بررسی مقایسه ای شیوع ژیاردیازیس در کودکان مدارس ابتدایی شهرستان دلفان توسط روشهای معمول انگل شناسی و آنتی ژن یابی

شیرزاد فلاحی[1]، محمد جواد غروی[2]، بهناز قره گزلو[3]، اصغر سپهوند[1]، فرشته ماهوتی[4]

1- مربی، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
2- دانشیار، گروه انگل شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
3- مربی، گروه ایمنولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
4- کارشناس پرستاری، کارشناس پژوهشی معاونت تحقیقات و فناوری

یافته / دوره نهم / شماره 4 / زمستان 86 / مسلسل 34

چکیده

دریافت مقاله:86/5/18، ***پذیرش مقاله***: 86/7/19

Ø مقدمه : با توجه به شیوع بالای ژیاردیازیس در کودکان مدارس ابتدایی در اکثر مناطق کشور و لزوم تشخیص دقیق و سریع بیماری در آزمایشگاهها، مطالعه ای به منظور مقایسه روشهای معمول انگل شناسی در تشخیص ژیاردیازیس با روش نوین آنتی ژن یابی به کمک الایزاانجام گرفت. ضمن اینکه در کنار آن شیوع بیماری در منطقه دلفان از شهرستانهای استان لرستان نیز اندازه گیری شد.

Ø مواد و روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه تحلیلی مقایسه ای است که بر روی 500 کودک دبستانی 12-6 ساله مدارس ابتدایی شهرستان دلفان انجام گرفت. پس از انتخاب نمونه ها به روش نمونه گیری تصادفی سیستماتیک به هر کدام از آنها فرم دعوتنامه اولیاء و مربیان داده شد تا ضمن شرح پروژه برای اولیاء، پرسشنامه های مربوطه نیز پر شده و روش نمونه گیری آموزش داده شود. از هر کودک سه نمونه مدفوع در سه نوبت متوالی گرفته شد. بر روی تمامی نمونه ها آزمایش گسترش مستقیم با سرم فیزیولوژی یا ید و تغلیظ فرمالین اتر انجام شده و نتایج حاصله ثبت گردید. سپس تکنیک الایزا بر روی نمونه ها انجام گرفته و نتایج بدست آمده با هم مقایسه گردید.

Ø یافته‌ها: از 500 کودک 6 تا 12 ساله دختر و پسر مدارس ابتدایی شهرستان دلفان در سال تحصیلی 83-1382 در مجموع 97 نفر در نتیجه انجام سه تکنیک گسترش مستقیم، تغلیظ فرمالین اتر و الایزا از نظر آلودگی به ژیاردیا لامبلیا مثبت شناخته شدند (19/4 %) که از این تعداد 68 نمونه (70/1 درصد) در تست گسترش مستقیم، 88 نمونه (90/72 درصد) در تست تغلیظ فرمالین اتر و 95 نمونه (97/93 درصد) با تکنیک الایزا مثبت شناخته شدند.

Ø بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصله از مطالعه حاضر تکنیک الایزا نسبت به روشهای روتین انگل شناسی در تشخیص ژیاردیا بسیار دقیق تر و سریع تر بوده، نیازی به افراد مجرب نداشته، در حضور کمترین مقادیر آنتی ژنهای انگل در مدفوع جواب داده و نیازی به ارگانیسم سالم نیز ندارد. با این تکنیک تعداد بیشتری نمونه را در مدت زمان کمتر می توان آزمایش نمود. شیوع بدست آمده از این مطالعه در مورد ژیاردیازیس در شهرستان دلفان نمایانگر لزوم آموزش بیشتر نکات بهداشتی در مدارس ابتدایی و تخصیص امکانات بهداشتی بیشتر در این منطقه می باشد.

Ø کلید واژه‌ها: ژیاردیا لامبلیا، دانش آموزان ابتدایی، آنتی ژن یابی، الایزا، دلفان

آدرس مکاتبه: خرم آباد، کمالوند، مجتمع دانشگاه علوم پزشکی پردیس، دانشکده پزشکی

پست الکترونیک: shfupdate@gmail.com

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-02]

مقدمه

ژیاردیا لامبلیا یک پاتوژن مهم انسانی با گسترش جهانی است(1). این تک یاخته تاژکدار انگل بیماریزای قسمت فوقانی روده باریک است و در بسیاری از مهره داران از جمله انسان آلودگی ایجاد می کند (2، 3). انتقال بیماری از طریق آب آلوده به کیست رسیده انگل صورت می گیرد که به دلیل مقاومت نسبی کیستهای ژیاردیا نسبت به کلر موجود در آب برای مدتی در آب زنده می مانند (3). ژیاردیای انسانی موسوم به ژیاردیا لامبلیا است که باعث بیماری در تمام سنین می شود ولی بروز آن در کودکان بیشتر است (2). در مطالعه ای که در سال 2005 بر روی 45128 نمونه مدفوع در ایران انجام شد شیوع آلودگی به ژیاردیا 10/9% بدست آمد (4). در مطالعه ای مشابه در شهرستان بابل این میزان 21/4 % بود (5).

کودکان بخاطر سیستم ایمنی ناقص و عدم رعایت بهداشت شخصی نسبت به این بیماری حساس ترند. جهت پیشگیری از بیماری بایستی همه بیماران درمان شده و آبهای آلوده ضد عفونی و گندزدایی شوند (3، 5).

از جمله روشهای تشخیصی جدید در مورد ژیاردیا که در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته است تکنیک الایزا جهت تشخیص آنتی ژنهای ژیاردیا در مدفوع است. در مقایسه با روشهای میکروسکوپی این روش بسیار دقیق تر و حساس تر بوده و نیازی به افراد مجرب ندارد و حتی در حضور کمترین مقادیر آنتی ژنهای انگل هم جواب داده وبه ارگانیسم سالم در مدفوع نیاز ندارد (6، 8). از آنجا که سالیانه حدود 500 هزار مورد جدید به ژیاردیازیس مبتلا می شوند (7)، شناخت دقیق بیولوژی، سیکل زندگی و مهمتر از آن ارائه روشهای دقیق تشخیصی، سریع و مناسب با صرف زمان وهزینه کمتر به پیشگیری و کنترل به موقع بیماری کمک زیادی می نماید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تحلیلی مقایسه ای برای نمونه گیری از روش تصادفی سیستماتیک (منظم) استفاده شد. این مطالعه طی 7 ماه از بهمن ماه 1382 تا شهریور ماه 1383 بر روی 500 کودک دبستانی 6 تا 12 ساله مدارس ابتدایی شهرستان دلفان انجام گرفت. پس از انتخاب نمونه ها به هر کدام از آنها فرم دعوتنامه اولیاء و مربیان داده شد تا ضمن شرح پروژه برای اولیاء کودکان پرسشنامه های مربوطه نیز پر شده و روش نمونه گیری از کودکان در ظرفهای مخصوص آموزش داده شود. قبل از نمونه گیری پرسشنامه هایی که حاوی نام دانش آموز، سن، جنس، میزان تحصیلات والدین، نوع آب مصرفی و سابقه ابتلا یا اطلاع از آلودگیهای انگلی بود تکمیل گردید. از تمامی نمونه های گرفته شده گسترش مستقیم با سرم فیزیولوژی یا لوگل بر روی لام تهیه شده و بررسی میکروسکوپی انجام گرفت. پس از این مرحله آزمایش تغلیظ فرمالین اتر (10) بر روی تمامی نمونه ها انجام گرفت.از آنجا که با انجام یک نوبت آزمایش مدفوع با روشهای انگل شناسی نمی توان به آلودگی فرد به ژیاردیازیس پی برد از هر فرد سه نمونه مدفوع در سه روز به طور متناوب گرفته شد. در مرحله آخر تکنیک الایزا بر روی نمونه ها مورد آزمایش قرار گرفتند. به این ترتیب که محلول شستشوی آنتی ژنهای ژیاردیا را به نسبت 1 به 9 با آب مقطر رقیق کرده از هر نمونه حدود یک گرم برداشته با 3 میلی لیتر از این محلول مخلوط کرده و سوسپانسیون حاصله مورد آزمایش قرار گرفت.

نمونه های فرمالینه در ظروف خود مخلوط شده و آزمایش شدند. نوارهای میکرو تیتر را در Strip holder قرار داده سه چاهک A1 برای سوبسترای بلانک، B1 برای کنترل منفی و C1 برای کنترل مثبت اختصاص داده شد.100 میکرو لیتر از محلول کنترل منفی در چاهک B1، 100 میکرو لیتر از محلول کنترل مثبت در چاهک C1 و 100 میکرو لیتر از سوسپانسیون هر نمونه به چاهکهای دیگر اضافه شده سپس میکرو پلیت با فویل مخصوص پوشانده شد تا معرفها تبخیر نشوند. پس از این کار پلیت ها به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق آنکوبه شدند. پس از این مدت محتوای چاهکها را با الایزا واشر

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-02]

5 مرتبه و هر مرتبه با 300 میکرو لیتر از محلول مخصوص شستشو ی آنتی ژنها، شستشو داده، 100 میکرو لیتر از محلول شماره یک که حاوی آنتی بادیهای پلی کلونال ضد ژیاردیا یی گرفته شده از بز می باشد به تمام چاهکها به استثنای A1 اضافه گردید. فویل را بر روی میکروپلیت پوشانده به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق آنکوبه گردیدند. بعد از این مرحله عمل شستشو مانند مراحل قبل تکرار شد این مرحله برای محلول شماره 2 که محتوی آنتی بادی های پلی کلونال کونژوگه شده با HRP[1] و بر ضد آنتی بادیهای ژیاردیایی بز بوده و از خرگوش گرفته شده تکرار گردید. در نهایت 100 میکرو لیتر از محلول تترا متیل بنزیدین (TMB) که در اثر آنزیم پراکسید از ایجاد رنگ می کند به تمام چاهکها اضافه شده فویل بر روی میکرو پلیت پوشانده شده و به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق آنکوبه گردید. بعد از این مدت 100 میکرو لیتر از محلول متوقف کننده واکنشها که حاوی اسید سولفوریک می باشد به تمام چاهک ها اضافه شد. در این تکنیک یک پلی کلونال آنتی بادی ضد آنتی ژنهای کیست و تروفوزوئیت ژیاردیا لامبلیا در ته چاهکها کوت شده هنگامی که سوسپانسیون مدفوع به چاهکها اضافه شد. در صورتیکه آنتی ژنهای ژیاردیا حتی در مقادیر بسیارجزئی در مدفوع موجود باشند با پلی کلونال آنتی بادی ته چاهک باند شده و مواد اضافی در مرحله شستشو خارج می شوند. در مرحله بعد معرف شماره یک که پلی کلونال آنتی بادی ضد ژیاردیای حاصل از بز می باشد اضافه گردید که با آنتی ژنهای ژیاردیا باند شده، سپس مرحله شستشو تکرار گردیدند در مرحله سوم پلی کلونال آنتی بادی ضد بز کونژوگه شده با HRP افزوده شد سپس محلول رنگزای تترا متیل بنزیدین افزوده شد که تحت اثر آنزیم پراکسیداز در نمونه های مثبت رنگ آبی ایجاد می کند. در نهایت در اثر افزودن محلول متوقف کننده واکنشها (محلول اسید سولفوریک رقیق شده) رنگ آبی نمونه های مثبت به رنگ زرد تبدیل شده و واکنش ها متوقف شد (6)

یافته‌ها

از مجموع 500 کودک 12-6 ساله دختر و پسر مدارس ابتدایی شهرستان دلفان در سال تحصیلی 83-82 که به روش تصادفی سیستماتیک انتخاب شدند 97 نفر در نتیجه انجام سه تکنیک گسترش مستقیم، تغلیظ فرمالین اتر و الایزا از نظر آلودگی به ژیاردیا لامبلیا مثبت شناخته شدند (جدول 1). بنابراین 19/4% کودکان مدارس ابتدایی شهرستان دلفان در سال تحصیلی 83-1382 به ژیاردیازیس مبتلا بودند.

جدول شماره 1- توزیع فراوانی آلودگی به ژیاردیا لامبلیا در کودکان مدارس ابتدایی شهرستان دلفان

	فراوانی	درصد فراونی
مثبت	97	19/4
منفی	403	80/6
مجموع	500	100

از تمامی نمونه های مورد آزمایش 68 نمونه (70/1%)، در تست گسترش مستقیم، 88 نمونه (90/77%)، در تست تغلیظ فرمالین اتر و 95 نمونه (97/93%) با تکنیک الایزا مثبت تشخیص داده شدند.

با کمک آزمونهای آماری K2 و t-test مشخص شد که بین محل سکونت کودکان دبستانی، نوع روش تشخیصی و ابتلا به ژیاردیازیس ارتباط معنی داری وجود دارد ($p<0/05$). بیشترین موارد مثبت در کودکان ساکن در مناطق پایین شهر و با تکنیک انجام گرفته به روش الایزا مشاهده شد. میان سایر متغیر ها و ابتلا به ژیاردیازیس از نظر آماری رابطه معنی داری مشاهده نشد ($p<0/001$).

بحث و نتیجه‌گیری

در حال حاضر ژیاردیازیس یکی از معضلات اصلی در کودکان دبستانی و پیش دبستانی ایران و بسیاری از نقاط جهان می باشد.با وجود اقدامات پیشگیری کننده هنوز هم این

1. Horse Radish Proxidase

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-02]

بیماری در بسیاری از نقاط کشور به وفور یافت می شود.هدف این مطالعه در مرحله اول مقایسه تکنیکهای معمول انگل شناسی در تشخیص ژیاردیا با روش الایزا بوده ، ضمن اینکه در کنار آن شیوع آلودگی در کودکان دبستانی مدارس ابتدایی شهرستان دلفان در سال 82 تا 83 بررسی شد.در مقایسه انجام شده بین تکنیکهای معمول انگل شناسی در تشخیص ژیاردیا با تکنیک الایزا که هدف اصلی مطالعه را تشکیل می داد ، روش الایزا با بالاترین حساسیت و دقت بهترین روش در تشخیص ژیاردیا شناخته شد. حساسیت و ویژگی این تکنیک در نمونه های مدفوع تازه 100% و در نمونه های فیکس شده با فرمالین به ترتیب 85% و 95/9% می باشد. این تکنیک علاوه بر سهولت انجام به افراد مجرب و آزموده که در تکنیکهای تشخیص میکروسکوپیک فاکتور اصلی می باشند ، نیاز نداشته و مهمتر از آن نسبت به دیگر تستهای الایزا مدت زمان بسیار کمتری نیاز دارد. در واقع این تست از انواع Rapid Elisa بوده و در مدت زمانی کوتاه تعداد زیادی نمونه را تست کرده و با حساسیت و ویژگی بالا در تشخیص روشی قابل اعتماد با کارایی های بسیار بالاست. این تکنیک به ارگانیسم سالم نیاز نداشته و حتی در حضور کمترین مقادیر آنتی ژنهای انگل هم جواب می دهد (7). در صورتیکه این تکنیک جایگزین روشهای سنتی روتین در آزمایشگاههای کشور گردد ، علاوه بر اطمینان از صحت نتایج تستها در مدت زمان انجام تعداد زیادی تست و نیروی کار لازم نیز صرفه جویی خواهد شد. مشکل موجود در زمینه این کیت در کشور ما یکی در دسترس نبودن و دیگری قیمت بالای آن است که در مقایسه با هزینه های اخذ شده برای آزمایشهای معمول انگل شناسی هزینه انجام این تست بالاتر خواهد شد در صورتیکه این کیت بوسیله شرکتهای تولید کننده کیتهای الایزا در داخل کشور در سطح انبوه تولید گردد بر دو مشکل فوق فائق خواهیم آمد.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-02]

References

1. Disney M, Rosales B, Juan Daz R. Doña-Leyva A, Sergio A, Villa Z, Mascar C, etal. Secretory immune response to membrane antigens during Giardia infection in human. Inf. Immun. 1998; 66 (2): 756-759
2. Adam RD. The biology of Giardia Spp. Microbiology Reviews 1991; 55(4): 706-732
3. Baruch AC. Issac-Renton JND, Adam RD. Epidemiology of Giardia lamblia. Jou. Infe. Dis. 1996; 174: 137-139
4. Sayyari A. Imanzadeh A. Prevalence of intestinal parasite infections in the Islamic Republic of Iran.East mediterr Health. J. 2005; (3): 377-383

5- قهرمانلو م، روشن م. بررسی آلودگیهای انگلی روده در مدارس ابتدایی بابل 1378 -مجله علوم پزشکی بابل، سال 3، شماره 2، ص: 43-41

6. Jano EN, Craft JC, Pickering LK, Novotny T, Blaser MJ, Knisley CV, Reller LB. Diagnosis of Giardia lamblia Infection by detection of parasite-specific antigens. Jou. Cli. Mic. 1989; 27(3): 431-435
7. Hashkes PJ, Spira DT, Deckelbaum RJ, Granot E. Salivary IgA antibodies to Giardia lamblia in day care center children.Department of pediatrics. Hadassah- hebrew. Univ. Med. Cen. 2001; 3 (8): 251-256
8. James H, Boon Tracy D. Wilkins Theodore E, Nash Jill E, Brandon Elizabeth A, Macias Robert C, et al. Giardia enzyme linked immuno sorbent assay, kits detect cyst wall proteins-1. Jour. Clin. Mic. 1999; 37 (3): 611-614
9. Lynn S, Garcia Rabyn Y, shimizu novak S, Carroll M, Chan F. Commercial assay for detection of Giardia lamblia and Cryptosporidium parvum antigens in human fecal specimens by rapid Elisa. Jour. Clin. Mic. 2003; 41(1): 209-212

10-غروی م. اصول تشخیص آزمایشگاهی انگل شناسی، انتشارات تیمور زاده، چاپ اول 1383، صص: 288-274

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-02]