

بررسی ارتباط شیوع همزمان *Blastocystis hominis* در افراد مبتلا به ژیاردیازیس در شهرستان تنکابن استان مازندران

سیده آتنا آذرینوش^۱، حسین نهروانیان*^۲، مهدی آسمار^۳، بهزاد اسفندیاری^۴، عارف امیرخانی^۵

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، دانشکده تحصیلات تکمیلی، گروه میکروبیولوژی، زنجان، ایران،

صندوق پستی: ۴۵۱۵۶-۵۸۱۴۵

۲*و۳- انستیتو پاستور ایران، گروه انگل شناسی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۳۱۶۹۴۳۵۵۱

۴- پژوهشکده شمال کشور، آمل، ایران، صندوق پستی: ۱۳۹

۵- انستیتو پاستور ایران، بخش اپیدمیولوژی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۳۱۶۹۴۳۵۵۱

mobcghn@pasteur.ac.ir

چکیده

ژیاردیازیس عفونت انگلی روده کوچک با انتشار جهانی است که توسط تک یاخته تازک داری به نام *Giardia lamblia* در انسان ایجاد می‌شود. *Blastocystis hominis* تک سلولی پاتوژنی است که در روده بزرگ انسان زندگی می‌کند و سبب اسهال می‌شود. این دو تک یاخته دارای دو مرحله کیستی و تروفوزویتی می‌باشند. هدف از این تحقیق بررسی میزان آلودگی همزمان *B. hominis* در مدفوع افراد مبتلا به ژیاردیازیس در شهرستان تنکابن از استان مازندران می‌باشد، تا با دستیابی به رابطه آلودگی همزمان این دو انگل به درمان بهتر و با استفاده از داروهای موثر اختصاصی، در بیماران مبتلا پی برد. این تحقیق بر روی نمونه مدفوع ۲۲۶ نفر از بیماران مبتلا به گاستروآنتریت که به مراکز بهداشتی و درمانی شهرستان تنکابن مراجعه داشته‌اند، انجام و مراحل مختلف آزمایش در پژوهشکده منطقه شمال کشور واقع در شهرستان آمل انجام شده است. روش‌های بکارگرفته شده عبارت است از مشاهده مستقیم و روش تغلیظ با استفاده از کیت پاراسب، که برای تشخیص انگل‌های *G. lamblia* و میکروارگانیزم *B. hominis* با استفاده از میکروسکوپ نوری با عدسی ۱۰۰ به عنوان روش تشخیصی بکار گرفته شد. نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از شیوع ۳/۵۴٪ تک یاخته *G. lamblia* و ۳/۱٪ *Blastocystis* در شهرستان تنکابن است. از طرفی میزان شیوع آلودگی همزمان به *Giardia* و *Blastocystis* ۶۶٪ مشاهده شده است. از این تحقیق می‌توان به این نتیجه دست یافت که احتمالاً *G. lamblia* شرایط بهتری را برای فعالیت و تکثیر *B. hominis* در میزبان فراهم می‌کند تا آسیب رسانی خود را تشدید نماید.

کلمات کلیدی: مازندران، تنکابن، *Giardia lamblia*، *Blastocystis hominis*، گاستروآنتریت.

مقدمه

ژیاوردیازیس عفونت انگلی روده کوچک با انتشار جهانی است، که توسط تک یاخته تاژک داری به نام *G. lamblia* در انسان ایجاد می‌شود (۴). این تک یاخته کم هوازی بوده که متعلق به راسته دیپلومونادیدا می‌باشد و در دئودنوم و یا ابتدای ژرَنوم ساکن بوده و با پوشاندن سطح روده در مبتلایان، باعث اسهال چرب، اختلال در جذب چربی و ویتامین‌های محلول در چربی و سندرم سوء جذب می‌شود. در بررسی‌های انجام شده بر روی بیماران ژیاوردیایی اثبات شده که آهن و ویتامین‌های B_{۱۲} برای رشد انگل ضروری می‌باشد (۶). یکی از جالب‌ترین خصوصیات بیولوژیکی این انگل تغییر پروتئین‌های سطحی آن در محیط کشت و در طی عفونت انسانی یا حیوانی است. این ویژگی، تک یاخته را در برابر فعالیت پروتئازهای روده‌ای حفاظت نموده و به انگل فرصت فرار از محدوده شناسایی سیستم ایمنی میزبان را می‌دهد (۵).

مهمترین علائم بیماری به ترتیب شیوع شامل اسهال، سستی، نفخ شکم، دفع مدفوع چرب و بدبو، دردهای شکمی، تهوع، بی‌اشتهایی، کاهش وزن، استفراغ، تب، کهیر و یبوست می‌باشد (۲، ۸ و ۱۵). بر اساس تخمین‌ها ۵ تا ۱۵ درصد افراد مبتلا به *Giardia* فاقد علائم بالینی هستند ولی کیست دفع می‌کنند، ۲۵ تا ۵۰٪ سندرم اسهال و در ۳۵ تا ۷۰٪ هیچگونه نشانه‌ای دال بر ابتلاء به عفونت دیده نمی‌شود و به طور کلی ظهور بیماری ناگهانی است (۵). این انگل در مقابل مقدار کلری که برای آب به کار برده می‌شود مقاوم بوده و در آب سرد حتی تا ۲ ماه می‌تواند زنده بماند (۱۴).

بر اساس مطالعات انجام شده، *B. hominis* یک ارگانیزم پاتوژن است که در روده بزرگ انسان زندگی می‌کند و سبب اسهال می‌شود (۱۶). علائمی که *B. hominis* در انسان ایجاد می‌کند، معمولاً اسهال ملایم، استفراغ، دردهای شکمی، نفخ شکم (۹ و ۱۶) خارش مقعد و خستگی می‌باشد. این ارگانیزم دارای تعدادی هسته در اطراف، و یک واکوئل بزرگ در مرکز بوده و اندازه آن از ۶ تا ۴۰ میکرون متغیر است (۹). این انگل انتشار جهانی دارد به ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و در کشورهای در حال توسعه بیشتر شیوع دارد (۹ و ۱۶). تحقیقاتی که در کشورهای پیشرفته انجام شده نشان می‌دهد که میزان *B. hominis* بین ۱/۶ تا ۱۶٪ می‌باشد، در صورتی که در برخی کشورهای در حال توسعه ممکن است به بالای ۶۰٪ نیز برسد (۹). سیر زندگی این تک یاخته نیز مانند *G. lamblia* به صورت مدفوعی-خوراکی (fecal-oral) می‌باشد (۱۱).

این دو عامل بیماریزا هر یک دارای دو مرحله کیستی و ترفوزوئیتی می‌باشند (۲ و ۹) و انتقال آن‌ها از طریق فرم کیستی انگل و توسط آب و غذای آلوده و فرد به فرد صورت می‌گیرد (۲). شرایط محیطی از جمله دما، رطوبت، باد، خاک و فاکتورهای اقتصادی اجتماعی منجر به پیشرفت و سرایت این دو انگل می‌شوند (۱۰). روش تشخیص معمول *Giardia* و بلاستوسیستیس، آزمون میکروسکوپی مستقیم مدفوع و یا استفاده از روش‌های تغلیظ برای یافتن انگل می‌باشد (۲). هدف از انجام این تحقیق، بررسی میزان شیوع همزمان *B. hominis* در مدفوع افراد مبتلا به ژیاوردیازیس در شهرستان تنکابن استان مازندران می‌باشد تا به میزان رابطه همزیستی احتمالی و تعامل این

تشخیص انگل‌های *G. lamblia* و *B. hominis* با استفاده از میکروسکوپ نوری بکار گرفته شد.

اطلاعات موجود ثبت شده در پرسشنامه هر بیمار استخراج و در فایل مربوطه در نرم افزار Excel وارد و رسم گراف‌های مربوطه نیز با استفاده از نرم‌افزار آماري Graph Pad Prism 3.0 صورت پذیرفت. در این تحقیق روش‌های آماری پارامتریک به کار رفته با $\alpha = 5\%$ و از طریق آزمون‌های نسبت *t*-Student's *test* و ANOVA و همچنین محاسبات Error Standard با 95٪ اطمینان انجام پذیرفته است.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که میزان آلودگی در کل جمعیت مورد مطالعه به *G. lamblia* برابر با 3/54٪، *B. hominis* 3/10٪ و آلودگی همزمان به هر دو عامل پاتوژن برابر با 2/65٪ بوده است. تعداد افراد آلوده به *Giardia*، 8 نفر بوده که از این افراد، در 6 نفر (66/7٪) از آن‌ها، *B. hominis* نیز مشاهده شده است. از طرفی، بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه، در افرادی که این دو انگل با هم یافت شده، اسهالی بودن نمونه مدفوع نیز رویت شده است (66/7٪)، بطوری که که میزان آلودگی به *G. lamblia* برابر با 60٪، *B. hominis* 40٪ و آلودگی همزمان برابر با 40٪ در مبتلایان به اسهال در جمعیت مورد مطالعه بوده است (جدول 1 و نمودار 1).

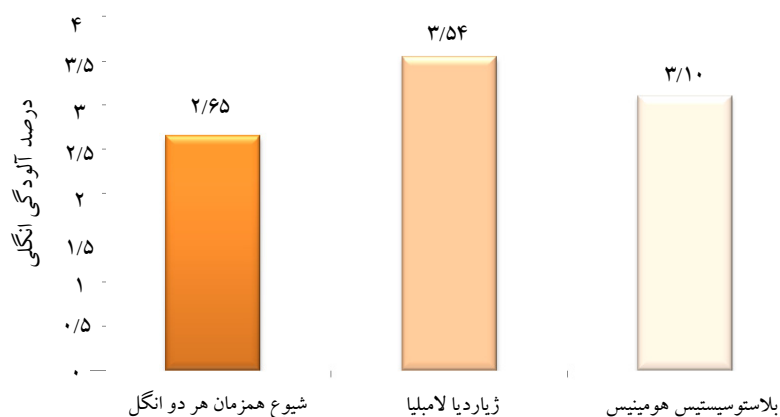
دو انگل با همدیگر پی برده و از آن در جهت تشخیص، درمان و یا پیشگیری احتمالی استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بخش انگل شناسی انستیتو پاستور تهران و پژوهشکده منطقه شمال کشور واقع در شهرستان آمل با همکاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان صورت گرفته است. این مطالعه، بر روی نمونه مدفوع 226 نفر از بیماران مبتلا به گاستروانتریت که به مراکز بهداشتی و درمانی شهرستان تنکابن مراجعه داشته‌اند، انجام شد. ابتدا وضعیت فیزیکی و قوام مدفوع را بررسی کرده و آن را در برکه مخصوص ثبت نموده و سپس حجمی به اندازه پنج گرم از نمونه مدفوع را برداشته و در 10 ml بافر مخصوص فیکساسیون (فرمل-بافر-گلیسرین) که در لوله‌های فالكون قرار دارد ریخته و درب آن را خوب بسته و خوب تکان داده تا حد ممکن حل شده تا آماده عمل تغلیظ شود. خاصیت این بافر به این صورت است که حتی در دمای بیرون یخچال هم خاصیت نگهدارندگی خود را حفظ می‌کند. پس از انکوباسیون در بافر فوق که برای غیر فعال شدن ارگانیزم‌های پاتوژن صورت گرفت، سوسپانسیون حاصله به وسیله Paraseb (Dis. Sys.) مورد آزمایش قرار گرفت و به مدت دو دقیقه با دور 2000 سانتریفیوژ شد، مایع رویی را دور ریخته و از رسوب حاصله جهت تهیه گسترش‌های لازمه استفاده کردیم. در خاتمه یک لام مستقیم تهیه کرده که برای

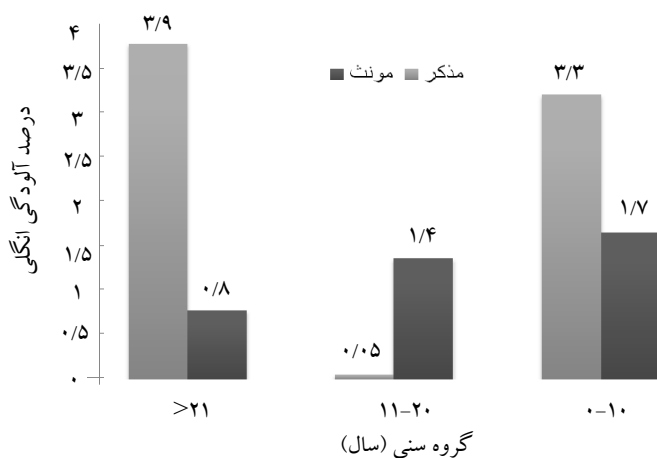
جدول ۱: فراوانی مطلق و نسبی ارتباط وضعیت اسهال در افراد مبتلا *B. hominis* و *G. lamblia*

کل		فاقد اسهال		مبتلا به اسهال		علائم
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	فراوانی نوع انگل
۱۰۰	۸	۲۵	۲	۷۵	۶	<i>G. lamblia</i>
۱۰۰	۷	۴۲/۹	۳	۵۷/۱	۴	<i>B. hominis</i>
۱۰۰	۱۵	۳۳/۳	۵	۶۶/۷	۱۰	جمع

نمودار ۱: فراوانی نسبی آلودگی به انگل‌های *B. hominis* و *G. lamblia* به صورت جداگانه و آلودگی توأم در شهرستان تنکابن استان مازندران

نفر (۱/۴٪) و در گروه سنی ۲۱ سال به بالا در جنس مذکر ۳ نفر (۳/۹٪) و در همان گروه سنی در جنس مونث ۱ نفر (۰/۸٪) انگل یافت شده است. به طور کلی در جنس مذکر ۶ نفر (۲/۹٪) و جنس مونث ۴ نفر (۱/۳٪) انگل مشاهده شده است (نمودار ۲).

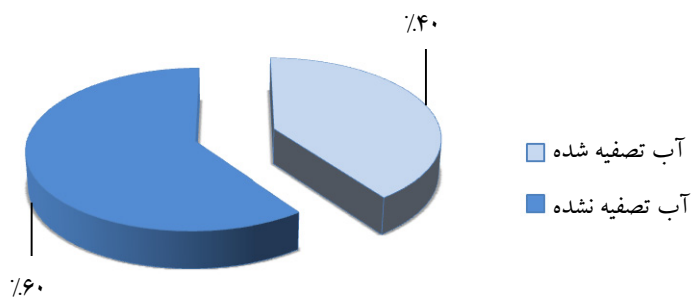
در این مطالعه افراد مبتلا به گاستروآنتریت در سه گروه سنی ۱۰-۰ سال، ۲۰-۱۱ سال و ۲۱ سال به بالا و بر حسب جنس تقسیم شدند. در جنس مذکر در گروه سنی ۱۰-۰ سال، ۳ نفر (۳/۳٪) و در همان گروه سنی در جنس مونث ۲ نفر (۱/۷٪) و در گروه سنی ۱۱-۲۰ سال، در جنس مذکر بدون انگل و در جنس مونث ۱



نمودار ۲: فراوانی نسبی آلودگی به انگل‌های پاتوژن روده‌ای در شهرستان تنکابن استان مازندران بر حسب جنس و گروه‌های سنی

تصفیه شده (آب چشمه و چاه) استفاده کرده بودند (نمودار ۳). به کمک آزمون نسبت به لحاظ آماری این اختلاف با $P < 0/05$ معنی‌دار شده است.

در مقایسه نوع آب مصرفی مبتلایانی که در آن‌ها انگل یافت شده بود ۴ نفر (۴۰٪) از آب تصفیه شده استفاده کرده بودند و ۶ نفر (۶۰٪) از آب‌های غیر



نمودار ۳: فراوانی نسبی آلودگی به انگل‌های پاتوژن روده‌ای در شهرستان تنکابن استان مازندران بر حسب نوع آب مصرفی

همخوانی داشته ولی *Giardia* هم چنان پیش‌تاز آنتروپاتوژن‌های انگلی در گستره استان مازندران می‌باشد (۷ و ۳). بالا بودن میزان آلودگی به تک یاخته‌های روده‌ای بخصوص *Giardia* را می‌توان بدلیل سیر تکاملی ساده انگل، عدم نیاز به میزبان واسطه، تکثیر زیاد و قابلیت تولید کیست، پایداری آن

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از شیوع ۳/۵۴٪ تک یاخته *G. lamblia* در شهرستان تنکابن می‌باشد که از میزان شیوع ۱/۴۳٪ در شهرستان‌های غرب استان مازندران بیشتر می‌باشد و با شیوع ۳/۵٪ آن در بیماران مبتلا به گاستروانتریت در سطح استان مازندران

سپاسگزاری

از کلیه کارکنان پژوهشکده شمال کشور (آمل) به خصوص خانم‌ها گالیا امیربزرگی، عفت حیاتی، عاصفه نیک خصال، فرح نبویان و آقایان جواد داودی، پیمان ضیاءپور، قدرت ا. کیانی، محمد شادی‌فر و صادق خیری به دلیل همکاری در انجام این تحقیق سپاسگزاریم.

منابع

۱. آسمار، م.، ۱۳۷۸. بررسی میزان شیوع انگل‌های روده‌ای در دانش‌آموزان مدارس ابتدایی استان مازندران. مجله بیماری‌های عفونی و گرمسیری ایران؛ ۹: ۵۹-۵۳.
۲. برازش، ا.؛ مجیدی، ج.؛ فلاح، ا.؛ جمالی، ر. و قازانچائی، ا.، ۱۳۸۵. مقایسه روش‌های تغلیظ و خالص سازی کیست *Giardia*؛ فصلنامه علمی-پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان؛ یافته، دوره هشتم؛ شماره ۳، پاییز ۸۵، مسلسل ۲۹، صفحه‌های ۷۱-۷۲.
۳. سلیمان‌پور، ا.، ۱۳۸۵. بررسی میزان شیوع کریپتوسپوریدیوزیس و ایزوسپوریدیوزیس و دیگر انگل‌های پاتوژن در مبتلایان به گاستروانتریت و غیر گاستروانتریت در شهرستان‌های شرق استان مازندران، پایان‌نامه شماره ۸۷۲ رشته انگل‌شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۸۷-۵۱.
۴. صفار هرندی، م.؛ دیلمی اصل، ع. و غفاری فر، ف.، ۱۳۸۵. بررسی تاثیر عصاره گیاه سیر بر *G. lamblia* و ژیا ردیا موریس در شرایط برون تنی

در شرایط نامساعد محیطی، عدم درمان به موقع بعثت دفع متناوب انگل و مصرف زیاد سبزی خام دانست (۱). هم‌چنین یافته‌های این تحقیق شیوع ۳/۱٪ بلاستوسیستیس را در شهرستان تنکابن نشان می‌دهد که از شیوع ۰/۷۱٪ در شهرستان‌های غرب استان مازندران بسیار بیشتر می‌باشد ولی از شیوع ۵/۱٪ آن در بیماران مبتلا به گاستروانتریت در سطح استان مازندران کمتر است. بلاستوسیستیس هم چنان پس از *Giardia* از جمله مهمترین آنتروپاتوژن‌های انگلی در شهرستان تنکابن و غرب استان می‌باشد ولی از نظر وفور در سطح استان مازندران بالاترین میزان وفور ابتدا به بلاستوسیستیس با ۵/۱٪ و پس از آن به *Giardia* با ۳/۵٪ اختصاص می‌یابد (۳، ۷ و ۱۲).

بر اساس این تحقیق، در ۶۶/۷٪ از افراد آلوده، هر دو انگل *G. lamblia* و *B. hominis* رویت شده است که از میزان مشاهده شده (۴۴/۲٪) در بیماران مبتلا به گاستروانتریت در سطح استان مازندران بالاتر می‌باشد (۱۲). به نظر می‌رسد انگل *G. lamblia* شرایط بهتری را برای فعالیت و تکثیر *B. hominis* فراهم می‌کند. احتمالاً یک رابطه همزیستی و تعامل بین این دو انگل با همدیگر وجود دارد که از آن در جهت تشخیص، درمان و پیشگیری احتمالی می‌توان استفاده نمود (۱۳).

اصولاً شیوع پایین انگل‌ها در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی بستگی دارد که از آن جمله می‌توان تماس کمتر با حیوانات، بالارفتن سطح سواد و آگاهی مردم، افزایش سطح بهداشتی جامعه، استفاده کمتر از آب‌های آلوده و نمونه‌برداری یک نوبتی را ذکر کرد.

- survey of *Giardia* spp. and *Blastocystis hominis* in an Argentinian rural community; The Korean Journal of Parasitology, 42(3): 121-127.
11. Nascimento, S.A. and Moitinho, M.D.L.R., 2005. *Blastocystis hominis* AND other intestinal parasites in a community of Pitaniga City, Parana State, Brazil. Review Institute Medical and Tropical S. Paulo, 47(4): 213-217.
 12. Nahrevanian, H. and et al., 2007. *Cryptosporidium* and other enteropathogenic parasites in gastroenteric patients from Mazandaran province, Iran. *The 2nd International Congress of Giardia and Cryptosporidium Conference*. 13 -18 May, Centro Cultural Universitario, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia-Michoacán, México. P 46; pp.31.
 13. Nahrevanian H, Azarinoosh SA, Esfandiari B, Ziapoor SP, Shadifar M, Amirbozorgy G, Hayati E, Davoodi J., 2010. Current situation of *Cryptosporidium* and other enteroparasites among patients with gastroenteritis from western cities of Mazandaran Province, Iran, during 2007-08. *Journal of Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 3(3):120-125.
 14. Penrose, A.; Eden, V.W. and Aiello, A., 2007. Infectious causation of chronic disease: Examining the relationship between *Giardia lamblia* infection and irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology*, 13(34): 4574-4578.
 15. Suresh, K.S.; Mith H.V. and Tan, T.C., 2005. Viable *Blastocystis* cysts in Scottish and Malaysian sewage samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 5619-5620.
 16. Wang, K.X.; Li, C.P.; Wang, J. and Cui, Y.B., 2002. Epidemiological survey of *Blastocystis hominis* in Huainan city, Anhui Province, China; *World Journal of Gastroenterology*, 8(5): 928-932.
- و درون تنی؛ مجله پژوهشی حکیم، صفحه‌های ۵۸-۶۳.
۵. طاهرخانی، ح. و سرداریان، خ.، ۱۳۸۶. اپیدمیولوژی و تظاهرات بالینی آلودگی ژیاوردیائی در بیماران ارجاعی به آزمایشگاه تحقیقات انگل شناسی دانشکده پزشکی همدان در سال‌های ۸۴-۱۳۸۳. *مجله علوم آزمایشگاهی*، دوره اول (شماره ۱) بهار و تابستان ۱۳۸۶، صفحه‌های ۴۴-۴۵.
 ۶. عسگری، ف.؛ غفاری‌فر، ف.؛ دیلمی اصل، ع.؛ آشتیانی، م. و دلاوری، م.، ۱۳۸۶. بررسی تغییرات اسید فولیک و ویتامین B12 و آهن در بیماران ۶ تا ۱۲ ساله مبتلا به ژیاوردیازیس در جنوب شهر تهران، *مجله بیماری‌های کودکان ایران* دوره ۱۷ (ویژه نامه ۲)، پاییز ۱۳۸۶، صفحه‌های ۱۴۹-۱۵۴.
 ۷. قربان نیا دلاور، ا.؛ نهروانیان، ح.؛ آسمار، م.؛ امیرخانی، ع. و اسفندیاری، ب.، ۱۳۸۷. فراوانی کریپتوسپورییدیوزیس، ایزوسپوریازیس و سایر انگل‌های پاتوژن در مبتلایان به گاستروآنتریت (بابل و بابلسر ۱۳۸۴-۸۵). *مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل*، ۱۰(۲): ۶۱-۵۶.
 8. Arisue, N., and et al., 2002. Phylogenetic of *Blastocystis hominis* and of Stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49(1): 42-53.
 9. Licea, V.C.; Crespo, A.P.; Alvarez, C.M.; Rojas, S.V.; Sanchez, G.R. and Franco, L.V., 2003. *Blastocystis hominis* among food vendors in Xochimilco Markets, *Review Latinoam Microbiology*, 45 (1-2): 12-15.
 10. Minvielle, C.; Pezzani, C.; Cordoba, A.; Deluca, M.; Apezteguia, M.C. and Basualdo, J.A., 2004. Epidemiological