharavi@gmail.com

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; 8:751-62.

2.Mohraz M, Mehrkhani F, Jam S, Seyed Alinaghi SA, Sabzvari D, Fattahi F, et al. Seroprevalence of toxoplasmosis in HIV (+)/AIDS patients in Iran. Acta Med Iran. 2011; 49(4): 213-8.

3.Daryani A, Sharif M, Meigouni M. Seroprevalence of IgG and IgM anti—Toxoplasma antibodies in HIV/AIDS patients, northern Iran. Asian Pacific J Trop Med. 2011; 4(4): 271-4.

4.Moncada PA, Montoya JG. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment. Expert Rev Anti Infect Ther. 2012; 10(7): 815-28.

5.Weiss LM, Kim K. Toxoplasma Gondii, 2nd ed. Chapter 1: The history and life cycle of Toxoplasma gondii. Dubey JP [Author]. Academic Press; 2014; 1-17

6.Fong MY, Wong KT, Rohela M, Tan LH, Adeeba K, Lee YY, et al. Unusual manifestation of cutaneous Toxoplasmosis in a HIV-positive patient. Trop Biomed. 2010; 27(3):447-50.

7.Rugină S, Dumitru IM, Dumitru E. Toxoplasmosis in immunocompetent and immunocompromised population of Constanța, Romania. ARS Medica Tomitana. 2015;21(1): 22-6.

8.Mostafavi SN, Monfared LJ. Toxoplasmosis Epidemiology in Iran: A Systematic Review. J Isfahan Univ Med Sci. 2012; 30(176): 74-88. [In Persian]. Available from: http://jims.mui.ac.ir/index.php/jims/article/view/1344

9.Davarpanah MA, Mehrabani D, Neirami R, Ghahremanpoori M, Darvishi M. Toxoplasmosis in HIV/AIDS patients in Shiraz, southern Iran. Iran Red Crescent Med J. 2007; 9(1): 22-7.

10.Shafiei R, Riazi Z, Sarvghad M, Galian Sharifdini M, Mahmoodzadeh A, Hajia M. Prevalence of IgG and IgM anti-Toxoplasma gondii antibodies in HIV positive patients in northeast of Iran. Iran J Pathol. 2011;6(2):68-72. [In Persian]

11.Montoya JG. Laboratory Diagnosis of Toxoplasma gondii Infection and Toxoplasmosis. J Infect Dis. 2002; 185(Suppl 1):S73–82.

12.Wilson M, Jones JL, McAuley JB. Toxoplasma. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Yolken RH, editors. Manuel of clinical microbiology, 8th ed. Washington DC: ASM Press; 2003. p. 1970–80.

13.Yan J, Huang B, Liu G, Wu B, Huang S, Zheng H, et al. Meta-analysis of prevention and treatment of toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients. Acta Trop. 2013; 127(3): 236-244.

14.Slawska H, Pendzich J, Czuba B, Mazurek U, Gola J, Wilczok T, et al. Detection of Toxoplasma gondii DNA by PCR in mother's blood, amniotic fluid and child's blood in selected cases of pathological pregnancy. Wiad Parazytol. 2001 ; 47(suppl 1): 99-105.

15.Ghasemi FS, Rasti S, Piroozmand A, Bandehpour M Kazemi B. Toxoplasmosis-associated abortion and stillbirth in Tehran, Iran. J Matern Fetal Neonatal Med.2016; 29(2):248-51.

16.Travaillé E, La Carbona S, Gargala G, Aubert D, Guyot K, Dumètre A, et al. Development of a qRT-PCR method to assess the viability of Giardia intestinalis cysts, Cryptosporidium spp. and Toxoplasma gondii oocysts. Food Cont. 2016;59:359-65.

17.Rezanezhad H, Sayadi F, Shadmand E, Nasab SD, Yazdi HR, Solhjoo K, et al. Seroprevalence of Toxoplasma gondii among HIV Patients in Jahrom, Southern Iran. Korean J Parasitol. 2017 Feb;55(1):99-103.

18.17.Rahimi MT, Mahdavi SA, Javadian B, Rezaei R, Moosazadeh M, Khademlou M, et al. High seroprevalence of Toxoplasma gondii antibody in HIV/AIDS individuals from North of Iran. Iran J Parasitol. 2015;10(4):584-9.

19.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; 8(12):1503-10.

20.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;6: 1304.

21.Walle F, Kebede N, Tsegaye A, Kassa T. Seroprevalence and risk factors for Toxoplasmosis in HIV infected and non-infected individuals in Bahir Dar, Northwest Ethiopia. Parasit Vectors. 2013;6(1):15.

22.Zaini RG, Ismail KA, Dahlawi H. Seroprevalence of Toxoplasma gondii among AIDS Patients in Saudi Arabia. World J AIDS. 2016;6(3):81-6.
23.Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M. Toxoplasma gondii infection in the United States, 1999–2000. Emerg Infect Dis. 2003;9(11):1371-4.
24.Gharavi M, Ourmazdi H, Gharegouzlou B, Roointan ES. A Comparative study of the sensitivity and specificity of IgM and IgG assay techniques in the diagnosis of toxoplasmosis. Razi J Med Sci. 2008;14(57):143-9.[In Persian]
25.Gharavi MJ, Oormazdi H, Roointan ES. A comparative study on sensitivity and specificity of conventional and unconventional IgG and IgM assays for diagnosis of Toxoplasmosis. Iran J Pub Health. 2008;37(4):42-5.
26.Edvinsson B, Lappalainen M, Evengård B. Real-time PCR targeting a 529-bp repeat element for diagnosis of toxoplasmosis. Clin Microbiol Infect. 2006;12(2):131-6.
27.Contini C. Clinical and diagnostic management of toxoplasmosis in the immunocompromised patient. Parassitologia. 2008; 50(1-2): 45-50.
28.Gellin BG, Soave R. Coccidian infections in AIDS. Toxoplasmosis, cryptosporidiosis, and isosporiasis. Med Clin North Am. 1992;76(1):205-34.