مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۳، شماره۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۷(شماره پی در پی۱۳۱)

Arch

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

شناسایی ساب تایپ‌های بلاستوسیستیس نمونه‌های انسانی با استفاده از ژن 18s rRNA در شمال غرب ایران

جلال محمدی[۱]، جمال حلاج زاده[۲]، مهرداد رستمی[۳]، هادی میراحمدی[۴]، فارس بهرامی[۵]، رضا شفیعی[۶]، آرزو بزرگ‌امید[۷]، صابر رائقی[۲*]

[۱]معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، [۲]گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران، [۳]کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران،[۴]مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران، [۵]مرکز تحقیقات بیماری‌های مشترک انسان و حیوان، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، [۶]گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران، [۷]گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی اسدآباد، اسدآباد، ایران

تاریخ وصول : ۱۳۹۷/۴/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۴

چکیده

زمینه و هدف: بلاستوسیستیس تک یاخته‌ای بی‌هوازی است که در دستگاه گوارش انسان زندگی کرده و می‌تواند به عنوان یک انگل زئونتیک در میزبان‌های مختلفی نیز وجود داشته باشد. این مطالعه در جهت شناسایی ساب تایپ‌ها و بررسی تنوع ژنتیک بلاستوسیستیس از نمونه‌های انسانی شهرستان‌های ارومیه، تبریز و مراغه در شمال غرب ایران انجام گرفته است.

روش بررسی: در این مطالعه که به روش توصیفی ـ مقطعی است، ۳۰۰ نمونه مدفوع انسانی که از بهمن ماه ۱۳۹۵ تا مهرماه ۱۳۹۶ به صورت تصادفی و جهت غربالگری به مراکز بهداشتی و درمانی مراجعه کرده بودند، انتخاب و پس از مطالعه مستقیم میکروسکوپی مدفوع، ۱۶ مورد ایزوله به دست آمده که با روش DNA barcoding بررسی شدند. براساس روش‌های بیوانفورماتیکی سکانس محصولات به دست آمده مورد تحلیل و مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها: از ۳۰۰ نمونه مورد بررسی این مطالعه، تعداد ۲۲ مورد به صورت مطالعه میکروسکوپی آلوده به بلاستوسیستس تشخیص داده شدند. ۱۶ ایزوله متفاوت از موارد مثبت با روش مولکولی(PCR) جدا و سکانس محصولات به دست آمده مورد بررسی قرار گرفتند. ۳ نوع ساب تایپ شامل؛ ST1، ST2 و ST3 در سکانس حاصل از این نمونه‌ها به دست آمد. یکی از نمونه‌های مورد بررسی پس از دوبار سکانس متفاوت، هر دو زیرگونه ST1 و ST3 را داشت، ولی با سکانس مجدد زیرگونه غالب فرد، ST3 گزارش شد.

نتیجه‌گیری: ساب تایپ‌های مختلفی از این انگل در این منطقه وجود دارد. با توجه به ماهیت ساب تایپ‌ها، چرخه زئونوتیک این انگل در منطقه وجود داشته و با شناسایی و تعیین زیرگونه‌های بلاستوسیستیس در میزبان‌های مختلف به عنوان ارگانیسم‌زئونوتیک، می‌توان به نحوه انتقال انگل و مهاجرت‌های ژنتیکی آن دست یافت. به نظر می‌رسد می‌توان با استفاده از الگوی ساب تایپ‌های به دست آمده انگل، در مطالعات آینده، ارتباط آن با علایم بالینی مطرح و مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بلاستوسیستیس، زیرگونه، 18s rRNA، شمال غرب، ایران

***نویسنده مسئول: صابر رائقی**، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران

Email: saberraeghi@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

مقدمه

بلاستوسیستیس تک یاخته‌ای بی‌هوازی است که در دستگاه گوارش انسان و تعداد زیادی از پستانداران، پرندگان، دوزیستان و حشرات زندگی کرده و دارای پراکندگی جهانی می‌باشد(۱). این انگل همانند تنوع در میزبان، می‌تواند از نظر مورفولوژیکی نیز اشکال مختلفی داشته باشد(۳ و۲). انگل‌های بسیاری وجود دارند که جنبه زئونتیک داشته و مشترک بین انسان و حیوان هستند و می‌توانند علایم بالینی مختلفی در انسان ایجاد کنند(۴)، ولی این انگل پتانسیل بیماری‌زایی بالایی داشته و بسیاری از مطالعه‌های این انگل را عامل پاتوژنیک انگلی معرفی کرده‌اند(۵). علایم بالینی بیماری‌زایی مربوط به این انگل غیر اختصاصی بوده و شامل؛ اسهال، کرامپ‌های شکمی‌و تهوع است و در وخامت بالا اسهال آبکی شدید، تب و خستگی است. درد شکم و اسهال شایع‌ترین علایم گزارش شده هستند(۶). گزارش‌هایی نیز از علایمی‌چون خستگی، راش‌های پوستی و دردهای مفصلی است. برخی بیماران نشانه‌های بیماری شدیدی داشته در حالی که در گروهی دیگر فاقد علایم هستند(۷). هرچند موارد بسیار از ناشناخته‌های این انگل و بیماری‌زایی آن وجود دارد. مقاومت کیست این انگل در مقابل آب و انتقال آن در آلودگی غذایی و به وسیله آب در شرایط اضطرار گزارش شده و بلاستوسیستیس به عنوان اندیکاتوری جهت تأیید آلودگی منابع آب به وسیله سازمان بهداشت جهانی معرفی شده است(۸). بر همین اساس انتقال انسان به انسان و حیوان به انسان این انگل مورد بررسی قرار گرفته و با مطالعه خصوصیت ژنوتایپ‌های یا ساب تایپ‌های مختلف این تک یاخته در جهان زئونوتیک بودن این انگل به اثبات رسیده است(۹). زیر گونه‌های مختلفی با توجه به نوع میزبان و بیماری ایجاد شده به وسیله این انگل وجود دارد و می‌توان گفت که احتمالاً زیرگونه ۱(ST1) با بیماری‌زایی این انگل مرتبط است و زیرگونه‌های ۲(ST2) و۳(ST3) این انگل احتمالاً غیر پاتوژن هستند(۱۱ و۱۰). مطالعه‌هایی که امروزه با کمک بررسی‌های توالی زیر واحد کوچک ریبوزومی RNA(SSU rDNA) صورت گرفته بیانگر آن است که ۱۷ ساب تایپ(زیرگونه) در طیف وسیعی از میزبانان وجود دارد. در انسان ساب تایپ‌های ۱ الی ۹ دیده می‌شود و بر اساس مناطق مختلف جغرافیایی شیوع انگل و زیرگونه آن متفاوت است، اما بیشترین زیرگونه مشاهده شده ساب تایپ شماره ۳ می‌باشد(۱۲ و۱۱).

هر چند که روش‌های متنوع مولکولی چون RFLP برای تشخیص بلاستوسیستیس و زیرگونه‌های آن ارایه شده است. ولی امروزه بیشتر پرایمرهای اختصاصی بر اساس قطعه‌ای از ژنوم موجود در SSU rRNA انگل طراحی می‌شوند که از دقت بالایی برای تشخیص این ارگانیسم برخوردار می‌باشند(۱۳). روش PCR(واکنش زنجیره ای پلی‌مراز) برای

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

غربالگری نمونه‌ها از نظر وجود بلاستوسیستیس و همچنین در مطالعه‌های اپیدمیولوژیک روش مناسبی می‌باشد. روش‌های مولکولی جدید دیگری مثل Real time PCR نیز طراحی شدند که با توجه به حساسیت و سرعت عمل و همچنین اختصاصیت بالا شاید بتوان گفت یکی از بهترین روش‌های تشخیص بلاستوسیستیس می‌باشد. این روش می‌تواند ۷۶۰ ارگانیسم را در ۱۰۰ میلی‌گرم مدفوع شناسایی کند(۱۴). با این حال، این روش قادر به شناسایی زیر گونه‌های مختلف انگل نیست. از دیگر روش‌های تشخیص مولکولی روش DNA barcoding است که علاوه بر سرعت در تشخیص از دقت بالایی برخوردار است. در این روش قطعه‌ای از ژن که حدود ۶۲۰ bp اندازه داشته از قسمت SSU rDNA انتخاب نموده، این قطعه مربوط به بلاستوسیستیس است و متمایز از دیگر تک یاخته‌ها است(۱۵).

با توجه به این که این انگل با آلودگی غذایی و آب به انسان منتقل می‌شود و در صورت عدم رعایت مسایل بهداشتی می‌تواند گریبان‌گیر افراد مختلف در هر شغل و موقعیتی گردد. در حال حاضر اطلاع رسانی در مورد این انگل و بیماری‌های احتمالی ناشی از آن در کشور و منطقه جغرافیایی آذربایجان، با توجه به تنوع آب و هوایی و اکولوژی آن کم است، به همین جهت این مطالعه در جهت شناسایی ساب تایپ‌ها و بررسی تنوع ژنتیک بلاستوسیستیس از نمونه‌های انسانی در شمال‌غرب ایران انجام گرفته است.

روش بررسی

در این مطالعه که به روش توصیفی_ مقطعی است، ۳۰۰ نمونه مدفوع انسانی که از بهمن ماه ۱۳۹۵ تا آبان ماه ۱۳۹۶ که جهت غربالگری به مراکز بهداشتی درمانی شهرستان‌های ارومیه، تبریز و مراغه فرستاده شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس بررسی‌های روتین آزمایشگاهی هر مرکز بررسی ماکروسکوپی مدفوع، وجود لارو، بند کرم و بررسی تک یاخته‌های پاتوژن و نان پاتوژن روده‌ای نیز مورد بررسی قرار می‌گرفت. مطالعه میکروسکوپی نمونه مدفوع با روش مستقیم به همراه یک قطره سرم فیزیولوژی و یا لوگل بر روی یک لام انجام و تروفوزوئیت و کیست تک یاخته‌ها در صورت وجود مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. DNA نمونه‌های مثبت با استفاده از کیت شرکت سیناژن(Cinnagen) استخراج و با استفاده از پرایمرهای طراحی و استفاده شده در مطالعه‌های(ATCTGGTTGATCCTGCCAGT) RD5 و BhRDr(GAGCTTTTTAACTGCAACG) و روش مولکولی مورد استفاده در منابع، نواحی مختلفی از زیر واحد کوچک ریبوزومی(18S rRNA) که حدود ۶۲۰ جفت باز داشته و اختصاصی بلاستوسیستیس است، مورد تکثیر قرار گرفت(۱۶و ۱۲). جهت وارد کردن توالی DNA نمونه‌ها در بانک ژن، تنظیم توالی، مطابقت کردن نوکلئوتیدها با کروماتوگرافی هر نمونه و نیز تعیین میزان شباهت هر نمونه با نمونه دیگر، از نرم‌افزار SequencherTm 4.1.1 software (Gene Codes

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

(Corporation و Choromas 2.2 استفاده و موارد ابهام در آنها طبق الگوی کار هر نرم افزار تصحیح شد. برای یکسان سازی سکانس و توالی‌ها از نرم‌افزار آنلاین multalin و نرم افزار Bioedite استفاده شد. هم‌چنین برای نشان دادن ارتباط بین ساب تایپ‌های به دست آمده بر اساس ژن‌های 18s rRNA برای نمونه‌های بلاستوسیستیس به دست آمده، درخت فیلوژنتیک با مدل Kimura2-parameter بر پایه MaximumLikelihood، بوت استرپ رپلیکاسیون[1] ۱۰۰۰ و مقیاس فاصله ۰/۱ با استفاده از نرم افزارMEGA6 ترسیم شد(۱۷).

یافته‌ها

از ۳۰۰ نمونه مورد بررسی ۲۲ نفر به صورت مستقیم آلوده به بلاستوسیستس تشخیص داده شدند. بدون این که محیط کشتی برای تقویت بلاستوسیست‌ها مورد استفاده قرار گیرد، ۱۶ ایزوله متفاوت از موارد مثبت با روش مولکولی(PCR) جدا و سکانس محصولات به دست آمده مورد بررسی قرار گرفتند. ۳ سابتیپ(ST) شامل؛ ST1، ST2 و ST3 در سکانس حاصل از این نمونه‌ها مطابق جدول ۱ به دست آمد. یکی از نمونه‌های مورد بررسی پس از دوبار سکانس متفاوت، هر دو زیرگونه ST1 و ST3 را داشت، ولی با سکانس مجدد زیرگونه غالب فرد ST3 گزارش شد.

تفاوت نوکلوئتیدی این سکانس‌ها با استفاده از نرم‌افزار multalin به صورت شکل ۱ است. ارتباط بین ساب تایپ‌های به دست آمده بر اساس ژن‌های 18s rRNA برای نمونه‌های به دست آمده در درخت فیلوژنتیک ترسیم شد. ارزش اعتبار سنجی بالای ۷۰ درصد با درجه اطمینان ۹۵ درصد برای توپولوژی هر شاخه قابل قبول در نظر گرفته شد(شکل۱). سکانس‌های به دست آمده در این مطالعه با نمونه‌های مشابه در GeneBank مطابقت داده شد و در بانک ژن جهانی با شماره MG515328 تا MG515343 ثبت شد.

جدول ۱: درصد و فراوانی ساب تایپ‌های به دست آمده بلاستوسیستیس در این مطالعه

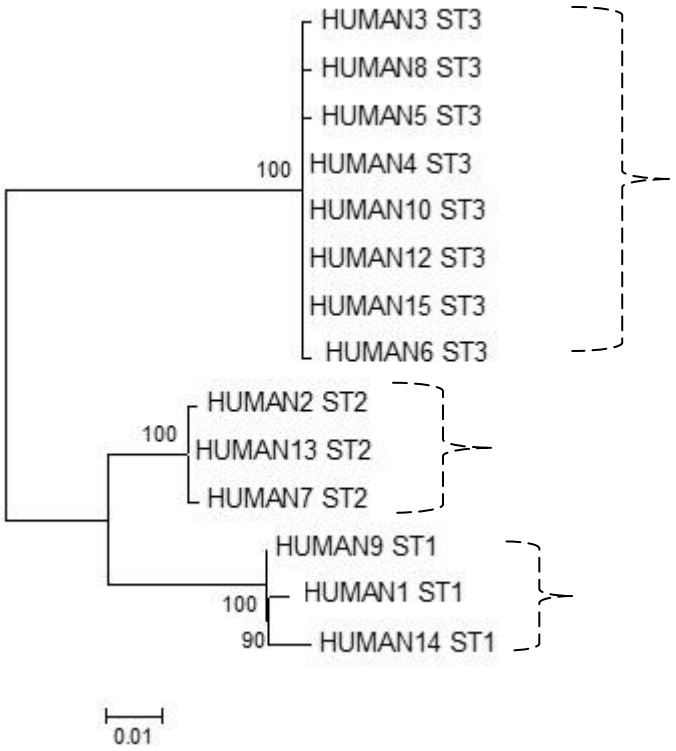
ساب تایپ	(درصد)تعداد	Accession no
ST1	۶(۱۸/۷۵)	MG515328, MG515336, MG515341
ST2	۶(۱۸/۷۵)	MG515329, MG515334, MG515340
ST3	۱۰(۶۲/ ۵)	MG515330, MG515331, MG515332, MG515333, MG515335, MG515337, MG515338, MG515339, MG515342, MG515343

1-Bootstrap replication

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020



شکل ۱: درخت فیلوژنیک ساب تایپ‌های به دست آمده بر اساس ژن‌های 18s rRNA برای نمونه‌های بلاستوسیستیس این مطالعه با مدل Kimura2-parameter بر پایه MaximumLikelihood و مقیاس فاصله ۰/۰۱ با استفاده از نرم‌افزار MEGA6

بحث

بلاستوسیستیس ارگانیسمی پلیمرفیک است که از میزبانهای مختلفی جدا شده و مطالعات در مناطق مختلف جهان حاکی از انتقال آن بشکل زئونوز به انسان می باشد. این مطالعه در جهت شناسایی ساب تایپ‌ها و بررسی تنوع ژنتیک بلاستوسیستیس از نمونه‌های انسانی شهرستان‌های ارومیه، تبریز و مراغه در شمال غرب ایران انجام گرفته است.

تک یاخته بلاستوسیستیس از شایع‌ترین انگل‌های روده ای در دنیا است و گفته می‌شود که حدود یک میلیارد نفر در سراسر دنیا به این انگل مبتلا هستند(۱۸). این انگل نیز با ساب تایپ‌های ۱، ۲ و ۳ در نمونه‌های مورد بررسی در این منطقه وجود دارد. سطح پایین بهداشتی ریسک بیشتری برای ابتلاء این انگل است(۶).

شیوع بلاستوسیستیس در مناطق مختلف دنیا با توجه به شرایط آب و هوایی هر منطقه، وجود شرایط بهداشتی آب آشامیدنی سالم و سیستم دفع بهداشتی و صحیح فاضلاب، سطح بهداشتی و دانش عمومی جامعه، میزان آگاهی و رعایت اصول بهداشتی به وسیله مردم، و روش‌های تشخیصی مختلف و دقیق در تشخیص عفونت متفاوت است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

اکثر مناطق جغرافیایی در شمال غرب ایران به عنوان قطب کشاورزی و دامداری محسوب می‌شود. تا جایی که این شیوع در ایران ۳ درصد(۱۰) و در کشورهای دیگر نظیر ترکیه و چین حدوداً ۱۴/۶ درصد و ۳۲/۶ درصد گزارش شده است(۲۰ و ۱۹) با توجه به این نکات در این مطالعه به دنبال شیوع و بررسی ویژگی‌های دموگرافیکی در ارتباط با این انگل نبودیم، بلکه بررسی ساب تیپ‌های انگلی که می‌تواند منشأ عفونت متفاوت داشته باشد مورد بررسی قرار دادیم. شاید به نوعی نتایج این مطالعه می‌تواند زمینه‌ساز بررسی مطالعه ژنتیکی این انگل در شمال‌غرب ایران در میزبان‌های حیوانی جهت تبیین وضعیت زئونتیک انگل باشد.

ساب تایپ‌های ۲ و ۳ این انگل(ST3،ST2) اغلب در انسان یافت می‌شوند، در حالی که ST1 می‌تواند منشأ حیوانی داشته و خاصیت زئونتیک داشته و عمدتاً از حیوان‌های اهلی به انسان منتقل می‌شود. بیشترین فراوانی زیر گونه‌های بلاستوسیستیس بررسی شده در این مطالعه ST3 و ساب‌های ST1 و ST2 به تعداد مساوی جدا شدند، لذا می‌توان گفت چرخه انتقال انگل در این منطقه از کشور زئونوتیک نیز هست. به نظر می‌رسد برای اثبات این موضوع نیاز است منابع مختلف حیوانی نیز مورد بررسی قرار گیرد. نتایج به دست آمده در این مطالعه با بررسی ملونی و همکاران در ایتالیا مشابه بوده و ST3 بیشترین فراوانی را داشته است(۲۱). در مطالعه El Safadi تمام نمونه‌های بلاستوسیستیس انسانی به صورت مستقیم مطالعه و ساب تایپ‌های ۱ تا ۳ فراوانی مشابه داشتند(۲۲).

در مطالعه دورمان و همکاران با روش مشابه ST3 را به عنوان زیرگونه غالب این انگل در ترکیه معرفی و زیرگونه‌های ۱و ۲ در مقام‌های بعدی قرار گرفتند. هر چند در این مطالعه به دنبال بررسی ارتباط میان ST2 و وجود علایم بالینی بودند که ارتباطی میان آنها یافت نشد(۲۳).

به جز سه ساب‌تایپ به دست آمده در این مطالعه، ساب‌تایپ‌های دیگری به دست نیامد. مطالعه‌هایی در نقاط مختلف دنیا نیز وجود دارد که زیرگونه ST4 و یا ST1 را به عنوان زیرگونه‌های آن مناطق و مطالعه معرفی کرده‌اند که نتایج مطالعه ما با این بررسی‌ها متفاوت است(۲۵ و۲۴). گفته می‌شود این تغییرات و تنوع نتایج می‌تواند به علت تنوع اکولوژیکی و زندگی میزبان باشد.

در مطالعه حاضر در یکی از نمونه‌های مورد بررسی پس از دوبار سکانس متفاوت، هر دو زیرگونه ST1 و ST3 از فردی جدا شد. هرچند عفونت هم‌زمان در حیوان‌های بیشتر گزارش شده است(۲۶)، ولی با سکانس مجدد زیرگونه غالب فرد ST3 گزارش شد.

در ایران نیز در مطالعه‌های مختلف علی‌رغم گزارش سایر زیرگونه‌های تعریف شده در این مطالعه، هم‌خوانی ساب‌تایپ‌های این مطالعه و سایر مطالعه‌های ایرن وجود دارد که نشان دهنده الگوی طبیعی انتقال این بیماری از انسان به انسان یا حیوان به انسان است(۱۶ و ۱۲، ۱۰).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

آن چه که از بررسی‌های محققین در سال‌های اخیر حاصل شده است، نشانگر اختصاصیت محدود زیرگونه‌های بلاستوسیستیس با میزبان است که شاید به دلیل چرخه انتقال آسان و گستردگی میزبانان این انگل باشد، بر اساس مطالعه‌های انجام شده در دنیا، ۱۷ زیرگونه از بلاستوسیستیس از میزبان‌های مختلف جدا شده است. زیرگونه‌های۹ــ۱ در انسان مشاهده شده که زیرگونه ۴ــ۱ بیشتر گزارش شده است. زیرگونه ۳ علاوه بر انسان از خوک و گاو، زیرگونه ۵ بیشتر از گاو و خوک و کمتر از انسان و زیرگونه ۴ بیشتر از جوندگان جدا شده است(۲۷).

با توجه به وجود زیرگونه‌های اختصاصی انسان و حیوانی بررسی علایم بالینی اختصاصی و غیر اختصاصی این انگل نیز مورد مطالعه قرار گرفته است. هر چند به راحتی نمی‌توان این علایم را نسبت به حضور و ژنتیک این انگل ارتباط داد(۱۶). به نظر می‌رسد می‌توان با استفاده از علایم بالینی و ساب تایپ‌های به دست آمده از این انگل در مطالعه‌های آینده ارتباط کلینیکی و علایم بالینی را مطرح و مورد بررسی قرار داد.

پیشنهاد می‌شود با استفاده از روش‌های دقیق آزمایشگاهی، شناسایی مولکولی و مورفولوژیکی این انگل در نقاط مختلف در مطالعه‌های دیگر بررسی و نقشه فیلوژنتیکی آن تهیه و نتایج آن با ایزوله‌های حیوانی آن مناطق مورد مقایسه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

چرخه زئونتیک این انگل در منطقه مورد بررسی این مطالعه وجود دارد. با شناسایی و تعیین زیرگونه‌های بلاستوسیستیس در میزبان‌های مختلف به عنوان ارگانیسمی زئونتیک با گستره شیوع فراوان، می‌توان به جلوگیری از ایجاد بیماری و عوارض حاصل از آن و نیز به قطع چرخه انتقال دست یافت، چرا که چنین به نظر می‌رسد در هر منطقه بنا به شرایط اقلیمی و جغرافیایی زیرگونه‌ها و فصل شیوع بلاستوسیستیس متفاوت است.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح دانشجویی در مقطع کارشناسی علوم آزمایشگاهی بالینی در دانشکده علوم پزشکی مراغه می‌باشد که با حمایت مادی و معنوی معاونت آموزشی، تحقیقات و فناوری این دانشگاه انجام شده است. این طرح مصوب کمیته‌های پژوهشی و اخلاق دانشکده به شماره ۳۱۳۸/د۶۴/۱ بود.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

REFERENCES

1.Wang W, Owen H, Traub RJ, Cuttell L, Inpankaew T, Bielefeldt-Ohmann H. Molecular epidemiology of blastocystis in pigs and their in-contact humans in southeast queensland, australia, and cambodia. Veterinary Parasitology 2014; 203(3): 264-9.

2.Saebi E. Protozoal diseases in Iran. Textbook of clinical parasitology. 4th ed. Ayexh: Tehran; 2005, 144-8.

3.Tan T, Suresh K. Evidence of plasmotomy in Blastocystis hominis. Parasitology Research 2007; 101(6): 1521-5.

4.Raeghi S, Sedeghi S, Sedeghi S. Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies in cats in Urmia, northwest of Iran. Journal of Animal and Plant Science 2011; 21: 132-4.

5.Andiran N, Acikgoz ZC, Turkay S, Andiran F. Blastocystis hominis—an emerging and imitating cause of acute abdomen in children. Journal of Pediatric Surgery 2006; 41(8): 1489-91.

6.Elwakil HS, Hewedi IH. Pathogenic potential of blastocystis hominis in laboratory mice. Parasitology Research 2010; 107(3): 685-9.

7.Pasqui A, Savini E, Saletti M, Guzzo C, Puccetti L, Auteri A. Chronic urticaria and blastocystis hominis infection. A case report. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2004; 8: 117-20.

8.WHO. Guidelines for drinking-water quality. 3th ed. Geneva: World Health Organization; 2008; 262.

9.Basak S, Rajurkar MN, Mallick SK. Detection of Blastocystis hominis: a controversial human pathogen. Parasitology Research 2014; 113(1): 261-5.

10.Badparva E, Ezatpour B, Mahmoudvand H, Behzadifar M, Behzadifar M, Kheirandish F. Prevalence and genotype analysis of Blastocystis hominis in Iran: A systematic review and meta-analysis. Archives of Clinical Infectious Diseases 2017; 12(1): e36648.

11.Arisue N, Hashimoto T, Yoshikawa H, Nakamura Y, Nakamura G, Nakamura F, et al. Phylogenetic position of Blastocystis hominis and of stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. Journal of Eukaryotic Microbiology 2002; 49(1): 42-53.

12.Haghighi A, Khorashad AS, Mojarad EN, Kazemi B, Nejad MR, Rasti S. Frequency of enteric protozoan parasites among patients with gastrointestinal complaints in medical centers of Zahedan, Iran. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 2009;103(5): 452-4.

13.Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. Clinical Microbiology Reviews 2008; 21(4): 639-65.

14.Jones LI, Ganac RD, Hiser G, Hudson NR, Le A, Whipps CM. Detection of Blastocystis from stool samples using real-time PCR. Parasitology Research 2008; 103(3): 551-7.

15.Scicluna SM, Tawari B, Clark CG. DNA barcoding of Blastocystis. Protist 2006; 157(1): 77-85.

16.Salehi R, Haghighi A, Stensvold CR, Kheirandish F, Azargashb E, Raeghi S, et al. Prevalence and subtype identification of Blastocystis isolated from humans in Ahvaz, Southwestern Iran. Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench 2017; 10(3): 235.

17.Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution 2013; 30(12): 2725-9.

18.Tan KS, Singh M, Yap EH. Recent advances in Blastocystis hominis research: hot spots in terra incognita. International Journal for Parasitology 2002; 32(7): 789-804.

19.Aksoy Ü, Akisü Ç, Bayram-Delibas S, Özkoç S, Sahin S, Usluca S. Demographic status and prevalence of intestinal parasitic infections in schoolchildren in Izmir, Turkey. The Turkish Journal of Pediatrics 2007; 49(3): 278.

20.Li LH, Zhang XP, Lv S, Zhang L, Yoshikawa H, Wu Z, et al. Cross-sectional surveys and subtype classification of human Blastocystis isolates from four epidemiological settings in China. Parasitology Research 2007; 102(1): 83-90.

21.Meloni D, Sanciu G, Poirier P, El Alaoui H, Chabé M, Delhaes L, et al. Molecular subtyping of Blastocystis sp. isolates from symptomatic patients in Italy. Parasitology Research 2011; 109:613-619.

www.SID.ir

Archive of SID

22.El Safadi D, Meloni D, Poirier P, Osman M, Cian A, Gaayeb L, et al. Molecular epidemiology of Blastocystis in Lebanon and correlation between subtype 1 and gastrointestinal symptoms. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2013; 88(6): 1203-6.

23.Dogruman-Al F, Dagci H, Yoshikawa H, Kurt Ö, Demirel M. A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of Blastocystis hominis. Parasitology Research 2008; 103(3): 685-9.

24.Stensvold CR, Christiansen DB, Olsen KEP, Nielsen HV. Blastocystis sp. subtype 4 is common in Danish Blastocystis-positive patients presenting with acute diarrhea. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2011; 84(6): 883-5.

25.Yan Y, Su S, Lai R, Liao H, Ye J, Li X, et al. Genetic variability of Blastocystis hominis isolates in China. Parasitology Research 2006; 99(5): 597-601.

26.Alfellani MA, Taner-Mulla D, Jacob AS, Imeede CA, Yoshikawa H, Stensvold CR, et al. Genetic diversity of blastocystis in livestock and zoo animals. Protist 2013;164(4): 497-509.

27.Stensvold CR. Blastocystis: genetic diversity and molecular methods for diagnosis and epidemiology. Tropical Parasitology 2013; 3(1): 26.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

www.SID.ir

Arc

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Identification of Blastocystis sp Subtypes From Human Using 18s rRNA in Northwest of Iran

Mohamadi J[1], Hallaj Zadeh J[2], Rostami M[3], Mirahmadi H[4], Bahrami F[5], Shafiei R[6], Bozorgomid A[7], Raeghi S[2*]

[1]Department of Health affairs, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran,[2]Department of Laboratory Sciences, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran,[3]Student Research Committee, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran,[4]Infectious Tropical Medicine Research Diseases and Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran,[5]Zoonoses research center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran,[6]Department of Pathobiology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran,[7]Department of Parasitology, Asadabad School of Medical Sciences, Asadabad, Iran.

Received: 25 June 2018 Accepted: 25 Dec 2018

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 8:56 +0330 on Sunday February 2nd 2020

Abstract

Background & aim: *Blastocystis* sp. is an anaerobic parasite which lives in the digestive system and can be a zoonotic parasite in different hosts. This study was carried out to identify subtypes and to investigate the genetic variation of *Blastocystis* sp. from human samples in Urmia, Tabriz & Maragheh cities Northwest of Iran.

Methods: In the present descriptive-cross sectional study, 300 human stools from January to October 2017 were randomly selected from treatment centers in North West of Iran. Based on microscopic observation, positive samples examined by DNA barcoding methods for detection of *Blastocystis* sp. subtypes and their sequences were analyzed.

Results: of the 300 samples, 22 specimens diagnosed as *Blastocystis* sp. with the microscopic method. Sixteen apart isolates from the positive cases obtained by the molecular method (PCR) and the sequences of the products were examined. Three types of subtypes including ST1, ST2 and ST3 obtained from these samples. One of the samples after two different sequencings, was reported as both of the ST1 and ST3 subspecies, but re-sequencing of the dominant show ST3.

Conclusion: There are various subtypes of this parasite in this area. Due to the nature of the subtypes, the zoonotic cycle of this parasite exists in this region. By identifying and determining the *Blastocysts* subspecies in different hosts as a zoonotic organism, it is possible to detect genetic migration and parasite transmission. It seems that the parasite subtype pattern can be considered in future studies in relation to clinical manifestations.

Keywords: Blastocystis sp., subtypes, 18s rRNA, Northwest, **Iran**

Corresponding author: Raeghi S, Department of Laboratory Sciences, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran
Email: saberraeghi@gmail.com

Please cite this article as follows:
Mohamadi J, Hallaj Zadeh J, Rostami M, Mirahmadi H, Bahrami F, Shafiei R, Bozorgomid A, Raeghi S. Identification of Blastocystis sp Subtypes From Human Using 18s rRNA in Northwest of Iran. Armaghane-danesh 2019; 23(6): 737-747

www.SID.ir