تحقیقی

دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

فراوانی ژنوتیپ های ناحیه ی C (CMAP) و F(FCR-3) آنتی ژنEBA- 175KD پلاسمودیوم فالسیپاروم در جنوب شرق ایران

علی جمشیدی
کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

محمد موسوی قهفرخی
کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

عبدالعزیز قرائی
کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

عادل ابراهیم زاده
دانشیار گروه انگل شناسی قارچ شناسی و حشره شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

محمد جعفری مُدرک
استادیار گروه انگل شناسی، قارچ شناسی و حشره شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

علیرضا انصاری مقدم
دانشیار آمار و اپیدمیولوژی، مرکز ارتقاء سلامت، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

سعید محمدی
دانشجوی دکترای پزشکی ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول: علی جمشیدی

پست الکترونیک: a.jamshidi@zaums.ac.ir

تلفن: ۰۹۱۷۵٤۱۳۰۲۵

دریافت:۹۲/۱/۲٤
ویرایش پایانی:۹۲/۷/٤
پذیرش:۹۲/۷/٦

چکیده

زمینه و هدف: *آنتی ژن ۱۷۵کیلو دالتون (EBA- 175KD) پلاسمودیوم فالسیپاروم، با واسطه اسید سیالیک وابسته به گلیکوفورین A به گلبول های قرمز میزبان متصل شده و در نتیجه نقش حیاتی در تهاجم به سلول دارد. بخش هایی از آلل ۲ شکلی ، در ژن کد کننده خود در ناحیه ی FCR-3 (بخش F) و ناحیه ی CAMP (بخش C) یافت می شود. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی آلل های EBA- 175KD پلاسمودیوم فالسیپاروم در جنوب شرقی ایران انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی - مقطعی، روش واکنش زنجیره پلیمراز آشیانه ای(Nested -PCR) با پرایمرهای اختصاصی استفاده گردید که دو بخش از ژن EBA- 175 تکثیر یافت. ۹۴ نمونه خون مثبت میکروسکوپی از افراد آلوده به پلاسمودیوم فالسیپاروم از ۴ منطقه مختلف در جنوب شرقی ایران جمع آوری شد.*

یافته ها: *از ۹۴ نمونه مثبت پلاسمودیوم فالسیپاروم بررسی شده ، ۸۸ نمونه دارای آنتی ژن EBA-175KD بود، ژنوتیپ ناحیه ی CAMP (۷۱۴ bp) و FCR-3 (با ۷۹۵ bp) به ترتیب در ۳۱ نمونه (۳۲/۹۷٪) و ۴۹ مورد (۵۲/۱۲٪) یافت شد. ۸ نمونه نیز هر دو ناحیه ی FCR-3 و CAMP را دارا بودند.*

نتیجه گیری: *هر دو ناحیه از ژن دو شکلی EBA -175KD مشاهده شد و فراوانی آلل FCR-3 در منطقه ی جنوب شرق ایران بیشتر بود. این الگوی انتشار می تواند در طراحی واکسن برای کنترل پلاسمودیوم فالسیپاروم در منطقه مذکور مورد توجه قرار گیرد .*

واژه های کلیدی: *پلاسمودیوم فالسیپاروم، آنتی ژن KD175 متصل شونده به گلبول قرمز، جنوب شرقی ایران*

آدرس مقاله:
جمشیدی ع، موسوی قهفرخی م، قرائی ع، ابراهیم زاده ع، جعفری مُدرک م، انصاری مقدم ع، محمدی س" فراوانی ژنوتیپ های ناحیه ی C (CMAP) و F(FCR-3) آنتی ژنEBA- 175KD پلاسمودیوم فالسیپاروم در جنوب شرق ایران" مجله علوم آزمایشگاهی،بهار ۱۳۹۳، دوره هشتم(شماره۱): ۳۶-۴۱

مقدمه

مالاریا عامل ایجاد ۳۰۰-۵۰۰ میلیون مورد کلینیکی و ۱-۳ میلیون مرگ در هر سال در جهان است. این بیماری توسط انگل جنس پلاسمودیوم ایجاد می شود که *پلاسمودیوم فالسیپاروم* یکی از شایع ترین انواع پلاسمودیوم ها و مسئول تقریبا همه مرگ و میر ها می باشد (۲،۱). با توجه به تلاش های زیادی که برای کنترل و پیشگیری مالاریا صورت گرفته، عوامل مختلفی از جمله مقاومت به حشره کش در پشه های ناقل، عدم وجود واکسن موثر و ظهور و گسترش سریع سویه های مقاوم به درمان، به بدتر شدن وضعیت جهانی بیماری مالاریا کمک کرده است (۳). بنابراین نیاز فوری برای توسعه واکسن موثر مالاریا احساس می شود(۴). با این حال گسترش تنوع ژنتیکی در جمعیت های طبیعی انگل، علت اصلی برای توسعه یک واکسن موثر بر علیه انگل مالاریای انسان است. زیرا تنوع ژنتیکی، اثر بخشی سیستم ایمنی بدن میزبان را به مالاریا محدود می کند (۵). از این رو گسترش چنین آنتی ژن های چند شکلی به شدت توانایی انگل را برای حمله به سیستم ایمنی میزبان، بهبود بخشیده است و ایجاد پاسخ مناسب در برابر آنتی ژن های انگل را مشکل ساخته است(۶). شناخت درست در مورد فراوانی و تغییرات آنتی ژن های داوطلب تولید واکسن در جمعیت طبیعی انگل، برای طراحی واکسن مالاریا بسیار مهم است. تعداد انگشت شماری از آنتی ژن های مرحله خاصی از *پلاسمودیوم فالسیپاروم* شناسایی شده اند که با استفاده از روش های ملکولی به عنوان کاندیدای واکسن مشخص شده اند. تعیین توزیع ژنوتیپ آنتی ژن مالاریا در یک منطقه جغرافیایی گسترده با توجه به ارزش اطلاعات ژنتیکی، در طراحی واکسن مالاریا می تواند موثر باشد. در حال حاضر تنوع ژنتیکی آنتی ژن متصل شونده به گلبول قرمز ۱۷۵ کیلو دالتونی (EBA-175) از *پلاسمودیوم فالسیپاروم* به عنوان کاندیدای مهم واکسن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. آنتی ژن ۱۷۵KD متصل به گلبول قرمز (EBA-175) ژن آن بر روی کروموزوم شماره ۷ واقع شـده است. ژن EBA-175 متشکل از چهار اگزون و هفت منـطقه I–VII می باشد که از ۳ منطقه غنی از سیستئین (F1, F2 و C) تشکیل شده است. مناطق F1, F2 ، در پایانه ملکول N، نشان دهنده چند شکلی کم است. در مقابل منطقه III که در مرکز قرار گرفته است وتوسط دو بخش دارای دو ناحیه CMAP و FCR-3 مشخص می شود. این ناحیه ها در نتیجه اختلاف در موقعیت های کمی متفاوت در منطقه II است (۷،۶). EBA-175 متصل به اسید سیالیک و ستون پپتیدی گلیکوفورینA در سطح گلبول قرمز است. این آنتی ژن به دلیل تغییرات، تنوع و چند شکلی آنتی ژنیکی کم در ناحیه III ژن خود، داوطلب تولید واکسن بر علیه بیماری مالاریا در جهان می باشد (۹،۸). در حال حاضر منطقه ی جنوب شرقی ایران مرکز اندمیک *پلاسمودیوم فالسیپاروم* است که انتقال این بیماری از افغانستان و پاکستان صورت می گیرد. موارد مالاریای *پلاسمودیوم فالسیپاروم* نزدیک به ۱۱درصد از کل مالاریا را در ایران شامل می شود (۱۱). این مطالعه به منظور تعیین توزیع آلل های EBA-175 در منطقه جنوب شرقی ایران (چابهار ،سرباز، ایرانشهر و نیکشهر) و همچنین تجزیه و تحلیل برخی از نواحی حفاظت شده آنتی ژن EBA-175 بود.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی-مقطعی ۹۴ فرد آلوده و دارای علائم بالینی آشکار به انگل *پلاسمودیوم فالسیپاروم* بین ۲-۴۸ سال از چهار منطقه در استان سیستان و بلوچستان در جنوب شرق ایران (چابهار، نیکشهر، ایرانشهر، سرباز) در سال ۲۰۱۲ وارد مطالعه شدند. این افراد پس از ۶ ماه در منطقه سکونت داشتند و دارویی برای درمان دریافت نکرده بودند (۱۱،۱۰).

پس از جمع آوری خون محیطی بیماران مذکور و تهیه گسترش های نازک و ضخیم و مشاهده پلاسمودیوم فالسیپاروم در زیر میکروسکوپ، ۲۰ میلی لیتر خون وریدی از بیماران در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری شد و نمونه ها تا زمان استخراج DNA در ۲۰- درجه سـانتی گراد نگهداری شد (۱۳،۱۲).DNA تخلیصی از

نمونه های خون با استفاده از کیت تخلیص DNA ژنومی فرمنتاز (Thermo Fisher Scientific Inc) و بر اساس دستور العمل کیت استخراج شد. روش Nested PCR برای ناحیه ی III ژن EBA-175 پلاسمودیوم فالسیپاروم با استفاده از توالی پرایمر تقویت شده برای EBA-175 مورد استفاده قرار گرفت(جدول ۱). دور اول تکثیر PCR در حجم نهایی ۲۰میکرولیتر با استفاده از پریمیکس PCR " " AccuPower TLA PCR Premix (Bioneer, Korea (Rep انجام شد. پس از اضافه کردن ۱/۵ میکرولیتر از DNA الگو استخراج شده از نمونه های خون و ۰/۷۵ میکرولیتر از هر پرایمر رقیق شده به لوله ی محلول اضافه و با استفاده از آب مقطر تزریقی حجم نهایی به ۲۰ میکرولیتر افزایش یافت. دور دوم واکنش آمپلی فیلیکاسیون به همین ترتیب با ۱/۵ میکرولیتر از محصول PCR اولیه به عنوان DNA الگو در ۲۰ میکرولیتر از کل حجم واکنش اضافه گردید. شرایط چرخه برای اولین و دومین چرخه PCR در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه (جداسازی ۲ رشته DNA ابتدایی)،در ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه (Denaturation)، در ۵۴ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه (Annealing) و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه (استخراج) اعمال شد . در نهایت یک مرحله جداسازی نهائی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد که تعداد کل چرخه ها بین ۲۵-۳۰ چرخه انتخاب گردید. از DNA خالص شده سویه استاندارد پلاسمودیوم فالسیپاروم تهیه شده از مرکز منابع تحقیقاتی مالاریا ایالات متحده امریکا(Malaria Research and Reference Reagent Resource Center)، به عنوان کنترل های مثبت استفاده گردید. سپس محصول Nester PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد.کنترل های مثبت و منفی و نشانگر وزن ملکول۱۰۰۰ جفت بازی "1000bp Ladder Marker (Bioneer, Korea "Rep برای تفسیر اندازه قطعه مورد استفاده قرار گرفت. آلل FCR-3 ژن EBA-175 به عنوان یک قطعه bp ۷۹۵ و آلل CAMP ژن EBA-175 به عنوان یک قطعه bp ۷۱۴ شناسایی شد. عفونت های مخلوط یا میکس با حضور آلل FCR-3 و آلل CAMP به طور همزمان شناسایی شد (۱۳).

جدول ۱- توالی و مشخصات پرایمرها

نام پرایمر	′۳→′۵ توالی و طول پرایمر	کل حجم (Nmole)	دما	حجم برای 100Pmol/µl
EBA1(F)	CAAGAAGCAGTTCCTGAGGAA	۹/۳	۵۳/٤	۹۲/۵
EBA2 (R	TCTCAACATTCATATTAACAATTC	۸/٦	٤۷/۵	۸٦
EBA3(F)	GAGGAAAACACTGAAATAGCACAC	۷/۹	۵۳/۷	۷۹/۱
EBA4(R)	CAATTCCTCCAGACTGTTGAACAT	۸/۸	۵۵/۹	۸۸/۳

جدول ۲- فراوانی آلل های ناحیه III ژن EBA-175 در مناطق مورد مطالعه

ناحیه / آلل ها	چابهار تعداد=۳۱		ایرانشهر تعداد=۲٤		نیکشهر تعداد=۲۳		سرباز تعداد=۱٦		جمع کل تعداد=۹٤	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
ناحیه ۷۹۵جفت بازی F	۱٦	۵۱/٦۱	۱۳	۵٤/۱	۱۱	٤۷/۸۲	۹	۵٦/۲۵	٤۹	۵۲/۱۲
ناحیه ۷۱٤جفت بازی C	۱۰	۳۲/۲۵	۸	۳۳/۳۳	۹	۳۹/۱۳	٤	۲۵	۳۱	۳۲/۹۷
عفونت میکس(F+C)	۲	٦/٤۵	۱	٤/۱٦	۳	۱۳/۰٤	۲	۱۲/۵۰	۸	۸/۵۱
موارد منفی	۳	۹/٦۷	۲	۸/۳۳	۰	۰/۰۰	۱	٦/۲۵	٦	٦/۳۸
جمع	۳۱	۱۰۰	۲٤	۱۰۰	۲۳	۱۰۰	۱٦	۱۰۰	۹٤	۱۰۰

یافته ها

از ۹۴ نمونه ۸۸ نمونه دارای EBA-175 بود. ژنوتیپ EBA-175 پ.فالسیپاروم از افراد آلوده جداسازی شد. طول تکثیر ناحیه ی III ژن EBA-175 نشان داد که اکثریت تنوع ژنتیکی در این محل رخ می دهد (۵،۶،۱۰). تفاوت اندازه ی آلل های FCR-3 و CAMP ژن EBA- 175 پلاسمودیوم فالسیپاروم تایید کننده وجود این آلل ها در منطقه مورد مطالعه است (شکل ۲). آلل کلاس های EBA-175 (FCR-3 و CAMP) شیوع قابل ملاحظه ای را در تمام مناطق(جدول ۲) نشان داد. فراوانی کلی آلل های FCR-3 و CAMP در منطقه ۹۳/۶۱ درصد بوده و فراوانی آلل FCR-3 در چابهار، ایرانشهر، سرباز به ترتیب ۱۶(۵۱/۶۱٪)، ۱۳ (۵۴/۱٪)، ۱۱ (۴۷/۸۲٪) و ۹(۵۶/۲۵٪) مورد بود. علاوه بر این فراوانی آلل CAMP در مناطق مذکور به ترتیب ۱۰ (۳۲/۲۵٪)، ۸ (۳۳/۳۳٪)، ۹ (۳۹/۱۳٪) و ۴ مورد (۲۵٪) بود.

بحث

با استفاده از روش Nested -PCR ، آلل های FCR-3 و CAMP ، ۸۸ فرد آلوده حاوی ژن EBA-175 *پلاسمودیوم فالسیپاروم* مشخص گردید. همچنین در مواردی هر دو آلل (حلقهC + حلقه F) از ژن EBA- 175 مشاهده شد. این مطالعات با نادیده گرفتن فراوانی فصلی از کلاس هر آلل انجام شد. در این مطالعه فراوانی ژنوتیپ آلل FCR-3 شایع تر بود(۵۲/۱۲٪) ، که مشابه داده های بدست آمده در منطقه Lao PDR (لائوس) در آسیا (۱۳) شهرستان سرباز در جنوب شرقی ایران(۱۴) شرق و مرکز آفریقا (۵)،Gabon در آفریقا (۱۵) و در کودکان بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم غنا(۱۲) می باشد .این اطلاعات با نتیجه گزارش شده از سودان (۱۶) و مناطق اندمیک برزیل متفاوت می باشد (۲). در حالی که جمعیت های مختلفی از *پلاسمودیوم فالسیپاروم* در نقاط مختلف جهان وجود دارند، گستردگی ژن آلل EBA-175 با توجه به منطقه جغرافیایی که مورد مطالعه قرار گرفته است باید متفاوت باشد(۱۴). علت احتمالی از تغییرات مشاهده شده در فراوانی آللی در میان مناطق جغرافیایی ممکن است ناشی از تفاوت ها ی در زمینه های ژنتیکی باشد و در جامعه مورد مطالعه ممکن است آلل EBA-175 متفاوتی را کد کند، در این حالت فراوانی آلل ژنوتیپ FCR-3 می تواند قابل پیش بینی باشد و در واقع تغییرات فراوانی این آلل در طول انتقالات فصلی می تواند در نتیجه انتخاب طبیعی باشد (۱۸). مطالعات نشان می دهد که عفونت در جنوب شرقی ایران از نظر افراد آلوده به مالاریا نسبت به سایر مناطق جغرافیایی جهان شیوع کمتری دارد(۱۵،۱۳) این یافته ها با نتایج بدست آمده توسط حیدری و همکاران در منطقه سرباز یکسان است (۱۹). این یافته ها با مطالعات انجام شده توسط Lao PDR که در آن توزیع آلل EBA-175 در بین استان های شمال و جنوب این منطقه متفاوت بوده (۱۳) و همچنین نتایج مطالعه Soulama در منطقه اندمیک مالاریایی بورکینافاسو به دلیل یافته های متفاوت و همچنین غالب بودن آلل C در این مناطق (برخلاف یافته های این مطالعه) سازگار نیست(۶،۵).

نتیجه گیری

اطلاعات این مطالعه جهت حمایت از توسعه یک واکسن بر اساس آنتی ژن EBA-175 لازم است. همچنین نتایج نشان دهنده سلطه قابل توجه آلل FCR-3 در منطقه مورد مطالعه است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه نتیجه پایان نامه دوره کارشناسی ارشد با شماره ثبت۳۴/ک و با کد ۵۴۲۳ مصوب در معاونت پژوهشی و تحقیقاتی و با هزینه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی – درمانی زاهدان صورت گرفته است. از تمامی کسانی که در انجام این مطالعه سهیم بودند و یا همکاری داشته اند صمیمانه تشکر و قدردانی می شود به ویژه مرکز ارتقاء سلامت (جهت مشاوره آماری)، مرکز تحقیقات عفونی و بیماری های گرمسیری، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی (جهت فراهم آوردن وسایل و تجهیزات مطالعه)، بیماران و همین طور کمیته تحقیقات دانشجوئی این دانشگاه که نقش عمده ای در انجام این مطالعه داشتند.

References

1. Tolia NH, Enemark EJ, Sim BK, Joshua-Tor L. *Structural basis for the EBA-175 erythrocyte invasion pathway of the malaria parasite Plasmodium falciparum*. Cell. 2005; 122(2): 183-93.

2. Perce-da-Silva DS, Banic DM, Lima-Junior JC, Santos F ,Daniel-Ribeiro CT, de Oliveira-Ferreira J, et al. *Evaluation of allelic forms of the Erythrocyte Binding Antigen 175 (EBA-175) in Plasmodium falciparum field isolates from Brazilian endemic area.* Malaria journal. 2011; 10(1): 146.

3. Al-Harthi SA. *Malaria drug resistant: current situation with reference to Saudi Arabia (review).* Journal of the Egyptian Society of Parasitology. 2011;41(3):553-64.

4. Salvador A, Hernandez RM, Pedraz JL, Igartua M. *Plasmodium falciparum* malaria vaccines: current status, pitfalls and future directions. Expert review of vaccines. 2012; 11(9): 1071-86.

5. Soulama I, Bigoga JD, Ndiaye M, Bougouma EC, Quagraine J, Casimiro PN, et al. *Genetic diversity of polymorphic vaccine candidate antigens (apical membrane antigen-1, merozoite surface protein-3, and erythrocyte binding antigen-175) in Plasmodium falciparum isolates from western and central Africa*. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2011;84(2):276-84.

6. Soulama I, Bougouma EC, Diarra A, Nebie I, Sirima SB. *Low-high season variation in Plasmodium falciparum erythrocyte binding antigen 175 (eba-175) allelic forms in malaria endemic area of Burkina Faso*. Tropical medicine & international health. 2010; 15(1): 51-9.

7. Peterson DS, Miller LH, Wellems TE. *Isolation of multiple sequences from the Plasmodium falciparum genome that encode conserved domains homologous to those in erythrocyte-binding proteins.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1995; 92(15): 7100-4.

8. Mayer DC, Kaneko O, Hudson-Taylor DE, Reid ME, Miller LH. *Characterization of a Plasmodium falciparum erythrocyte-binding protein paralogous to EBA-175*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2001; 98(9): 5222-7.

9. Sim BK, Orlandi PA, Haynes JD, Klotz FW, Carter JM, Camus D, et al. *Primary structure of the 175K Plasmodium falciparum erythrocyte binding antigen and identification of a peptide which elicits antibodies that inhibit malaria merozoite invasion.* The Journal of cell biology. 1990; 111(5 Pt 1): 1877-84.

10. Ebrahimzadeh A, Fazaeli A. *The Risk of Re-Emergence of Plasmodium malariae in South-East of Iran as Detected by Nested Polymerase Chain Reaction.* Asian Journal of Epidemiology. 2008; 1(2): 47-52.

11. Ebrahimzadeh A, Fouladi B, Fazaeli A. *High rate of detection of mixed infections of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum in South-East of Iran, using nested PCR.* Parasitology international. 2007; 56(1): 61-4.

12. Jakob PC, Frank P M, Möhl I, Dittrich S, Ekkehardt D, Rowland N O, et al. *Allelic dimorphism of the erythocyte binding antigen-175 (eba-175) gene of Plasmodium falciparum and severe malaria: Significant association of the C-segment with fatal outcome in Ghanaian children.* Malaria journal. 2004; 3(11): 1-6.

13. Dittrich S, Schwobel B, Jordan S, Vanisaveth V, Rattanaxay P, Christophel EM, et al. *Distribution of the two forms of Plasmodium falciparum erythrocyte binding antigen-175 (eba-175) gene in Lao PDR*. Malaria journal. 2003; 2: 23.

14. Heidari A, Keshavarz H, Dittrich S, Jelinek T. *Allelic Dimorphism of the Plasmodium falciparum ErythrocyteBinding Antigen-175 (EBA-175) Gene in the Southeast of Iran.* Iranian J Parasitol. 2009; 4(2): 17-22.

15. Toure FS, Bisseye C, Mavoungou E. *Imbalanced distribution of Plasmodium falciparum EBA-175 genotypes related to clinical status in children from Bakoumba, Gabon.* Clinical medicine & research. 2006; 4(1): 7-11.

16. Binks R, Baum J, Oduola A, Arnot D, Babiker H, Kremsner P, et al. *Population genetic analysis of the Plasmodium falciparum erythrocyte binding antigene-175 (eba-175) gene.* Mol Biochem Parasitol. 2001; 114(1): 63-70.

17. Esmailli A, Nateghpour M, Asmar M, Razavi M, Kanbara H, Uemura H, et al. *Detection of K76 T mutation pfcrt gene as an applicable genetic marker for prediction of choloroquine resistant falciparum malaria in isolates from an endemic district of Iran.* Iranian J Parasitol. 2008; 3(2): 48-56.

18. Ferreira MU, da Silva Nunes M, Wunderlich G. *Antigenic diversity and immune evasion by malaria parasites.* Clinical and diagnostic laboratory immunology. 2004; 11(6): 987-95.

19. Heidari A, Dittrich S, Jelinek T, Kheirandish A, Banihashemi K, Keshavarz H. *Genotypes and Invivo Resistance of Plasmodium falciparum Isolates in an Endemic Region of Iran*. Parasitology research. 2007; 100(3): 589-92.

Genotyping of C and F Regions of *Plasmodium Falciparum* EBA-175 in South-East of Iran

Jamshidi, A. (MSc)
MSc of Medical Parasitology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Mousavi Ghahfarrokhi, M. (MSc)
MSc of Medical Parasitology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Gharaei, A. (MSc)
MSc of Medical Parasitology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Ebrahimzadeh, A. (PhD)
Associate Professor of Parasitology, Department of Parasitology, Mycology and Medical Entomology Research Center, Infectious Diseases and Tropical Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Jaffari Modrek, M. (PhD)
Assistant Professor of Parasitology,Department of Parasitology, Mycology and Medical Entomology Research Center, Infectious Diseases and Tropical Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Ansari Moghadam, A. (PhD)
Associate Professor of Biostatistics and Epidemiology, Center for Health Promotion, Faculty of Health, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Mohammadi, S. (MSc)
PhD Student of Cellular and Molecular, Faculty of Advanced Medical Technology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Corresponding Author: Jamshidi, A.

Email: a.jamshidi@zaums.ac.ir

Received: 13 Apr 2013
Revised: 26 Oct 2013
Accepted: 28 Oct 2013

Abstract

Background and Objective: The *Plasmodium falciparum* EBA-175, via Sialic acid dependent glycophorin A, binds to red blood cells and thus plays a critical role in cell invasion. Some part of second allele in its gene encoding in FCR-3 (Section F) and CAMP (Section C) can be found. This study aimed to determine the prevalence of *Plasmodium falciparum* EBA-175KD alleles in southeastern Iran.

Material and Methods: In this cross-sectional study, using polymerase chain reaction Nest (Nested-PCR) with specific primers was used for the two parts of the EBA-175 gene to be proliferated. Ninety–four microscopic positive blood samples from individuals infected by Plasmodium *falciparum* were obtained from four different locations in southeastern Iran.

Results: Of 94 positive samples, 88 were antigen EBA-175KD. Genotype CAMP (714 bp) and FCR-3 (to 795 bp), respectively, in 31 (32.97 %) and 49 (52.12 %) were found. Eight samples have both FCR-3 and CAMP.

Conclusion: Both of EBA-175KD dimorphic genes were found. The frequency of FCR-3 allele was higher in the South East of Iran. Thus, this pattern can be considered in making Plasmodium *falciparum* vaccines for this area.

Key words*: Plasmodium Falciparum*; Erythrocyte Binding Antigen-175; South-East of Iran

This paper should be cited as: Jamshidi A, Mousavi Ghahfarrokhi M, Gharaei A, Ebrahimzadeh A, Jaffari Modrek M, Ansari Moghadam A, Mohammadi S. [Genotyping of C and F Regions of *Plasmodium Falciparum* EBA-175 in South-East of Iran]. MLJ. 2014; 8(1):36-41 [Article in Persian]