

# خون

فصلنامه علمی پژوهشی

دوره ۸ شماره ۳ پاییز ۹۰ (۱۶۵-۱۷۳)

مقاله پژوهشی

## غربالگری مalaria در اهداکنندگان خون زاهدان

اسماعیل صانعی مقدم<sup>۱</sup>، سهیلا خسروی<sup>۲</sup>، مریم پورشریضی<sup>۳</sup>، فرشته جعفری<sup>۴</sup>، مینا مقنایی<sup>۵</sup>

### چکیده سابقه و هدف

مالاریای منتقله از طریق خون، در مناطق آندمیک آن، تهدید واقعی برای سلامت خون می‌باشد. لذا وجود یک روش غربالگری مؤثر برای اهداکنندگان و بهبود معیارهای حذف اهداکنندگان، برای هر کشوری ضروری است. در این مطالعه، فواید غربالگری مalaria برای بررسی آنتیژن و آنتی‌بادی، لام خون محیطی و PCR در اهداکنندگان مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، تعداد ۳۸۴ اهدا کننده در زاهدان در سال ۱۳۸۸، برای بررسی وجود انگل با روش گسترش نازک و ضخیم خون محیطی، آزمایش الایزا برای بررسی آنتیژن و آنتی‌بادی و روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. یافته‌ها توسط آزمون‌های کائی دو و فیشر و نرم‌افزار SPSS ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته‌ها

فراوانی آنتی‌بادی به طور کلی ۴/۷٪ و در اهداکنندگانی با سابقه سکونت در مناطقی که انتقال محلی Malaria در آن گزارش شده بود، ۹/۷٪ بود. نتایج آزمایش آنتیژن و گسترش خون محیطی نازک و ضخیم و PCR منفی بود.

### نتیجه گیری

سیستم حذف اهداکنندگان در حال حاضر روش ایده‌آلی است و خطر باقیمانده کمی برای انتقال Malaria از طریق خون باقی می‌ماند. در مناطق آندمیک Malaria از جمله قسمت‌هایی از استان سیستان و بلوچستان، روش الایزا برای بررسی آنتی‌بادی Malaria به منظور غربالگری، روش مناسبی محسوب می‌شود.

**کلمات کلیدی:** Malaria، الایزا، غربالگری، اهداکنندگان خون، PCR

تاریخ دریافت: ۱۹/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۰/۵/۲۴

- مؤلف مسؤول: دکترای علوم آزمایشگاهی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون زاهدان - ایران - صندوق پستی: ۹۸۱۳۵-۶۱۷
- پژوهش عمومی و MPH - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون زاهدان - ایران
- کارشناس علوم آزمایشگاهی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون زاهدان - ایران
- کارشناس ارشد انگل‌شناسی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۴۵۶

اهداکنندگان دیده شد. هم چنین روش‌های مولکولی (PCR) که در سال ۱۳۸۱ در مراجعین به انتقال خون ایرانشهر به منظور غربالگری مalaria استفاده شده بود، در همه موارد منفی گزارش شد<sup>(۹)</sup>.

با توجه به اهمیت فراوان سلامت خون، این مطالعه به منظور بررسی فراوانی مalaria در اهداکنندگان خون و ارزیابی روش‌های مختلف غربالگری طراحی شد و هدف دست یافتن به معیار و استاندارد مناسب جهت غربالگری اهداکنندگان خون بود تا بتوانیم با کاهش خطر انتقال Malaria و افزایش سلامت خون، قادر به حذف کمتر اهداکنندگان غیرآلوده شویم.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی در سال ۱۳۸۸ بر روی ۳۸۴ نفر از داوطلبین اهداخون پایگاه زاهدان انجام شد (حجم نمونه با در نظر گرفتن  $p=0.50$  محسوب شد). افراد مورد مطالعه با توجه به جدول اعداد تصادفی از روی شماره سریال اهداکنندگان انتخاب شدند. ابتدا برای هر نفر یک پرسشنامه حاوی اطلاعات دموگرافیک، سابقه Malaria، تاریخ ابتلاء، سابقه درمان، سابقه پیشگیری و مسافرت به کشورهای اطراف تکمیل شد و محل سکونت افراد به دو گروه طبقه‌بندی شد. سکونت در شهرستان‌های زاهدان و خاکش که بر طبق گزارش مرکز بهداشت دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، آلدگی در آن منطقه وجود نداشت و شهرستان‌های ایرانشهر، چابهار، نیکشهر و سراوان که آلدگی Malaria در آن شهرها وجود داشت.

از کلیه اهداکنندگانی که برای آنها فرم بررسی پر شده بود، دو نمونه خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شد که یکی جهت آزمایش PCR و دیگری برای بررسی آنتیژن بود. هم چنین برای هر اهداکننده بلافاصله دو عدد لام خون محیطی به صورت گسترش نازک و گسترش ضخیم گرفته شد. یک نمونه خون به صورت اضافی از کیسه جانبی در لوله‌های خلاء جهت جداسازی سرم و انجام آزمایش الایزا نیز گرفته شد.

نمونه‌های PCR در فریزر  $70^{\circ}\text{C}$ -نگهداری و جهت استخراج DNA و آزمایش PCR، به آزمایشگاه تشخیص

عوامل عفونی متعددی از طریق خون منتقل می‌شوند که مalaria نیز از این جمله می‌باشد و احتمال انتقال آن از طریق خون یکی از نگرانی‌های مسؤولین انتقال خون در دنیا است<sup>(۱)</sup>. با وجود فعالیت‌های وسیعی که در طی نیم قرن اخیر در راه مبارزه با Malaria و ریشه‌کنی آن در دنیا انجام شده است، هنوز هر ساله ۳۰۰-۵۰۰ میلیون نفر به این بیماری مبتلا و ۲۷-۱/۱ میلیون نفر جان خود را از دست می‌دهند<sup>(۲)</sup>. در ایران بر اثر اجرای برنامه‌های مبارزه با Malaria در طی ۵۰ سال اخیر، قسمت وسیعی از مناطق Malaria خیز کم شده است و شیوع بیماری به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرده است. در حال حاضر انتقال محلی آن فقط در جنوب و جنوب شرقی کشور در سه استان سیستان و بلوچستان، هرمزگان و بخش جنوبی کرمان گزارش شده است<sup>(۴، ۵)</sup>.

Malaria ای متنقله از طریق انتقال خون، چنانچه به موقع تشخیص و درمان نگردد، ممکن است سبب مرگ گیرنده خون شود<sup>(۶)</sup>. در ایران در طی دو مطالعه در سال‌های ۱۳۵۲-۱۳۶۲ و ۱۳۷۴-۱۳۶۴، در مجموع ۳۴۴ مورد Malaria ای ناشی از انتقال خون گزارش شده که اکثراً این موارد پلاسmodیوم Malaria بوده‌اند<sup>(۷)</sup>.

در اکثر کشورها از جمله در ایران، روش آزمایشگاهی ثابت شده‌ای جهت غربالگری اهداکنندگان در مورد Malaria وجود ندارد و پیشگیری از انتقال Malaria فقط از طریق معاف کردن اهداکنندگان با توجه به مصاحبه مشخص می‌شود. اما وجود حاملین بدون علامت در مناطق Malaria خیز و هم چنین اهداکنندگانی که سابقه عفونت و مسافرت به مناطق جغرافیایی Malaria خیز چه به صورت عمده و چه به صورت سه‌های را به خاطر نمی‌آورند، هنوز خطری برای انتقال خون محسوب می‌شود.

در پایگاه انتقال خون زاهدان مطالعه‌های مختلفی در این زمینه تاکنون انجام شده است؛ در سال ۱۳۸۵-۱۳۸۴، کلیه نمونه‌های خون اهداکنندگان با روش اسمیر خون محیطی از جهت وجود Malaria مورد آزمایش قرار گرفتند که همه موارد منفی گزارش شد اما روش الایزا برای بررسی آنتی‌بادی استفاده شد و ۰.۵٪ آنتی‌بادی مثبت در بین

قرمز می‌باشد. این روش آزمایش فقط در چند روز اولیه آلودگی (روز اولیه) مثبت است و بلافاصله بعد از درمان موفقیت‌آمیز، آزمایش منفی می‌شود. هر کدام از این کیت‌ها دارای کترل‌های مثبت و منفی می‌باشند. در این روش برای هر اهداکننده یک Dipstick در نظر گرفته شد و شماره اهداکننده بر روی آن نوشته شد، سپس برای هر بیمار دو چاهک یکی برای کونژوگه و دیگری برای شستشو در نظر گرفته شد. با استفاده از سمپلر، ۲۰ لاندا از بافر در قسمت کونژوگه و ۸۰ لاندا در قسمت شستشو ریخته شد و یک دقیقه فرستاده شد. سپس ۱۰ لاندا از خون کامل را در قسمت کونژوگه ریخته و به مدت یک دقیقه حرکت دورانی داده شد. سپس Dipstick را به صورت عمودی در چاهک مربوط به کونژوگه قرار داده و ۱۰ دقیقه صبر کردیم. در این مدت زمان، خون به همراه کونژوگه در این Dipstick به سمت بالا نفوذ می‌کند و بافرهای مربوط به کترل و آزمایش را آغشته می‌کند. سپس ۸۰ این Dipstick در چاهک مربوط به شستشو که حاوی ۱۰ لاندا بافر بود به مدت ۵-۱۰ دقیقه گذاشته شد. Dipstick را از چاهک شستشو بیرون آورده و نتیجه طبق دستورالعمل کیت خوانده شد.

در روش Elisa-Malaria antibody از کیت شرکت دیامد به شماره ۴۶۴۶۰ و بافر به شماره سریال ۴۳۵۳۰ استفاده شد. اساس این آزمایش بدین صورت بود که چند روز پس از هر آلودگی با مalaria، آنتی‌بادی اختصاصی ایجاد می‌شود که می‌توان این آنتی‌بادی را شناسایی کرد. مبنای این روش، با شناسایی آنتی‌بادی IgG و IgM موجود در سرم خون بوده و به هیچ عنوان نمی‌تواند تفاوت بین IgG و IgM و مرحله حاد و مزمن بیماری را شناسایی نماید. این آنتی‌بادی در سرم خون افراد آلوده به مalaria مشاهده می‌شود و شدت آن بستگی به شدت بیماری و طول دوره بیماری دارد.

اساساً این آزمایش در کشورهای دیگر از چهار جهت کاربرد دارد:

۱- غربالگری malaria در اهداکنندگان خونی که از مناطق آندمیک آمده‌اند.

مولکولی تهران ارسال شدند. لام خون محیطی بلافاصله بدون فیکس شدن توسط تکنسین آزمایشگاه، رنگ‌آمیزی گیمسا گردید و بر روی هر کدام شماره مخصوص حک شد. نمونه‌های مربوط به آزمایش آنتی‌بادی به روش الیزا در آزمایشگاه سانتی‌فراز شد و سرم جهت بررسی الیزا به بخش مربوطه ارسال گردید. جهت بررسی آزمایش آنتی‌زن (Optimal Rapid Malaria test)، نیز از نمونه‌های EDTA دار استفاده گردید.

دو عدد لام، یکی به صورت گسترش نازک و دیگری به صورت گسترش ضخیم از بیمار تهیه و پس از رنگ‌آمیزی مخصوص با عدسی ۱۰۰ و روغن ایمرسیون مورد بررسی قرار گرفت. در هر مرحله کاری جهت کترل، یک لام مثبت نیز رنگ‌آمیزی شد و زیر میکروسکوپ مشاهده گردید. در این روش در صورت مثبت بودن لام خون محیطی و یا نمونه کترل مثبت، تعداد انگل در هر شان در مقابل WBC شمرده شد برای مثال اگر در یک شان میکروسکوپیک تعداد WBC سه عدد و تعداد انگل ۴ عدد بود، با محاسبه از فرمول تعداد انگل در میلی‌متر مکعب نیز استفاده گردید. بدین ترتیب کلیه نمونه‌ها به صورت کترل شده و با کترل کیفی مناسب اسکرین و نتایج درج شد.

در روش آزمایش Optimal Rapid Malaria antigen test، از کیت‌های شرکت دیامد به شماره سریال B710000-11.03-46050 استفاده شد. این روش جهت شناسایی گونه plasmodium است و بر طبق دستورالعمل کیت با اندازه‌گیری plasmodium lactate dehydrogenase (PLDH) که یک آنزیم است انجام می‌گیرد. این آنزیم در هر دو فاز جنسی و غیر جنسی انگل وجود دارد. در این روش از یک آنتی‌بادی مونوکلونال علیه ایزوفرم‌های آنزیم استفاده می‌گردد و بر طبق ادعای کمپانی سازنده، با LDH انسانی هیچ گونه تداخلی ندارد. در این روش حساسیت آزمایش زمانی است که تعداد انگل ۱۰۰-۲۰۰ عدد در میلی‌متر مکعب باشد و یا به عبارتی با توجه به این که در هر میلی‌متر مکعب پنج میلیون گلبول قرمز وجود دارد، پس حساسیت آزمایش در حقیقت  $\frac{100}{50} = 200$  و یا  $\frac{200}{50} = 400$ ٪ یعنی ۰.۰۰۴٪ تا ۰.۰۰۲٪ آلودگی گلبول

میکروولیتر از مخلوط اصلی شماره ۱ (الیگونوکلئوتیدها یا dNTP با غلظت نهایی  $\mu\text{M}$ ، آغازگرها با غلظت نهایی  $0/2$  میکرومول ساخته شده در بخش کیتسازی سازمان انتقال خون) در انتهای میکروتیوب ریخته شد و بعد به میزان  $30$  میکروولیتر از روغن Din-Oil (سیگما) روی آن قرار گرفت. سپس  $17/5$  میکروولیتر از مخلوط شماره  $2$ ،  $1/5 \text{m}\mu\text{M ddH}_2\text{O}$  و  $12/875 \text{m}\mu\text{M MgCl}_2$  و  $100 \text{mM Tris-HCl}$  و بافر  $x 10$  با غلظت نهایی  $x 1$  که شامل  $100 \text{mM KCl}$ ،  $\text{pH}=9$  و  $500 \text{mM Triton}^{\circledR}\text{X}-100$  و  $500 \text{mM KCl}$ ،  $\text{pH}=9$  باشد.

برای پلاسمودیوم فالسیپاروم PCR عبارت بودند از:

K114-P1:5'-CGC TAC ATA TGC TAG TTG CCA  
GAC  
K114-P2:5'-CGT GTA CCA TAC ATC CTA CCA AC  
برای پلاسمودیوم ویواکس

P.V-1:5' CGT GAA AAT CGA AGC TAT CGA  
P.V-PCR PV-2:5' TCC CTG CTG CCC CGC TGT  
TGC

DNA پلاسمودیوم‌های ویواکس و فالسیپاروم به عنوان شاهد با کنترل مثبت و آب مقطر استریل عاری از نوکلئاز (dd H<sub>2</sub>O) به عنوان شاهد با کنترل منفی در مرحله تکثیر در نظر گرفته شد.

تکثیر در شرایط جداسازی ابتدایی در  $93$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $120$  ثانیه، یک دور جداسازی در  $93$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $30$  ثانیه و  $40$  دور اتصال آغازگرها به رشته‌های هدف در  $55$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $60$  ثانیه،  $40$  دور طویل شدن در  $72$  درجه سانتی‌گراد، به مدت  $60$  ثانیه،  $40$  دور طویل شدن نهایی در  $72$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $300$  ثانیه و یک دور در ترمال سایکلر (مدل Hybaide) اجرا شد.

محصولات PCR توسط الکتروفوروز آنالیزور آشکار شدند. یک ژل آگاروز  $2\%$  استاندارد سیگما به این منظور استفاده شد و رنگ‌آمیزی DNA با استفاده از یک محصول اتیدیوم بروماید (مرک) با غلظت  $0/5 \text{mg/mL}$  صورت گرفت. هر ژل با نور ماوراء بنفسج مرئی و سپس با دوربین

۲- بیمارانی که دارای تب ناشناخته هستند و از مناطق تروپیک آمده‌اند.

۳- افرادی که دارای علامت نیستند ولی دارای طحال بزرگ بوده و شک به مalaria در آن‌ها وجود دارد.

۴- مطالعه‌های اپیدمیولوژیک در فیلد و در یک منطقه در این آزمایش با اندازه‌گیری جذب سوری (OD) و تقسیم آن بر حد برش (Cut Off)، اگر نتیجه آزمون بالاتر از  $1$  باشد نتیجه مثبت و اگر پایین‌تر از  $0/8$  باشد نتیجه منفی می‌باشد.

برای انجام PCR از روش شلکس (chelex) استفاده شد. در روش شلکس،  $3$  میکروولیتر خون به  $200$  میکروولیتر محلول  $5\%$  شلکس اضافه شده و پس از ورتکس و یکنواخت کردن مخلوط این دو و قرار گرفتن در دمای  $100$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $10$  دقیقه (جوشاندن به منظور لیز شدن)، عمل سانتریفوژ به مدت  $2$  دقیقه در  $10000 \text{ rpm}$  صورت گرفت. مایع رویی جهت عمل تکثیر در  $-70$  درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در روش سیلیکا،  $500$  میکروولیتر خون به  $500$  میکروولیتر بافر لیز کننده ( $8 \text{ M pH}=8$ ،  $36 \text{ mM EDTA}$ ،  $\text{pH}=6/4$  Tris-HCl، GITC  $1000 \text{ }\mu\text{M}$ ،  $0/2 \text{ mg/mL}$  Triton  $\text{X}-100$ )، افزوده و ورتکس شد. به مخلوط فوق پس از قرار گرفتن در دمای  $65$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $5$  دقیقه،  $30$  میکروولیتر جاذب اضافه و بعد با عمل ورتکس مخلوط گردید. پس از  $20$  دقیقه روتاتور ( $20 \text{ rpm}$ ) و  $15$  ثانیه سانتریفوژ کردن ( $8000 \text{ rpm}$ ) و تخلیه مایع رویی، رسوب ته میکروتیوب دو مرتبه با بافر شستشو به میزان  $500 \text{ }\mu\text{l}$  میکروولیتر ( $4 \text{ M Tris-HCl}$  با  $\text{pH}=6/4$ ) و سه مرتبه با اتانول  $70\%$  به تعداد  $1000$  میکروولیتر شستشو داده شد. سپس عمل خشک شدن رسوب ته میکروتیوب و تبخیر الکل باقیمانده در دمای  $65$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $10$  دقیقه صورت گرفت. در مرحله بعد،  $50$  میکروولیتر از بافر جداسازی (آب مقطر استریل عاری از نوکلئاز) به رسوب اضافه و ورتکس شد و پس از انکوباسیون به مدت  $10$  دقیقه در دمای  $65$  درجه سانتی‌گراد و سانتریفوژ شدن به مدت  $30$  ثانیه در  $10000 \text{ rpm}$  مایع رویی برداشته و در دمای  $-70$  درجه سانتی‌گراد جهت تکثیر ذخیره شد. در این مرحله، مقدار  $3$

جدول ۲: فراوانی آنتی بادی و آنتی ژن انگل مalaria در اسپیر خون محیطی و PCR در دو منطقه از استان که انتقال مalaria در آن گزارش شده و مناطق که انتقال Malaria وجود ندارد.

تعداد	آنتی بادی	آنتی ژن	شاخص مورد بررسی
کل	مثبت	مثبت	
۳۲۱	(۴)(۱۳)	در مناطق که انتقال Malaria در آن گزارش نشده است	
۶۳	(۷/۹)(۵)	در مناطق که انتقال Malaria در آن گزارش شده است	
۳۸۴	(۴/۷)(۱۸)	جمع کل	

جدول ۳: وضعیت آنتی بادی در اهداکنندگان بار اول، مستمر و با سابقه

با سابقه	اهداکنندگان		اهداکنندگان آنتی بادی
	مستمر	بار اول	
(۲۰/۸)(۷۷)	(۴۴/۷)(۱۶۳)	(۹۴/۷)(۱۲۶)	آنتی بادی منفی
(۷/۲)(۶)	(۳)(۵)	(۵/۳)(۷)	آنتی بادی مثبت
(۱۰۰)(۸۳)	(۱۰۰)(۱۶۸)	(۱۰۰)(۱۳۳)	جمع کل

جدول ۴: وضعیت آنتی بادی در گروه های خونی مختلف

AB	B	O	A	گروه خون
				آنتی بادی
۲۵	۱۰۴	۱۳۸	۹۹	آنتی بادی منفی
(۹۲/۶)	(۹۶/۳)	(۹۶/۵)	(۹۳/۴)	آنتی بادی منفی
۲	۴	۵	۷	آنتی بادی مثبت
(۷/۴)	(۳/۷)	(۳/۵)	(۶/۶)	
۲۷	۱۰۸	۱۴۳	۱۰۶	
(۱۰۰)	(۱۰۰)	(۱۰۰)	(۱۰۰)	جمع کل

و مناطقی که انتقال Malaria وجود ندارد در جدول آمده است (جدول ۲). از نظر وجود آنتی ژن Malaria، نتایج اسپیر خون محیطی و PCR منفی بود. آنتی بادی Malaria در ۵٪ (%) نفر با سابقه سکونت در مناطقی از استان که انتقال

پولاروید عکس برداری شد. قطعه (base pair) ۲۰۶ bp حضور پلاسمودیوم فالسیپاروم و قطعه ۱۸۳ bp وجود پلاسمودیوم ویواکس را در ژل نشان می دادند.

لازم به توضیح است که عدم حضور ممانعت کننده ها در PCR با آنالیز و آشکارسازی ژن HLA-DR مشخص شد و سپس کلیه اطلاعات جمع آوری شده توسط نرم افزار آماری ۱۶ SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و از آزمون های مجدور کا و دقیق فیشر برای تحلیل داده ها استفاده شد.

#### یافته ها

در این مطالعه ۳۸۴ نفر با میانگین سنی  $۳۱/۷ \pm ۹/۷$  سال شرکت کردند (جدول ۱).

جدول ۱: خصوصیات دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه

شاخص مورد بررسی	تعداد	درصد	جنسیت
مرد	۳۴۴	٪ ۸۹/۶	
زن	۴۰	٪ ۱۰/۴	
سابقه Malaria	۵	٪ ۱/۳	
سابقه درمان Malaria	۵	٪ ۱/۳	
سابقه پیشگیری از Malaria	۲	٪ ۰/۵	
سابقه	در مناطقی که انتقال محلی Malaria در آن وجود دارد	در مناطقی که انتقال محلی Malaria در آن وجود ندارد	سکونت
۶۵	٪ ۱۶/۹	٪ ۸۳/۱	
۳۱۹	۳۱۹	۳۱۹	

آزمایش میکروسکوپی گسترش نازک و ضخیم خون محیطی تمام ۳۸۴ داوطلب اهدای خون، نتیجه منفی داشت. ۱۸٪ (%) نفر از نظر وجود آنتی بادی Malaria مثبت بودند. همه موارد از نظر آنتی ژن Malaria منفی بودند و آزمایش PCR با آغازگرهای اختصاصی پلاسمودیوم ویواکس و فالسیپاروم برای همه افراد مورد مطالعه نتیجه منفی داشت. فراوانی آنتی بادی انگل Malaria در دو منطقه از استان سیستان و بلوچستان که انتقال Malaria در آن گزارش شده

کشورهای پاکستان و افغانستان (بر اساس آمار منتشره از قسمت آمار سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی استان، تعداد مسافرت‌ها در درون استان، ۵۶۷۳۵۷۳ مورد در یک سال که بیانگر تعداد جابه‌جایی به طور متوسط ۲/۸۳ بار برای هر نفر در سال در این استان است و جابه‌جایی خارج استانی ۴۸۶۸۰۰ نفر از طریق مرزهای هوایی، زمینی) از نظر مalaria در معرض خطر جدی قرار دارد (۱۳، ۱۱-۱۲).

اصولاً وقتی خطر انتقال مalaria و انتقال خون را بررسی نماییم، دو جنبه را باید در نظر داشته باشیم: اول خطر Malaria در ارتباط با شخص اهداکننده و دوم خطر برای سیستم انتقال خون از جمله تشخیص و مدیریت اهداکنندگان (۱۴). در اینجا اساساً خطر و مشی‌های متفاوتی در سرویس‌های انتقال خون وجود دارد و این خطر و مشی در بین کشورهای آندمیک و غیر آندمیک متفاوت است.

در بسیاری از کشورها غربالگری اهداکنندگان به وسیله پرسشنامه، اولین و تنها قدم در پیشگیری از بیماری‌های منتقله از طریق خون از جمله Malaria است. دستور العمل‌های حذف اهداکنندگان، راهکار اولیه غربالگری اهداکنندگان است که بر اساس تاریخچه و شرح حال، خطر انتقال Malaria در رابطه با سکونت و یا مسافرت به مناطق مalaria خیز را مشخص می‌کند. سوال‌های مهمی که در این ارتباط باید پرسیده شود، منطقه جغرافیایی (منطقی که خطر بالقوه انتقال در این مناطق وجود دارد)، طول مدت اقامت، سابقه ابتلا، که بر طبق دستور العمل‌های FDA و AABB (American Association of Blood Banks) و FDA (Food and Drug Administration) و استانداردهای سازمان انتقال خون ایران، سابقه ابتلا به Malaria باعث می‌شود که اهداکننده به طور دائم از اهدای خون معاف شود و افرادی که سابقه سکونت و اقامت داشتند، ۳ سال و مسافرت به مناطق Malaria خیز به مدت حداقل ۶ ماه تا یک سال از اهدای خون معاف می‌شوند (۱۵، ۱۴). به هر حال گرچه پرسشنامه یکی از قابل اعتمادترین روش‌های غربالگری است، اما اهداکنندگان semi-immune، اهداکنندگانی که متولد مناطق Malaria خیز هستند و یا مدت طولانی در این مناطق زندگی می‌کردند و به طور مکرر در معرض نیش

Malaria در آن مناطق گزارش شده بود، در مقابل (۱۳/۴) نفر از افرادی که در بقیه استان ساکن بودند دیده شد، ولی این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. از ۱۸ نفری که آنتی‌بادی Malaria در آنها ثبت بود، (۹/۸۸) ۱۶ نفر مرد بودند و میانگین سنی ۳۵ سال داشتند و از نظر آماری اختلافی بین زنان و مردان وجود نداشت. سابقه Malaria در ۱ نفر از افرادی که آنتی‌بادی در وی ثبت بود وجود داشت و سال ابتلا را ۱۳۸۱ یعنی ۷ سال قبل از مطالعه اعلام نمود. آنتی‌بادی ثبت در بین اهداکنندگان خون با سابقه (۲/۷) از اهداکنندگان مستمر (۳/۵) و بار اول (۳/۰) بالاتر بود ولی اختلاف بین این سه گروه با توجه به درصد اهداکنندگان به تفکیک بار اول، مستمر و با سابقه معنادار نبود (جدول ۳).

آنچه بادی ثبت در گروه خونی AB نسبت به بقیه گروه‌های خونی بیشتر بود ولی از لحاظ آماری اختلاف معناداری نداشت (جدول ۴).

## بحث

انتقال بیماری‌های قابل انتقال از طریق خون از جمله Malaria در کشورهای غیرآندمیک، مشکل زیاد جدی نیست و به ندرت اتفاق می‌افتد، ولی در مناطق جغرافیایی خاص (مناطق آندمیک) یک تهدید جدی است اما امروزه با وجود نگرانی‌های بزرگی هم چون انتقال هپاتیت و ایدز، کمتر به آنها پرداخته شده است. در صورتی که مalaria پس از تزریق خون، یک خطر جدی است چون علاوه بر مشکلات بهداشتی و بیماری که برای گیرنده ایجاد می‌کند، در بعضی از موارد می‌تواند کشنده هم باشد (۱۰).

استان سیستان و بلوچستان با توجه به شرایط جغرافیایی خاص، وسعت زیاد حدود ۱۸۷۵۰ کیلومتر مربع که ۱۱/۵٪ مساحت کل کشور را به خود اختصاص داده و هم‌جواری با شهرستان‌های کرمان و هرمزگان و کشورهای پاکستان و افغانستان که از نظر Malaria شیوع بالایی دارند، هم چنین شرایط زندگی که ۵۱٪ دارای زندگی عشايری و روستایی هستند، مسافرت و تردداتی مکرر داخل استان و وجود مناطق تفریحی چابهار و ایرانشهر، ییلاق و قشلاق کردن عشاير، مسافرت به

ساکنان روستاهای و شهرهای منطقه جنوب شرق به مalaria مبتلا شده بودند(۱، ۲). در مطالعه ادريسیان، مواردی از انتقال مalaria از طریق خون گزارش شده، که بیشتر هم از نوع Malariae بوده است(۷). در حالی که برای اثبات این ادعای می‌باشد اهداکننده خون نیز آزمایش شود و در صورتی که مبتلا به Malaria باشد، انتقال از طریق خون اثبات می‌گردد و در غیر این صورت به صرف داشتن سابقه تزریق خون، نمی‌توان انتقال Malaria از طریق خون را اثبات نمود. مضاف بر این در شرایط اپیدمی، افرادی که خون دریافت نموده بودند ساکن همان مناطقی بودند که در آن اپیدمی Malaria وجود داشت. اما امروزه با توجه به امکان ردیابی اهداکننده خون و وجود روش‌های پیشرفته هم چون PCR، امکان مطالعه‌های دقیق تری فراهم شده است. لازم به ذکر است که در آن مطالعه‌ها، روش تشخیص Malaria بررسی انگل در لام خون محیطی بوده است.

در بررسی روند بیماری Malaria در سال‌های ۸۶-۸۱ بیشترین نوع انگل از نوع ویواکس با شیوع ۹۱٪، فالسیپارم با ۸۵٪ و اندک با قیمانده Malariae یا میکس (فالسیپارم و ویواکس) بوده است(۴). در مطالعه‌های اپیدمیولوژی که در طی سال‌های ۸۷-۸۴ در مورد بررسی روند Malaria در استان سیستان و بلوچستان انجام شده است، عفونت ناشی از گونه Malariae اصلاً گزارش نشده است(۲۲). به همین سبب در این مطالعه نیز به بررسی گونه فالسیپارم و ویواکس در روش PCR پرداخته شد که نتایج آزمایش PCR کلیه اهداکننده‌گان منفی بود. روش PCR حساس‌تر و اختصاصی‌تر از بقیه روش‌های غربالگری است و مزیت بزرگ آن قابلیت شناسایی و تعیین عفونت در مقادیر کم انگل در خون است. این روش قادر است در هر میکرولیتر خون، ۰/۰۰۴-۰/۰۰۴ انگل را شناسایی کند و در صورتی که از آن به عنوان یک روش مکمل با روش‌های دیگر استفاده شود، می‌توان از محرومیت افراد سالم از اهدای خون پیشگیری کرد. اما با توجه به پیچیدگی‌های روش و هزینه بالای آزمایش، به نظر می‌رسد برای غربالگری به صرفه نباشد.

گسترش نازک و ضخیم خون محیطی از نظر وجود انگل در مطالعه حاضر منفی بود، اگر چه این روش را به

پشه بودند و یا اهداکننده‌گانی که در هنگام مصاحبه، سابقه Malaria را به خاطر نمی‌آورند و یا به علت عدم درک مفهوم سوال، پاسخ درستی نمی‌دهند خطری برای سلامت خون در این روش غربالگری می‌باشد(۱۶، ۱۷).

مطابق نتایج این تحقیق، میزان کلی فراوانی آنتی‌بادی Malaria ۴/۷٪ بود و در افرادی که سابقه سکونت در قسمت‌های جنوبی استان را داشتند، این میزان ۷/۷٪ به دست آمد. در مطالعه انجام شده در عربستان، که وضعیت اپیدمیولوژیکی مشابه ایران دارد، ۷/۶٪ از اهداکننده‌گان آنتی‌بادی مثبت داشتند(۱۸). در مقابل فراوانی آنتی‌بادی Malaria، در میان اهداکننده‌گان انگلستان که یک منطقه غیر‌آنده‌میک است ۱/۰٪ بود(۱۹). نتایج این مطالعه نشان داد که فقط یک نفر از ۱۸ فرد آنتی‌بادی مثبت، سابقه Malaria در ۷ سال گذشته داشته است. در این روش غربالگری، تعداد زیادی از اهداکننده‌گانی که واکنش آنتی‌بادی مثبت داشتند، از چرخه اهدا خارج می‌شوند که این امر، منجر به کمبود خون از یک طرف و مشکلاتی که برای مدیریت و مشاوره اهداکننده‌گانی که بدین ترتیب کنار گذاشته می‌شوند به وجود می‌آید، خواهد شد. از آن جایی که آنتی‌بادی Malaria تا سال‌ها بعد از بهبودی در بدن باقی می‌ماند و موارد آنتی‌بادی مثبت، دلیل حضور فعلی انگل نبوده و نشانه semi-immune می‌باشد، می‌توان با بررسی آنتی‌زن، باعث شد تا تعداد کمتری از خون‌های اهدایی از چرخه مصرف خارج شوند. همان طور که قبل از نیز گفته شد در مطالعه حاضر، فراوانی اهداکننده‌گان آنتی‌زن مثبت صفر گزارش شد و PCR نمونه‌ها منفی بود. اما در مطالعه مشابهی که در عربستان انجام شده بود، ۲٪ گزارش گردید(۱۷).

در مطالعه‌های مختلف از روش ترکیبی آزمایش آنتی‌زن و آنتی‌بادی، برای تشخیص استفاده شده است و مشاهده شده دوره تغییرات سرمی از  $1/6 \pm 11/4$  روز به  $1/1 \pm 5/3$  روز کوتاه‌تر شده است( $p=0/001$ )(۲۰).

در مطالعه اپیدمیولوژیکی که در مورد وضعیت Malaria در ایران در طی سال‌های ۱۳۵۴-۱۳۵۳ انجام شده، در قسمت‌هایی از کشور از جمله در استان‌های هرمزگان، سیستان و بلوچستان و کرمان، بیماری به صورت اپیدمی بوده است و به ادعای نگارندگان، حدود صد هزار نفر از

این روش، ۲٪ اهداکنندگان را ممکن است به علت سابقه مalaria یا سابقه مسافرت به مناطق مalariaخیر از دست بدھیم، ولی نظر به اهمیت سلامت خون، میتوان در مناطق آندمیک، روش بررسی آنتیبادی را در کنار این روش به کار گرفت تا افرادی که سابقه Malaria را فراموش کرده و یا ممکن است شرح حال درستی را ارایه ندهند، نادیده گرفته شوند. بدین ترتیب میتوان خطر انتقال Malaria را به حداقل رساند و سلامت خون را افزایش داد.

### References :

- 1- Mollison PL, Engelbert CP, Contreras M. Infection agent transmitted by transfusion. In: Blood transfusion in clinical Medicine .10th ed. Oxford, UK: Blackwell Science; 1997. p. 509-70.
- 2- Edrissian GH, Natalepour M, Afshar A , Mohsseni GH. In vivo monitoring of the response of falciparum and vivax plasmodia to chloroquine in Bandar-Abbas and Kahnouj , South-East Iran ,1997-1999. Med J Iran Hosp 2001 ; 3(2); 30-3.
- 3- World Health Organization, World Malaria Report 2008. 1th ed. Geneva, Switzerland: chapter 3. p. 9-15
- 4- Raeisi A , Nikpoor F , Ranjbar Kakhkha M, Faraji L. The trend of malaria in I.R. Iran. rom 2002 to 2007. Hakim Research Journal 2009 ; 12(1): 35-41.
- 5- Salehi M, Amirmajdi MM, Mashhadi IE , Hakemi Y, Mashhadi AE, Mirinezhad A. Analysis of malaria epidemic features in Sistan and Baluchistan province, southeast of Iran, 2005 - 2008. IRMJ 2010 ; 12 (3): 247-53.
- 6- Ali MSM, Yousif Kadaru AM, Mustafa MS. Screening blood donors for malaria parasite in Sudan. Ethiop J Health Dev 2004; 18(2).
- 7- Edrissian GH. Transfusion transmitted malaria in Iran. J Med Counc IR Iran1985; 9(5): 314-24.
- 8- Edrissian GH. Malaria history and status in Iran. Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research 2002; 1(1) :50-61.
- 9- Moghtadaei M, Edrissian GH, Amini Kafabadi S, Samiei Sh, Keshavarz H, Natalepour M. Application and evaluation of PCR in detection of malaria in donors of transfusion centers in Sistan-Baloochestan province in 2002. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2005; 2(4): 105-114.
- 10- Uneke CJ , Ogbu O , Nwojiji V. Potential risk of induced malaria by blood transfusion in south-eastern Nigeria. McGill J Med 2006 Jan; 9(1): 8-13.
- 11- Statistical Yearbook of Sistan and Baluchistan Province 2008. Available at: [http://sbportals.ir/sbportalsd\\_content/media/image/2011/01/941-orig.pdf](http://sbportals.ir/sbportalsd_content/media/image/2011/01/941-orig.pdf). [Article in Farsi]
- 12- Mostafa Ahmed Salah. Strategic plan for malaria control and elimination in the WHO Eastern Mediterranean Region 2006-2010. World Health Organization 2007. 1st ed . Chapter 2. P. 9,14,37,39.
- 13- Statistical Yearbook of Sistan and Baluchistan Province 2008. Available at: [http://www.sboiranir/DesktopModules/OrgAmar/OrgAmar\\_813\\_73.pdf](http://www.sboiranir/DesktopModules/OrgAmar/OrgAmar_813_73.pdf). [Article in Farsi]
- 14- Kitchen AD, Chiodini PL. Malaria and blood transfusion. Vox Sang 2006; 90(2): 77-84.
- 15- Kitchen AD, Barbara JA, Hewitt PE. Documented cases of post-transfusion malaria occurring in England: a review in relation to current and proposed donor-selection guidelines. Vox Sang 2005; 89(2): 77-80.
- 16- Louis M. Katz. Travel and Medical History:Malaria ,Transmissible spongiform encephalopathies, and Others. In: Screening blood donors: Science, Reason, and the Donor History Questionnaire. 1ed. NY, USA: AABB; 2007. P. 168-80.
- 17- Slinger R, Giulivi A, Bodice-Collins M, Hindieh F, John RS, Sher G, et al. Transfusion-transmitted malaria in Canada. CMAJ 2001; 164(3): 377-9.
- 18- Saeed AA, Al Rasheed AM, Al Nasser I, Al Onaizi M, Al Kahtani S , Dubois L. Malaria Screening of blood donors in Saudi Arabia. Ann Saudi Med 2002; 22(5-6): 329-32.
- 19- Chiodini PL, Hartley S , Hewitt PE, Barbara JA, Laloo K, Bligh J, Voller A. Evaluation of a malaria antibody ELISA and its value in reducing potential wastage of red cell donations from blood donors exposed to malaria with a note on a case of transfusion-transmitted malaria . Vox Sang 1997; 73(3): 143-8.
- 20- Silvie O, Thellier M, Rosenheim M, Datry A, Lavigne P, Danis M, et al . Potential value of plasmodium falciparum-associated antigen and antibody detection for screening of blood donors to prevent transfusion-transmitted malaria. Transfusion 2002; 42(3): 357-362.
- 21- Salehi M, Amirmajdi MM, Mashhadi IE , Hakemi Y, Mashhadi AE, Mirinezhad A. Analysis of Malaria Epidemic Feature in Sistan and Baluchistan Province southeast of Iran,2005-2008. IRMJ 2010; 12(3) : 247-53.
- 22- Edrissian GH. Malaria In Iran: past and present Situation. Iranian J Parasitol 2006; 1(1): 1-14.

### نتیجه گیری

ارزیابی روش های مختلف غربالگری Malaria نشان می دهد که غربالگری توسط پرسشنامه، باید به عنوان خط اول با دقت مورد بازنگری و تأکید قرار گیرد. گرچه در

Original Article

## Malaria screening of blood donor in Zahedan

Sanei Moghaddam E.<sup>1,2</sup>, Khosravi S.<sup>1,2</sup>, Poursharifi M.<sup>1,2</sup>, Jafari F.<sup>1,2</sup>, Moghtadaei M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Blood Transfusion Research Center , High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Zahedan Regional Educational Blood Transfusion Center, Zahedan, Iran

### Abstract

#### Background and Objectives

Transfusion transmitted malaria is an ever present risk in endemic areas and the real threat for blood safety. There is a need for an effective malaria screening program and development of donor deferral criteria for the country. We evaluated the potential usefulness of Elisa screening for malaria antibody and antigen, thick and thin blood film, and polymerase chain reaction (PCR) among Zahedan blood donors.

#### Materials and Methods

A total number of 384 blood donors in Zahedan in 2009 were screened for malaria parasite by thick and thin blood film using giemsa staining technique, Elisa antibody and antigen test, and PCR.

#### Results

The overall malaria antibody prevalence was 4.7%. In blood donors living in endemic regions, where there were reports for local Malaria transmission, the rate was 7.9%. The results of all antigen test, thick and thin blood films, and PCR were negative.

#### Conclusions

The present donor deferral system seems optimal at present; however, a small risk of transfusion transmitted malaria remains. In an endemic region like Sistan and Baluchestan the use of Elisa antibody test was an interesting alternative for the screening of blood donors.

**Key words:** Malaria, screening, Elisa, Blood Donors, PCR  
*Sci J Iran Blood Transfus Organ 2011; 8(3): 165-173*

Received: 2 Jan 2011

Accepted: 15 Aug 2011

**Correspondence:** Sanei Moghaddam, DMT. Blood Transfusion Research Center , High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine and Zahedan Regional Educational Blood Transfusion Center . P.O.Box: 98135-617, Zahedan, Iran. Tel: (+98541) 3220000; Fax : (+98541) 3239500  
E-mail: sasp1334@yahoo.com