

## ارتباط نشانه‌های بالینی و ژنوتایپ ژیا ردیا دئودنالیس در بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس

### شهر کرمان

سودابه اعتمادی<sup>۱</sup>، ناصر ضیاعلی<sup>۲\*</sup>، زهرا بابایی<sup>۲</sup>، مجید فصیحی‌هرندی<sup>۲</sup>، ارغوان ضیاعلی<sup>۳</sup>، زهرا سالاری<sup>۴</sup>، حسین کامیابی<sup>۵</sup>

#### خلاصه

مقدمه: ژیا ردیازیس بیماری انگلی انسان بوده که عامل آن تک‌یاخته تاژکداری به نام ژیا ردیا دئودنالیس (ژیا ردیا لامبلیا) می‌باشد. ژیا ردیا یکی از شایع‌ترین عوامل اسهال در انسان و همچنین انگل شایع تعدادی از مهره‌داران می‌باشد. بررسی ژنوتایپی این تک‌یاخته در بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس و علائم بالینی آنها از اهداف این مطالعه بوده است.

روش: در این مطالعه در مجموع تعداد ۳۵۲ نمونه مدفوع از بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس از مراکز درمانی واقع در شهر کرمان با استفاده از روش فرمالین-اتر، مورد آزمایش قرار گرفت. در ۳۰ نمونه مدفوع با تعداد مناسب کیست ژیا ردیا، ابتدا تخلیص DNA، سپس تعیین ژنوتایپ به روش PCR-RFLP بر روی توالی ژن گلو تامات دهیدروژناز (gdh) انجام گرفت. داده‌های مربوط به علائم بالینی بیماران از طریق پرسش‌نامه تهیه و ارتباط آن با نتایج مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در ۳۵۲ بیمار مبتلا به ژیا ردیازیس بیشترین میزان آلودگی در سنین ۱۲-۰ سال بود که در مقایسه با گروه‌های سنی بالاتر اختلاف معنی‌داری را نشان می‌داد ( $P < 0/0001$ ). در این بیماران شایع‌ترین علائم بالینی درد شکمی (۷۱/۷٪)، اسهال (۶۹٪)، کرامپ شکمی (۵۴/۱٪) و کمترین علامت بی‌حالی (۲۰/۴٪) و تب (۱۶/۱٪) بود. بررسی ژنوتایپی ۳۰ نمونه از بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس به ترتیب ۱۸ نمونه (۶۰٪) را گروه All، ۵ نمونه (۱۶/۶٪) را گروه AI و ۷ نمونه (۲۳/۴٪) را گروه BIII نشان داد. در این بیماران بین علائم بالینی اسهال، درد شکمی و تهوع و ژنوتایپ انگل ارتباط معنی‌داری مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: فراوانی ژیا ردیازیس بیشتر در سنین زیر ۱۲ سال بود، اما علائم بالینی در سنین مختلف و جنس مذکر و مؤنث تقریباً یکسان بود. بین گروه ژنوتایپی A و اسهال ملایم و متناوب و بین گروه B و اسهال پایدار همبستگی دیده شد.

واژه‌های کلیدی: ژیا ردیا، علائم بالینی، ژنوتایپ، گلو تامات دهیدروژناز، کرمان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- استادیار انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات لیسمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- دانشیار انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۴- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۵- کارشناس، درمانگاه

شهید دادبین کرمان ۶- کارشناس، بخش انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشکده علوم پزشکی کرمان

\* نویسنده مسؤول، آدرس: کرمان، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، بخش انگل‌شناسی • آدرس پست الکترونیک: naserzia@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۲/۱۹ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۹/۱۱/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱۲/۱۱

## مقدمه

ژیاردیا دئودنالیس (ژیاردیا لامبلیا) یکی از تک‌یاخته‌های روده‌ای است که طیف وسیعی از مهره‌داران از جمله انسان و حیوانات را آلوده می‌نماید (۱). این تک‌یاخته یکی از شایع‌ترین تک‌یاخته‌های روده‌ای در جهان و یکی از انگل‌های روده‌ای شایع در آمریکای شمالی است و در کشورهای در حال توسعه به‌عنوان یک عفونت همگانی در دوره کودکی به‌شمار می‌رود (۲). ژیاوردیازیس با انتشار حدود ۲۸۰ میلیون مورد در هر سال و به‌طور مستقیم یعنی فرد به فرد یا غیر مستقیم، از طریق خوردن اتفاقی کیست ژیاوردیا به‌وسیله آب آشامیدنی و مواد غذایی آلوده منتقل می‌شود (۳).

در مناطق بومی حدود ۷۰٪ از افراد آلوده به ژیاوردیازیس علایم بیماری را ظاهر نمی‌سازند. در این مناطق بیشتر کودکان آلوده به ژیاوردیازیس علایم مربوطه را بروز می‌دهند اما بزرگسالان که بیشتر بدون علامت هستند نقش حاملان سالم را بازی می‌کنند (۴).

ژیاردیازیس ممکن است از یک حالت حامل بدون علامت تا یک عفونت حاد همراه با اسهال و درد شکم و یا عفونت مزمن با نشانه‌های بالینی درد شکم، اسهال مزمن، نفخ شکم، دفع چربی و سندرم سوءجذب در افراد تظاهر کند (۵).

در حال حاضر ایزوله‌های ژیاوردیا در پستانداران که از نظر مورفولوژی مشابه هستند به‌وسیله روش‌های مولکولی به هفت ژنوتایپ تقسیم‌بندی شده‌اند که ایزوله‌های انسانی ژیاوردیا در ۲ گروه اصلی ژنوتایپی A و B قرار گرفته‌اند. زیر گروه AI (شامل ایزوله‌های انسانی و برخی حیوانات) و زیر گروه AII ایزوله‌های انسانی و زیر گروه‌های BIII و BIV در گروه B ایزوله‌های انسانی را در بر می‌گیرند (۶، ۷). مطالعات سال‌های اخیر در برخی مناطق ایران پیرامون تعیین ژنوتایپ ایزوله‌های انسانی ژیاوردیا نتایج کم و بیش مشابهی را با سایر نقاط جهان نشان داده‌اند (۷، ۸).

علایم بالینی ژیاوردیا تقابلی از واکنش ایزوله‌های مختلف ژیاوردیا با میزبان انسانی و پاسخ‌های میزبان نسبت به انگل می‌باشد. هر چند مکانیسم‌های دقیق بیماری‌زایی شناخته نشده اما به‌نظر می‌رسد فاکتورهای متعددی دخیل باشند (۲). در مجموع مطالعات محدودی در رابطه با ژنوتایپ‌های ژیاوردیا دئودنالیس و نشانه‌های بالینی منتشر شده است.

مطالعات قبلی در نقاط مختلف ایران بیان‌گر این مطلب است که آلودگی به ژیاوردیازیس در نقاط مختلف کشور وجود داشته است (۹) و به‌عنوان یکی از تک‌یاخته‌های روده‌ای شایع در ناحیه کرمان گزارش شده است (۱۰-۱۲). با توجه به اهمیت عفونت ژیاوردیازیس در این منطقه هدف از انجام این مطالعه شناخت ژنوتایپ‌های انگل و ارتباط احتمالی بین ژنوتایپ‌های مختلف ژیاوردیا و نشانه‌های بالینی بیماران بوده است.

## روش بررسی

این مطالعه از نوع مقطعی - توصیفی و جامعه مورد مطالعه از بیماران مبتلا به ژیاوردیازیس در شهر کرمان انتخاب گردید. نمونه‌گیری از مراکز درمانی واقع در شهر کرمان از اسفند ۱۳۸۷ تا مهر ماه ۱۳۸۸ به‌طول انجامید. در این مرحله با هماهنگی برخی پزشکان مراکز درمانی شهر کرمان برای بیماران که به‌دلیل ناراحتی‌های روده‌ای به این مراکز مراجعه می‌کردند پس از انجام آزمایشات انگل‌شناسی در این مراکز پرسش‌نامه‌ای حاوی سؤالات دموگرافیک و نشانه‌های روده‌ای تکمیل می‌شد. پس از تأیید ژیاوردیا لامبلیا در نمونه مدفوع بیماران توسط این مراکز، نمونه آنها به آزمایشگاه بخش انگل‌شناسی دانشکده پزشکی افضلی‌پور منتقل شده، سپس با روش فرمالین - اتر مورد آزمایش قرار می‌گرفت (۸). از ۳۵۲ بیمار مبتلا به ژیاوردیازیس که بر حسب جنس به‌طور مساوی در این مطالعه شرکت داده شدند، نمونه‌گیری به‌عمل آمد.

## جمع‌آوری و تغلیظ کیست‌ها

در این مرحله ۳۰ نمونه مدفوع که دارای تعداد مناسبی (میانگین ۱۵ عدد کیست در ۱۰ میدان میکروسکوپی) کیست ژنوتایپ بودند، برای انجام آزمایش تغلیظ آماده شدند. این نمونه‌ها با استفاده از روش شیب غلظت سوکرز تغلیظ شده و تا زمان آزمایش مولکولی در فریزر  $-20^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند (۷).

## استخراج DNA

تخلیص DNA بر روی نمونه‌های تغلیظ شده از کیست ژنوتایپ انجام شد. در این مرحله ابتدا دیواره کیست با استفاده از glass beads (0.45-0.52 mm diameter) به‌طور مکانیکی خرد شده، سپس تکنیک Freeze-thawing (۱۰ سیکل به مدت ۳ دقیقه) انجام شده و به دنبال آن SDS 1% و proteinase K (10mg/ml) (۱/۲۰ حجم نهایی) اضافه گردید. مرحله انکوباسیون در دمای  $55^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴ ساعت انجام گرفت.

در خاتمه با استفاده از QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Company) و دستورالعمل شرکت سازنده، DNA نمونه‌ها استخراج و در فریزر  $-20^{\circ}\text{C}$  تا زمان انجام آزمایش PCR نگهداری شد.

## آزمایش PCR

در این مرحله با تکثیر ژن *gdh* در تک‌یاخته ژنوتایپ، پروتکل PCR انجام شد. در واکنش PCR قطعه 432 bp با پرایمر فوروارد 5'-CAG TAC AAC TCY GCT CTC GG و پرایمر ریورس 5'-GTT RTC CTT GCA CAT CTC C-3 تکثیر شد (۱۳). مخلوط واکنش PCR شامل 10μL از DNA الگو، 2.5μL از 10X buffer و 0.5μL از dNTPs (5Mm) و 1U از Tag polymerase و 50 pmol از هر پرایمر در حجم نهایی 25μL بود. برنامه PCR در دستگاه ترموسیکلر

(Corbbet Germany) شامل ۱ سیکل در  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۸ دقیقه (دنا توره شدن)، سپس ۳۵ سیکل در  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱ دقیقه،  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۹۰ ثانیه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲ دقیقه و یک سیکل پایانی  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ دقیقه انجام شد. از سویه استاندارد ژنوتایپ (ATCC® Number : 30888TM) به‌عنوان کنترل مثبت و آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. در خاتمه محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱٪ رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بر مایند الکتروفورز شد.

آزمایش RFLP با استفاده از آنزیم‌های برشی BspI (NlaIV) و RsaI برای تفکیک ژنوتایپ‌های A و B و زیرگروه‌های آنها (A1, AII, BIII, BIV) بر روی محصول PCR انجام شد (۱۳).

در پرسش‌نامه قوام مدفوع در ۴ فرم (قوام‌دار، نرم، شل، اسهالی) و نمای بالینی اسهال در ۲ حالت متناوب و پایدار (اسهال پایدار مربوط به بیماری است که اسهال در آنها ۲-۴ هفته دوام داشته باشد) درج شد.

علائم درج شده در پرسش‌نامه بیماران شامل تب، کاهش وزن، سردرد، درد شکمی، کرامپ شکمی، کاهش اشتها، تهوع و بی‌حالی می‌شد.

در نهایت مجموع علائم بالینی بیماران که صرفاً به تک‌یاخته ژنوتایپ آلوده بودند به‌همراه اطلاعات مربوط به ژنوتایپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (V17) و آزمون آماری Chi-square مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

## نتایج

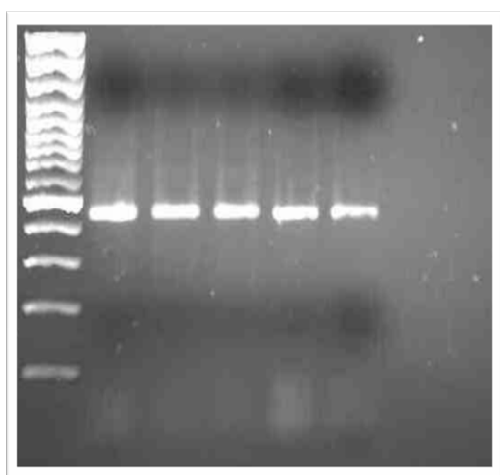
در این مطالعه ۳۵۲ نفر بیمار مبتلا به ژنوتایپ‌های با تعداد مساوی از هر دو جنس شرکت داده شدند. میانگین سن افراد ۱۸/۷ سال، حداکثر سن ۷۸ سال و حداقل سن ۱ سال بود. افراد ۱۰ ساله بیشترین میزان آلودگی را داشتند (جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی نشانه‌های ژیاوردیازیس در ۳۵۲ بیمار مراجعه کننده به مراکز درمانی برحسب گروه سنی

علائم	تب	کاهش وزن	سردرد	درد شکمی	کرامپ شکمی	کاهش اشتها	تهوع	خستگی	گروه سنی
	۲۹ (۱۶/۵)	۶۴ (۳۶/۵)	۴۷ (۲۷/۱)	۱۲۱ (۶۹/۵)	۹۷ (۵۵/۷)	۵۳ (۳۰/۲)	۶۳ (۳۶/۲)	۳۲ (۱۸/۲)	۰-۱۲ ۱۷۵ (۴۹/۵)
	۱۹ (۱۶/۱)	۴۳ (۳۶/۴)	۲۹ (۲۴/۵)	۸۵ (۷۲)	۶۳ (۵۳/۳)	۴۴ (۳۷/۲)	۵۳ (۴۴/۹)	۲۶ (۲۲)	۱۳-۲۶ ۱۱۸ (۳۳)
	۷ (۱۵/۹)	۱۱ (۲۵)	۱۳ (۲۹/۵)	۳۲ (۷۲/۷)	۲۰ (۴۵/۴)	۱۳ (۲۹/۵)	۱۴ (۳۱/۸)	۱۰ (۲۲/۷)	۲۷-۴۶ ۴۴ (۱۲/۴)
	۲ (۱۲/۵)	۱۰ (۶۲/۵)	۵ (۳۱/۲)	۱۴ (۸۷/۵)	۱۰ (۶۲/۵)	۲ (۱۲/۵)	۵ (۳۱/۲)	۴ (۲۵)	۴۷ > ۱۵ (۴/۲)
جمع	۵۷ (۱۶/۱)	۱۲۸ (۳۶/۲)	۹۴ (۲۶/۷)	۲۵۲ (۷۱/۶)	۱۹۱ (۵۴/۱)	۱۱۲ (۳۱/۷)	۱۳۵ (۳۸/۳)	۷۲ (۲۰/۳)	۳۵۲ (۱۰۰)
Pvalue	۰/۹۹	۰/۷۹	۰/۱۹	۰/۳۹	۰/۸۲	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۵۹	

اعداد بیان‌گر تعداد (درصد) می‌باشند.

و BIV با استفاده از آنزیم برشی RsaI، ژنوتیپ BIII با ۴ باندها (۳۰۰، ۱۳۰ و ۴۰ جفت باز) در الکتروفورز مشاهده گردید.



تصویر ۱. الکتروفورز محصول PCR برخی از ایزوله‌های ژیاوردیا

لامبلیا با ژن *gdh* بر روی ژل آگارز ۱ درصد

ستون‌های ۱ تا ۵ محصول PCR نمونه‌های بالینی مورد مطالعه و ستون M مارکر ۱۰۰bp

در این مطالعه شایع‌ترین علامت درد شکمی (۷۱/۷٪) و کمترین علائم بی‌حالی (۲۰/۴٪) و تب (۱۶/۱٪) بود. هم‌چنین ۶۹٪ از بیماران مبتلا به اسهال بودند. در بین گروه‌های سنی، گروه سنی ۰-۱۲ سال بیشترین درصد آلودگی (۴۹/۵٪) را به خود اختصاص داد که در مقایسه با سایر گروه‌های سنی بالاتر، اختلاف معنی‌دار نشان داد ( $P < 0.0001$ ). کمترین میزان آلودگی در سنین بالای ۴۷ سال (۴/۲٪) مشاهده شد.

در آزمایشات مولکولی با استفاده از ژن *gdh* آزمایش PCR در ۳۰ نمونه انجام شد و محصول PCR با باند ۴۳۲bp آشکار گردید (تصویر ۱). هم‌چنین با استفاده از آنزیم برشی (NIaIV) در مورد ژنوتیپ‌های AI سه باندها (۱۵، ۱۲۰ و ۹۰ جفت باز) و در مورد ژنوتیپ AII ۴ باندها (۹۰، ۱۲۰، ۸۰ و ۷۰ جفت باز) و ژنوتیپ B ۲ باندها (۱۲۰ و ۴۰ جفت باز) در الکتروفورز مطابق با مارکر مولکولی ۵۰bp آشکار شد (تصویر ۲). هم‌چنین برای تشخیص ژنوتیپ‌های BIII

بالینی، اسهال، درد شکمی و تهوع با ژنوتایپ‌های زیاردیادئودنالیس (BII, AII, AI) ارتباط معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ) و بین سایر علائم بالینی و ژنوتایپ‌ها ارتباط معنی‌داری دیده نشد (جدول ۲).

**جدول ۲. ارتباط بین علائم بیماری‌زایی ژنوتایپ‌های مورد شناسایی در ۳۰ بیمار آلوده به زیاردیادئودنالیس**

علائم	P value
نمای بالینی اسهال	۰/۰۰۳*
تب	۰/۷۹۹
وزن	۰/۶۴۱
سر درد	۰/۵۴۲
دردهای شکمی	۰/۰۱۱*
کرامپ شکمی	۰/۲۲۸
کاهش اشتها	۱/۰۰۰
تهوع	۰/۰۰۹*
خستگی	۰/۸۲۳

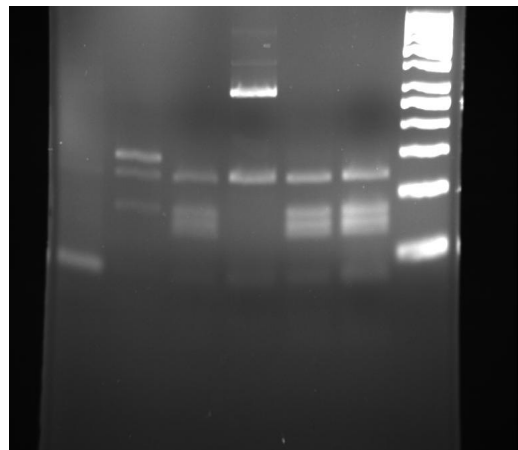
\* ارتباط معنی‌دار

در این مطالعه بین گروه ژنوتایپی A (مجموع AI, AII) و اسهال متناوب (تداوم نداشتن اسهال به مدت مشخص) و بین گروه ژنوتایپی BIII و اسهال پایدار (تداوم مدت زمان اسهال بین ۲-۴ هفته) همبستگی دیده شد (جدول ۳).

**جدول ۳. میزان وضعیت اسهال (متناوب و پایدار) و تعداد ژنوتایپ‌های زیاردیادئودنالیس**

در ۳۰ بیمار مبتلا به زیاردیادئودنالیس

ژنوتایپ	نمای بالینی اسهال			جمع
	متناوب	دایم	فاقد اسهال	
AI	۵	۰	۰	۵
AII	۱۲	۰	۶	۱۸
BIII	۰	۳	۴	۷
جمع	۱۷	۳	۱۰	۳۰



**تصویر ۲. تأثیر آنزیم BspLI بر روی محصول PCR زیاردیادئودنالیس بر روی ژل high resolution آگار ۳٪**

Lanes 1, 2, 4 ژنوتایپ All و Lane 3 ژنوتایپ B و Lane 5 ژنوتایپ AI و Lane M سایز مارکر 50 bp

با توجه به نتایج PCR-RFLP از ۳۰ نمونه مورد آزمایش، ۱۸ نمونه (۶۰٪) دارای ژنوتایپ AII، ۵ نمونه دارای ژنوتایپ AI و ۷ نمونه (۲۳/۳٪) دارای ژنوتایپ BIII بودند. لازم به ذکر است که در این مطالعه ژنوتایپ BIV و ژنوتایپ‌های مختلط به دست نیامد. از ۳۰ نمونه مدفوع که آزمایشات مولکولی بر روی آنها صورت گرفت، ۲۰ نمونه مدفوع اسهالی، ۶ مورد مدفوع نرم و ۴ مورد مدفوع قوام‌دار بودند. در مقایسه آماری بین علائم

## بحث

در بررسی مولکولی مطالعه حاضر شیوع ژنوتایپ‌های ژیاردیا، AI، AII، BIII به ترتیب ۱۶/۷٪، ۶۰٪ و ۲۳/۳٪ به دست آمد که هماهنگ با نتایج بابایی و همکاران (۷) بود، در حالی که با مطالعه فلاح و همکاران (۸) تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد. ژنوتایپ AI در این مطالعه برای اولین بار از مطالعات مولکولی ژیاردیا در ایران گزارش می‌گردد و با توجه به پتانسیل زئونوزی این ژنوتایپ، مطالعات تکمیلی بیشتری را طلب می‌نماید. نتایج سایر مطالعات بر روی ژیاردیازیس الگوی متفاوتی از ژنوتایپ‌های ژیاردیا را در مناطق مختلف جهان نشان می‌دهد (۳). نتایج این بررسی موافق با مطالعات انجام شده در برزیل و ایتوپیی (۲۱، ۲۰) و متفاوت با نتایج به دست آمده در هلند می‌باشد (۲۰، ۱۹). همان‌طور که در مقدمه بیان شد مطالعات محدودی در مورد رابطه بین ژنوتایپ‌های ژیاردیا دئودنالیس و نشانه‌های بالینی منتشر شده است که نتایج این مطالعه با برخی از مطالعات انجام گرفته هماهنگی دارد (۲۲).

در بررسی Homan و همکاران ارتباط قوی بین گروه A و اسهال ملایم و متناوب و بین گروه B و اسهال پایدار در ۱۸ بیمار در طیف سنی ۸ تا ۶۰ سال وجود داشت که با نتیجه مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۲۲).

در مقابل Read و همکاران ارتباط قوی بین گروه A و عفونت‌های علامت‌دار و بین گروه B و عفونت‌های فاقد علامت در ۲۳ کودک زیر ۵ سال در استرالیا و در ۲۱۱ کودک زیر ۱۰ سال در بنگلادش یافتند (۲۳).

هم‌چنین نتیجه یک مطالعه در اسپانیا بر روی ۱۰۸ بیمار در دامنه سنی ۲ تا ۷۲ سال نشان داده که ارتباط بین گروه AII و علائم بیماری و گروه B و عفونت‌های فاقد علامت وجود دارد که نتایج این دو مطالعه با نتایج مطالعه حاضر تفاوت دارد (۲۴).

در مجموع با مقایسه یافته‌های مطالعه حاضر و سایر مطالعات مشابه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که بر اساس مناطق جغرافیایی و مارکرهای مولکولی الگوی متفاوتی از

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد بیشترین میزان آلودگی در سنین زیر ۱۲ سال بوده است که با مطالعات قبلی از سایر مناطق جهان و نقاط مختلف کشور و هم‌چنین با مطالعات انجام شده در کرمان هماهنگی دارد (۱۶، ۱۴، ۱۲، ۱۱، ۹، ۱۶). بالابودن آلودگی در این گروه سنی نسبت به سنین بالاتر به دلایل متعددی از جمله تماس بیشتر این گروه سنی با خاک و محیط آلوده، عدم رعایت کامل بهداشت، تماس مستقیم با یگدیگر و احتمال عدم تکامل سیستم ایمنی، می‌تواند مرتبط باشد (۹).

با توجه به نتایج این بررسی، نشانه‌های ژیاردیازیس در گروه‌های سنی مختلف و هم‌چنین در دو جنس تقریباً یکسان بود و هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین علائم ژیاردیا در گروه‌های سنی مختلف و در جنس مؤنث و مذکر دیده نشد.

در این مطالعه شایع‌ترین نشانه‌ها به ترتیب درد شکمی (۷۱/۷٪) و اسهال (۶۹٪) بود و بی‌حالی (۲۰/۴٪) و تب (۱۶/۱٪) کمترین شیوع را داشتند که با نتایج سایر پژوهش‌ها مطابقت و یا تفاوت‌هایی دیده می‌شود (۲).

اسهال یکی از علائم شایع و اصلی ناشی از ژیاردیازیس می‌باشد که در بعضی مطالعات بین ۶۴٪ تا ۱۰۰٪ از افراد مبتلا به ژیاردیازیس دارای این علامت بوده‌اند (۱۸) و در این مطالعه نیز ۶۹٪ از افراد مبتلا به اسهال بودند.

میزان شیوع درد شکم در بین بیماران متفاوت بوده و تا ۴۴٪ گزارش شده است و در این مطالعه و فور درد شکم ۷۱/۷٪ به دست آمد. در مقابل، میزان و فور علامت تهوع در بعضی مطالعات حدود ۳۶-۱۱٪ درصد بوده که در مطالعه حاضر ۳۸/۵٪ به دست آمد که تفاوت در میزان این علائم می‌تواند تا اندازه‌ای به وضعیت سیستم ایمنی میزبان و قدرت ویرولانسی استرین‌های احتمالی انگل و دیگر عوامل ناشناخته مربوط باشد (۱۷، ۱۸، ۲).

## سپاسگزاری

بدین وسیله از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به دلیل حمایت مالی این طرح تحقیقاتی تشکر به عمل می‌آید. همچنین از کارکنان گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی افضل‌ی پور به‌ویژه آقایان مهدی زارعان، رضا فتوحی و حسین آغاسی به دلیل همکاری و راهنمایی در انجام آزمایشات سپاسگزاری می‌گردد.

ژنوتایپ‌های ژیاودیادئودنالیس به دست آمده و با توجه به هتروژنیسیتهی انگل و مسایل مبهم در پاتوفیزیولوژی آن و میزبان و همچنین جنبه‌های ژنوتایپ آن در تحقیقات آتی پیرامون ژیاودیادئودنالیس نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه می‌باشد.

### The Correlation between Clinical Signs and Genotypes of *Giardia duodenalis* Isolated from Patients with Giardiasis in Kerman City

Etamadi S., B.Sc.<sup>1</sup>, Zia-Ali N., Ph.D.<sup>2\*</sup>, Babai Z., Ph.D.<sup>2</sup>, Fasihi Harandi M., Ph.D.<sup>3</sup>, Zia-Ali A.,<sup>4</sup>, Salari Z., B.Sc.,<sup>5</sup>, Kamyabi H., B.Sc.<sup>6</sup>

1. M.Sc. Student of Parasitology, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Assistant Professor of Parasitology, Afzalipour School of Medicine, & Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Associate Professor of Parasitology, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
4. Student of Medicine, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
5. Staff Member, Dadbin Health Care Center, Kerman, Iran
6. Staff Member, Department of Parasitology, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

\* Corresponding author, e-mail: naserzia@yahoo.com

(Received: 9 March 2010 Accepted: 1 March 2011)

#### Abstract

**Background & Aims:** Giardiasis is one of the human parasitic diseases caused by a flagellate protozoan named *Giardia duodenalis* (*G.lamblia*). *Giardia* is one of the most common organisms causing diarrhea in human and also a common gastrointestinal parasite in vertebrates.

**Methods:** A total of 352 stool samples were collected from patients infected with giardiasis referred to health centers in Kerman city. Samples were examined by formalin- ether concentration procedure. First, DNA extraction was performed on 30 stool samples containing adequate *Giardia* cysts and then PCR-RFLP was done on glutamate dehydrogenase (gdh) marker. Clinical signs of patients were recorded in a questionnaire and their relationships with molecular results were analyzed.

**Results:** The highest rate of infection was in the age group of 0-12 years with significant difference with other age groups ( $P < 0.0001$ ). The most common clinical signs were abdominal pain (71.7%), diarrhea (69%), abdominal cramping (54.1%) and the least common signs were malaise (20.4%) and fever (16.1%). Of all 30 isolates, 18 samples (60%) were found as genotype All, 5 ones (16.7%) belonged to AI assemblage and 7 samples (23.3%) were BIII assemblage. There was a significant difference between genotyping of *Giardia* and clinical signs of diarrhea, abdominal signs and nausea ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Higher prevalence of Giardiasis was found in the age group below 12 years, but clinical signs in different age groups and two sexes were identical. Assemblage A showed correlation with mild intermittent diarrhea and assemblage B had correlation with persistent diarrhea.

**Keywords:** *Giardia*, Signs and symptoms, Genotype, Glutamate dehydrogenase, Kerman

## References

1. Thompson R.C, Reynoldson J.A, Mendis A.H. *Giardia* and giardiasis. *Adv Parasitol* 1993; 32: 71-160.
2. David R.H. Giardiasis. In: Gillespies S.H., Pearson R.D. (editors). *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. 9<sup>th</sup> ed., USA, John Wiley & Sons Ltd, PP 227-8.
3. Thompson R.C. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet Parasitol* 2004; 126(1-2): 15-35.
4. O'Handley R.M, Olson M.E, Fraser D, Adam PJ, Tompson R.C.A, et al. Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. *Vet Parasitol* 2000; 90(3): 193-200.
5. Barigye R., Dyer N.W, Newell T.K. Molecular and immunohistochemical detection of assemblage E, *Giardia duodenalis* in scouring North Dakota calves. *Vet Parasitol* 2008; 157(3-4): 196-202.
6. Brown H.W, Neva F. *A Basic clinical parasitology*. 5<sup>th</sup> ed., USA, prentice-Hall Inc, 1903; pp 45-6.
7. Babaei Z., Oormazdi H, Akhlaghi L, Rezaie S, Razmjou E, Soltani- Arabshahi SK, et al. Molecular characterization of the Iranian isolates of *Giardia lamblia* application of the glutamate dehydrogenase gene. *Iranian J Publ Health* 2008; 37(2): 75-82.
8. Fallah E, Hatam Nahavandi K, Jamali R, Mahdavi poor B, Asghatzadeh M. Molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from human and animal reservoirs by PCR-RFLP. *J Biol Sci* 2008; 8(5): 1-6.
9. Sadjjadi S, Tanideh N. Nutritional Status of Preschool Children Infected With *Giardia Intestinalis*. *Iranian J Publ Health* 2005; 34(4): 51-7.
10. Sharifi I, Elahi R. Prevalence of clinical symptom giardiasis in suburb kerman and importance of repeat stool test in dignosis *Giardia Lamblia*. *J Teb va Tazkyeh* 1995; 15: 59-66 [Persian].
11. Sharifi I, Keshavarz H. The prevalence of intestinal in 1 to 11 year old children in Kerman. *J Drug and Treatment* 1993; 121: 7-11 [Persian].
12. Zia-Ali N, Masood J. A survey of the prevalence of intestinal parasites in city of Kerman. *J Kerman Univ Med Sci* 1996; 3(3): 129-34 [Persian].
13. Read C.M, Monis PT, Thompson RC. Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Infect Genet Evol* 2004; 4(2): 125-30.
14. Heidari A, Rokni M. Prevalence of Intestinal Parasites among Children in Day-care Centers in Damghan-Iran. *Iranian J Publ Health* 2003; 32(1): 31-4.
15. Markell EK, Voge M, John DT. *Medical Parasitology*. 7<sup>th</sup> ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1992; PP 67-8.
16. Sadjjadi S.M., Massoud J. Prevalence pattern of *Giardia lamblia* in the rural areas in the north of Iran. In: Thompson RCA, Reynoldson JA, Lymber AJ (editors), *Giardia from Molecules to Disease*, 1<sup>st</sup> ed., U.K., CABI publishing, 1994; p365.
17. Dib HH, Lu SQ, Wen SF. Prevalence of *Giardia lamblia* with or without diarrhea in South East, South East Asia and the Far East. *Parasitol Res* 2008; 103(2): 239-51.



18. Dawson D. Foodborne protozoan parasites. *Int J Food Microbiol* 2005; 103(2): 207-27.
19. Souza S, Gennari SM, Richtzenhain LJ, Pena HF, Funada MR, Cortez A, et al. Molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from humans, dogs, cats and cattle from the state of Sao Paulo, Brazil, by sequence analysis of fragments of glutamate dehydrogenase (gdh) coding gene. *Vet Parasitol* 2007; 149(3-4): 258-64.
20. Gelanew T., Lalle M, Hailu A, Pozio E, Caccio SM. Molecular characterization of human isolates of *Giardia duodenalis* from Ethiopia. *Acta Trop* 2007; 102(2): 92-9.
21. Van der Giessen J.W, de Veris A, Ross M, Wialinga P, Kortbeek LM, Mank T.G. Genotyping of *Giardia* in Dutch Patients and animals: A phylogenetic analysis of human and animal isolates. *Int J Parasitol* 2006; 36(7): 849-58.
22. Homan W.L., Mank T.G. Human giardiasis: genotype linked differences in clinical symptomatology. *Int J Parasitol* 2001; 31(8): p 822-6.
23. Read CM, Walters J, Robertson ID, Thompson RC. Correlation between genotype of *Giardia duodenalis* and diarrhoea. *Int J Parasitol* 2002; 32(2): 229-31.
24. Sahagun J, Clavel A, Goni P, Seral C, Liorente MT, Castilo FJ, et al. Correlation between the presence of symptoms and the *Giardia duodenalis* genotype. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27(1): 81-3.