● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هجدهم، شمارهٔ ٤، ص ۳۳۸-۳۳۰، ۱۳۹۰

مقالهٔ پژوهشی

ارتباط نشانه‌های بالینی و ژنوتایپ ژیاردیا دئودنالیس در بیماران مبتلا به ژیاردیازیس شهر کرمان

سودابه اعتمادی[۱]، ناصر ضیاعلی[*۲]، زهرا بابایی[۲]، مجید فصیحی‌هرندی[۳]، ارغوان ضیاعلی[٤]، زهرا سالاری[٥]، حسین کامیابی[٦]

خلاصه

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

روش: در این مطالعه در مجموع تعداد ۳۵۲ نمونه مدفوع از بیماران مبتلا به ژیاردیازیس 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 ژیاردیا، ابتدا تخلیص DNA، سپس تعیین ژنوتایپ به روش PCR-RFLP بر روی توالی ژن گلوتامات دهیدروژناز(gdh) انجام گرفت. داده‌های مربوط به علایم بالینی بیماران از طریق پرسش‌نامه تهیه و ارتباط آن با نتایج مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در ۳۵۲ بیمار مبتلا به ژیاردیازیس بیشترین میزان آلودگی در سنین ۱۲-۰ سال بود که در مقایسه با گروه‌های سنی بالاتر اختلاف معنی‌داری را نشان می‌داد (P<۰/۰۰۰۱). در این بیماران شایع‌ترین علایم 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 ژیاردیازیس به‌ترتیب ۱۸ نمونه (۶۰٪) را گروه AII، ۵ نمونه (۱۶/۶٪) را گروه AI و ۷ نمونه (۲۳/۴٪) را گروه BIII نشان داد. در این بیماران بین علایم بالینی اسهال، درد شکمی و تهوع و ژنوتایپ انگل ارتباط معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: فراوانی ژیاردیازیس بیشتر در سنین زیر ۱۲ سال بود، اما علایم 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 :ژیاردیا، علایم بالینی، ژنوتایپ، گلوتامات دهیدروژناز، کرمان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲-استادیار انگل شناسی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- دانشیار انگل شناسی، 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). ژیاردیازیس با انتشار حدود ۲۸۰ میلیون مورد در هر سال و به‌طور مستقیم یعنی فرد به فرد یا غیر مستقیم، از طریق خوردن اتفاقی کیست ژیاردیا به‌وسیله آب آشامیدنی و مواد غذایی آلوده منتقل می‌شود (۳).

در مناطق بومی حدود ۷۰٪ از افراد آلوده به ژیاردیازیس علایم بیماری را ظاهر نمی‌سازند. در این مناطق بیشتر کودکان آلوده به ژیاردیازیس 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 ژیاردیا در پستانداران که از نظر مورفولوژی مشابه هستند به‌وسیله روش‌های مولکولی به هفت ژنوتایپ تقسیم‌بندی شده‌اند که ایزوله‌های انسانی ژیاردیا 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،۲). مطالعات سال‌های اخیر در برخی مناطق ایران پیرامون تعیین ژنوتایپ ایزوله‌های انسانی ژیاردیا نتایج کم وبیش مشابهی را با سایر نقاط جهان نشان داده‌اند (۸،۷).

علایم بالینی ژیاردیا تقابلی از واکنش ایزوله‌های مختلف ژیاردیا 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 ژیاردیا دئودنالیس و نشانه‌های بالینی منتشر شده است.

مطالعات قبلی در نقاط مختلف ایران بیان‌گر این مطلب است که آلودگی به ژیاردیازیس در نقاط مختلف کشور وجود داشته است (۹) و به‌عنوان یکی از تک‌یاخته‌های روده‌ای شایع در ناحیه کرمان گزارش شده است (۱۲-۱۰).

با توجه به اهمیت عفونت ژیاردیازیس در این منطقه هدف از انجام این مطالعه شناخت ژنوتایپ‌های انگل و ارتباط احتمالی بین ژنوتایپ‌های مختلف ژیاردیا و نشانه‌های بالینی بیماران بوده است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مقطعی- توصیفی و جامعه مورد مطالعه از بیماران مبتلا به ژیاردیازیس 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 بیمارانی 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 ژیاردیا 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 ژیاردیازیس 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 ژیاردیا 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 ۲۰°C- نگهداری شدند (۷).

استخراج DNA

تخلیص DNA بر روی نمونه‌های تغلیظ شده از کیست ژیاردیا 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 proteinase K (10mg/ml) و SDS 1% (۱/۲۰ حجم نهایی) اضافه گردید. مرحله انکوباسیون در دمای ۵۵ °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 فریز و ۲۰°C- تا زمان انجام آزمایش PCR نگهداری شد.

آزمایش PCR

در این مرحله با تکثیر ژن gdh در تک‌یاخته ژیاردیا، 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 ۹۴°C به مدت ۸ دقیقه (دناتوره شدن)، سپس ۳۵ سیکل در ۹۴°C به مدت ۱ دقیقه، ۶۰°C به مدت ۹۰ ثانیه، ۷۲°C به مدت ۲ دقیقه و یک سیکل پایانی ۷۲°C به مدت ۷ دقیقه انجام شد. از سویه استاندارد ژیاردیا (ATCC® Number : 30888TM) به‌عنوان کنترل مثبت و آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. در خاتمه محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱٪ رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم برماید الکتروفورز شد.

آزمایش RFLP با استفاده از آنزیم‌های برشی BspLI (NIaIV) و RsaI برای تفکیک ژنوتایپ‌های A و B و زیرگروهای آنها (AI,AII, BIII, BIV) برروی 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 بیمارانی است که اسهال در آنها ۴-۲ هفته دوام داشته باشد) درج شد.

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

در نهایت مجموع علایم بالینی بیمارانی که صرفاً به تک‌یاخته ژیاردیا آلوده بودند به‌همراه اطلاعات مربوط به ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (V17) وآزمون آماری Chi-square مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

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

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

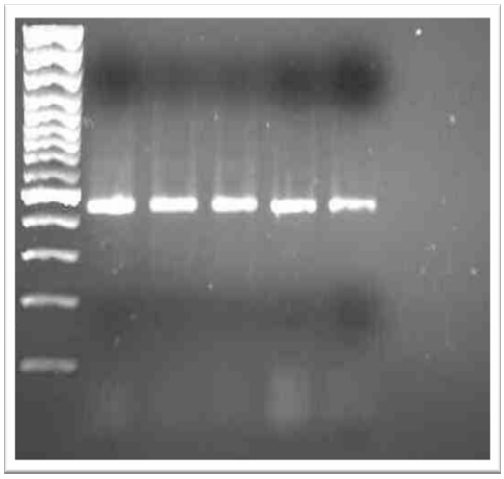
علایم / گروه سنی	تب	کاهش وزن	سردرد	درد شکمی	کرامپ‌شکمی	کاهش اشتها	تهوع	خستگی
۰-۱۲ (٤۹/۵) ۱۷۵	(۱۶/۵) ۲۹	(۳۶/۵) ۶۴	(۲۷/۱) ۴۷	(۶۹/۵) ۱۲۱	(۵۵/۷) ۹۷	(۳۰/۲) ۵۳	(۳۶/۲) ۶۳	(۱۸/۲) ۳۲
۱۳-۲٦ (۳۳) ۱۱۸	(۱۶/۱) ۱۹	(۳۶/۴) ۴۳	(۲۴/۵) ۲۹	(۷۲) ۸۵	(۵۳/۳) ۶۳	(۳۷/۲) ۴۴	(۴۴/۹) ۵۳	(۲۲) ۲۶
۲۷ -٤٦ (۱۲/٤) ٤٤	(۱۵/۹) ۷	(۲۵) ۱۱	(۲۹/۵) ۱۳	(۷۲/۷) ۳۲	(۴۵/۴) ۲۰	(۲۹/۵) ۱۳	(۳۱/۸) ۱۴	(۲۲/۷) ۱۰
٤۷ > (٤/۲) ۱۵	(۱۲/۵) ۲	(۶۲/۵) ۱۰	(۳۱/۲) ۵	(۸۷/۵) ۱۴	(۶۲/۵) ۱۰	(۱۲/۵) ۲	(۳۱/۲) ۵	(۲۵) ۴
جمع (۱۰۰) ۳۵۲	(۱۶/۱) ۵۷	(۳۶/۲) ۱۲۸	(۲۶/۷) ۹۴	(۷۱/۶) ۲۵۲	(۵۴/۱) ۱۹۱	(۳۱/۷) ۱۱۲	(۳۸/۳) ۱۳۵	(۲۰/۳) ۷۲
Pvalue	۰/۹۹	۰/۷۹	۰/۱۹	۰/۳۹	۰/۸۲	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۵۹

اعداد بیان‌گر تعداد (درصد) می‌باشند.

در این مطالعه شایع‌ترین علامت درد شکمی (۷۱/۷٪) و کمترین علایم بی‌حالی (۲۰/۴٪) و تب (۱۶/۱٪) بود. هم‌چنین ۶۹٪ از بیماران مبتلا به اسهال بودند.

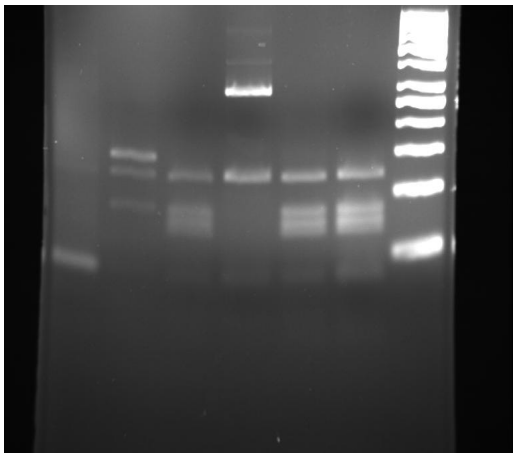
در بین گروه‌های سنی، گروه سنی ۱۲-۰ سال بیشترین درصد آلودگی (۴۹/۵٪) را به خود اختصاص داد که در مقایسه با سایر گروه‌های سنی بالاتر، اختلاف معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۰۰۱). کمترین میزان آلودگی در سنین بالای ۴۷ سال(۴/۲٪) مشاهده شد.

در آزمایشات مولکولی با استفاده از ژن gdh آزمایش PCR در ۳۰ نمونه انجام شد و محصول PCR با باند 432bp آشکار گردید (تصویر ۱). هم‌چنین با استفاده از آنزیم برشی (NIaIV) در مورد ژنوتیپ‌های Al سه باند (۱۵، ۱۲۰ و ۹۰ جفت باز) و در مورد ژنوتیپ All ۴ باند (۱۲۰،۹۰، ۸۰ و ۷۰ جفت باز) و ژنوتیپ B ۲ باند (۱۲۰ و ۴۰ جفت باز) در الکتروفورز مطابق با مارکر مولکولی ۵۰bp آشکار شد (تصویر ۲). هم‌چنین برای تشخیص ژنوتایپ‌های BIII و BIV با استفاده از آنزیم برشی RsaI، ژنوتیپ BIII با ۴ باند (۳۰۰، ۱۳۰ و ۴۰ جفت باز) در الکتروفورز مشاهده گردید.



تصویر ۱. *الکتروفورز محصول PCR برخی از ایزوله‌های ژیاردیا 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



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

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

با توجه به نتایج PCR-RFLP از ۳۰ نمونه مورد آزمایش، ۱۸ نمونه (۶۰٪) دارای ژنوتایپ All، ۵ نمونه (۱۶/۷٪) 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 به‌دست نیامد.

از ۳۰ نمونه مدفوع که آزمایشات مولکولی برروی آنها صورت گرفت، ۲۰ نمونه مدفوع اسهالی، ۶ مورد مدفوع نرم و ۴ مورد مدفوع قوام‌دار بودند. در مقایسه آماری بین علایم بالینی، اسهال، درد شکمی و تهوع با ژنوتایپ‌های ژیاردیا (BII , AII , AI) ارتباط معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵) و بین سایر علایم بالینی و ژنوتایپ‌ها ارتباط معنی‌داری دیده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. *ارتباط بین علایم بیماری‌زایی ژنوتایپ‌های مورد شناسایی در ۳۰ بیمار آلوده به ژیاردیازیس*

	علایم	P value
ژنوتایپ‌های Al, All, BIII	نمای بالینی اسهال	۰/۰۰۳*
	تب	۰/۷۹۹
	وزن	۰/۶۴۱
	سردرد	۰/۵۴۲
	دردهای شکمی	۰/۰۱۱*
	کرامپ شکمی	۰/۲۲۸
	کاهش اشتهاء	۱/۰۰۰
	تهوع	۰/۰۰۹*
	خستگی	۰/۸۲۳

*ارتباط معنی‌دار

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

جدول ۳. *میزان وضعیت اسهال (متناوب و پایدار) و تعداد ژنوتایپ‌های ژیاردیا در ۳۰ بیمار مبتلا به ژیاردیازیس*

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

بحث

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 (۱،۶،۹،۱۱،۱۲،۱۴،۱۴،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 تقریبا یکسان بود و هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین علایم ژیاردیا در گروه‌های سنی مختلف و در جنس مؤنث و مذکر دیده نشد.

در این مطالعه شایع‌ترین نشانه‌ها به‌ترتیب 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 علایم 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 وفور درد شکم ۷۱/۷٪ به‌دست آمد. در مقابل، میزان وفور علامت تهوع در بعضی مطالعات حدود ۳۶-۱۱٪ درصد بوده که در مطالعه حاضر ۳۸/۵٪ به‌دست آمد که تفاوت در میزان این علایم می‌تواند تا اندازه‌ای به وضعیت سیستم ایمنی میزبان و قدرت ویرولانس استرین‌های احتمالی انگل و دیگر عوامل ناشناخته مربوط باشد (۲،۱۷،۱۸).

در بررسی مولکولی مطالعه حاضر شیوع ژنوتایپ‌های ژیاردیا، AI, AII, BIII به‌ترتیب ۱۶/۷٪، ۶۰ ٪ و ۲۳/۳٪ به‌دست آمد که هماهنگ با نتایج بابایی و همکاران (۷) بود، در حالی‌که 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 برروی 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 اتیوپی (۲۰،۲۱) و متفاوت با نتایج به‌دست آمده در هلند می‌باشد (۱۹،۲۰). 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 All و علایم 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

ژنوتایپ‌های ژیاردیا به‌دست آمده و با توجه به هتروژنیسیتی انگل و مسایل مبهم در پاتوفیزیولوژی آن و میزبان و هم‌چنین جنبه‌های زئونوز آن در تحقیقات آتی پیرامون ژیاردیازیس نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه می‌باشد.

سپاسگزاری

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

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

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

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 glultamate 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 Al 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

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2011; 18(4): 330-338

References

1. Thompson R.C, Reynoldson J.A, Mendis A.H. *Giardia* and giardiasis. *Adv Parasitol* 1993; 32: 71-160.
2. David R.H. Giaradiasis. In: Gillespies S.H., Pearson R.D. (editors). Principles and Practice of Clinical Parasitology. 9th ed., USA, John Wilex & Sonsltd, 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. 5th 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, Mahdavipoor 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. 7th 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, 1st 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. Gentotyping 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.