مقارنة بين الفحص المجهري و تقنية الاليزا في تشخيص الخمج بال *Giardia lamblia* مع دراسة وبائية وكيموحيوية الطفيلي بين الأطفال دون سن العاشرة في منطقة تكريت

سيناء ناجي محسن[1] ، إبراهيم شعبان داود[2]

[1]قسم العلوم الاساسية ، كلية طب الاسنان ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2]قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

شملت الدراسة فحص 644 عينة غائط من المصابين دون العاشرة عمراً المراجعين لمستشفى تكريت التعليمي وذلك خلال المدة 2008/12/1 إلى 2009/6/30 . وتم دراسة تأثير الخمج على عدد من معايير الدم والفحوصات الكيموحيوية. استخدمت ثلاث طرق لفحص الخروج اولها طريقة الفحص المجهري المباشر حيث كانت عدد العينات التي شخصها 55 وبنسبة 8.54 % وطريقة التطويف بثلاث محاليل (كبريتات الزنك $ZnSO_4$, محلول السكروز المشبع, محلول ملح الطعام المشبع) . حيث كانت عدد العينات التي شخصتها طريقة التطويف 64 وبنسبة 9.94 %, وكذلك طريقة الاليزا للكشف عن مستضد الطفيلي في الغائط إذ كانت عدد العينات المشخصة 80 وبنسبة 12.42%. بينت نتائج فحوصات عدد من معايير الدم على وجود فروق معنوية بين المصابين والاصحاء (السيطرة) وعلى مستوى معنوي ($p<0.05$) حيث سجلت انخفاض في كل من خضاب الدم الطبيعي(Hb) و حجم الكريات المضغوط(PCV) , وإرتفاعاً في تعداد الكريات البيضاء(WBC) و معدل ترسيب الكريات الحمراء(ESR). كما بينت نتائج الفحوصات الكيموحيوية على وجود فروق معنوية بين المصابين والاصحاء وعلى مستوى معنوي($p<0.05$) . سجلت الدراسة إنخفاضاً في معدل تركيز الشوارد مثل الصوديوم(Na^+) والكالسيوم(Ca^{++}) والمغنيسيوم(Mg^{++}) و الكوليسترول(Cholesterol) ,ثلاثي الكليسيريد(Triglycerides), الالبومين(Alb) والبروتين الكلي(TP), في حين سجلت الدراسة زيادة في معدل الأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين(GOT,GPT).

المقدمة

يعد طفيلي جيارديا لامبليا *Giardia lamblia* من الاوالي الطفيلة و يسبب داء الجيارديا Giardiasis, والذي قد يكون حاداً أو مزمناً أو بدون أعراض. يرافق داء الجيارديا الحاد بإسهال وغثيان وفقدان الوزن وسوء امتصاص ومغص بطني و إنتفاخ البطن وفقر الدم[1].

يعد داء الجيارديا من أكثر الأمراض الطفيلية انتشاراً في العالم وخاصة في المناطق الإستوائية وشبه الإستوائية . أن الأفراد ذوي المناعة الضعيفة كالأطفال والمعانين من عجز في جهازهم المناعي من كبار السن المصابين بأمراض سرطانية أو فشل في عضو معين في الجسم والمصابين بنقص المناعة المكتسبة AIDS هم أكثر الناس عرضة للخمج والذي يحدث عادةً من خلال تناول الأكياس عن طريق التلوث ألغائطي الفموي[2]. هناك معضلة في تشخيص هذا الطفيلي كما إن العديد من التقنيين يجدون صعوبة في تَشخيصه أو الاشتباه مع أحياء أخرى مثل الخمائر فضلاً عن صعوبة تشخيص أكياس الطفيلي وذلك لان أكياس الطفيلي تطرح بشكل متقطع [3].

ان الهدف من الدراسة الحالية يتمثل في المقارنة بين ثلاث طرائق في تشخيص طفيلي الجيارديا متضمنة طريقة الفحص ألمجهري المباشرة وطريقة التركيز بثلاثة محاليل(وهي كبريتات الزنك والمحلول السكري المشبع والمحلول الملحي المشبع) و اختبار (ELISA) للتحري عن المستضد في الغائط و معرفة تأثير الخمج على بعض معايير الدم (ESR, WBC , PCV , Hb) للمصابين, فضلا عن تأثير الاصابة على تراكيز بعض الشوارد مثل الصوديوم والكالسيوم والمغنيسيوم والأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين والبروتين الكلي والألبومين والكليسريدات الثلاثية والكوليستيرول للمصابين.

المواد وطرائق العمل

تم فحص644 عينة غائط للمرضى دون العاشرة عمراً من المراجعين لمستشفى تكريت التعليمي– مختبر الطفيليات وذلك خلال المدة 2008/12/1 إلى 2009/6/30 . إذ تم فحصها خلال نصف ساعة من موعد وصولها إلى المختبر.

عينات الغائط:– استخدمت طريقة الفحص بالمسحة المباشرة وصبغت بمحلول لوكل– ايودين (Lugol- iodine solution)[4] , التطويف باستخدام محاليل مشبعة مثل كبريتات الزنك[5], محلول السكروز [6] ومحلول ملح الطعام[7]. تم اجراء اختبار الاليزا Enzyme-Linked immunoobsorbent Assay(ELISA) وحسب[9,8] بأستخدام عدة تجارية من شركةDRG /Germany , حيث تم اختبار 64 عينة موجبة بالفحص المجهري وطريقة التطويف و26 عينة لم تثبت الطريقتان السابقتان احتوائها على الطفيلي و4 سيطرة من افراد اصحاء.

عينات الدم:– تم سحب 5ملم^3 من الدم الوريدي بإستخدام محقنه طبية سعة 5 ملم^3 إذ قسم الدم ووضع في ثلاثة أنواع من الانابيب المختبرية :–أنبوب جاهز يحتوي على مانع تخثر الدم (EDTA) لغرض إجراء اختبارات الدم (الهيموغلوبين, حجم الكريات المضغوطه, تعداد الكريات البيضاء) وأنبوب يحتوي على مانع تخثر الدم(Tri-Sodium citrate) لغرض إجراء اختبارمعدل ترسيب الكريات الحمراء. وأنبوب

tube disposable خال من أي مادة إذ ترك مدة 15–30 دقيقة وبعدها وضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورةادقيقة ولمدة 5 دقائق لغرض فصل مصل الدم ولحين إجراء الاختبارات الكيموحيوية مثل الصوديوم والكالسيوم والمغنيسيوم و الأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين والبروتين الكلي والألبومين والكليسريدات الثلاثية والكوليستيرول . تم تحليل النتائج احصائياً باستخدام اختبار T-test.

النتائج

فحص الغائط:– تم تشخيص 55 عينة موجبة وبنسبة 8.54% بأستخدام طريقة الفحص المجهري المباشرو 64 عينة وبنسبة 9.94% باستخدام طريقة التركيز و 80 عينة وبنسبة 12.42% بأستخدام طريقة الاليزا للتحري عن المستضد. جدول رقم (1).

جدول رقم (1) مقارنة بين طريقة المسحة المباشرة وطريقة التركيز واختبار الاليزا في تشخيص طفيلي الجيارديا

نوع الاختبار	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
المسحة الرطبة المباشرة	644	55	8.54
طريقة التركيز	644	64	9.94
اختبار الاليزا	94	80	85.11

فحوصات الدم:– بينت نتائج فحوصات عدد من معايير الدم على وجود فروق معنوية بين المصابين والاصحاء(السيطرة) وعلى مستوى معنوي($p<0.05$) حيث سجلت انخفاض في كل من خضاب الدم الطبيعي و حجم الكريات المضغوط وإرتفاعاً في تعداد الكريات البيضاء و معدل ترسيب الكريات الحمراء. جدول رقم(2).

جدول رقم (2) تأثير الخمج على بعض فحوصات الدم لكل من المصابين والأصحاء

اسم الفحص	المصابين (العدد=80)	الأصحاء (العدد=30)	قيمة T- test
Hb gm/dl	a 9.137 ± 0.621	b 12.793 ± 0.862	21.26**
PCV %	a 31.25 ± 2.12	b 41.50 ± 2.52	19.83**
ESR mm/hr	a 25.00 ± 1.41	b 7.63 ± 3.94	23.57**
WBC Cell/cmm	a 8974 ± 601	b 5417± 513	30.88**

الحروف المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى ($p<0.05$)

فحوصات الكيمياء الحياتية:– سجلت الدراسة إنخفاضاً في معدل كل من الكوليسترول ,ثلاثي الكليسيريد, الالبومين والبروتين الكلي, في حين سجلت الدراسة زيادة في معدل الأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين(GOT,GPT) و انخفاض في معدل تركيز الشوارد (الصوديوم والكالسيوم والمغنيسيوم). جدول رقم(3).

جدول رقم (3) تأثير الخمج على بعض فحوصات الكيموحيوية لكل من المصابين والأصحاء

اسم الفحص	المصابين (العدد=80)	الأصحاء (العدد=30)	قيمة T- test
Triglycerides mmol/L	a 0.315 ± 0.107	b 1.280 ± 0.579	9.06**
Cholesterol mmol/L	a 2.885 ± 0.720	b 5.113 ± 0.855	12.69**
S.Albumin gm/dl	a 2.261 ± 0.448	b 4.293 ± 0.439	21.51**
Total protein gm/dl	a 4.34 ± 1.01	b 7.123 ± 0.575	18.00**
GPT IU/L	a 29.50 ± 4.05	b 25.50 ± 1.31	7.82**
GOT IU/L	a 40.81 ± 2.68	b 51.67 ± 2.28	49.03**
S.Ca++ gm/dl	a 8.210 ± 0.281	b 10.207 ± 0.546	19.11**
S.Mg++ gm/dl	a 1.209 ± 0.135	b 2.140 ± 0.227	21.12**
S. Na+ mmol/L	a 125.26 ± 3.74	b 143.43 ± 4.90	18.39**

الحروف المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى($p<0.05$).

المناقشة

نسبة الخمج بالجيارديا:–

أظهرت النتائج أن إختبار الاليزا سجل أعلى نسبة تشخيص 12.42% مما هو عليه في طريقتي الفحص ألمجهري المباشر و طريقة التطويف, يعود السبب في ذلك الى الحساسية العالية لهذا الإختبار والتي تفوق كل من الفحص المجهري وطريقة التركيز[10]. كما أظهرت الدراسة أن نسبة الخمج بداء الجيارديا للمرضى الاطفال دون العاشرة عمراً 12.42% وهي نسبة مشابهة تقريباً لما وجداه[11] في مدينة كركوك حيث بلغت 12.31%, ولما وجده [12] في بابل حيث كانت النسبة 13.7%، ولما وجده[13] إذ بلغت النسبة13.23%. في حين سجلت هذه الدراسة نسبة خمج أقل مما وجده[14] حيث كانت النسبة 18.5%, وأكثر مما وجداه[15] إذ كانت 2.1%.

وقد يعود سبب تشابه نتائج الدراسات وإختلافها التي أجريت على الطفيليات المعوية بصورة عامة وطفيلي الجيارديا بصورة خاصة الى الإختلاف في الفئات العمرية المشمولة في الدراسة و الطرق المستخدمة في التشخيص و عدد العينات المفحوصة و إختلاف أو تشابه الخواص البيئية والإجتماعية والثقافية للمناطق التي أجريت فيها تلك الدراسات.

فحوصات الدم:– بينت الدراسة انخفاضاً في معدل تركيز الهيموغلوبين للمصابين, إذ بلغ المعدل لديهم 9.1gm/dl وحسب[16] إن الامتصاص الضعيف للحديد من الأمعاء يشكل ميكانيكية أساسية لحالات فقر الدم عند المصابين بداء الجيارديا. وهذه النتيجة قريبة لما وجده [17]. كما وجدت الدراسة انخفاض حجم الكريات المضغوط ,إذ

بلغ المعدل لديهم 31% وربما يعود السبب إلى سوء الامتصاص والذي بدوره قد يحدث نتيجة حصر الغشاء المخاطي المعوي بواسطة الطفيلي والتغذية المشتركة بين الطفيلي والمضيف والتغيرات في الغشاء المخاطي لمنطقة الصائم والناتجة عن وجود الطفيلي, فضلاً عن التقيؤ وسوء التغذية[18] او إلى الإسهال الدهني steatorrhea [19]. أما معدل ترسيب كريات الدم الحمر فقد سجلت الدراسة زيادةً في معدل ESR ,إذ بلغ المعدل لديهم 25.00mm/hr وهذه النتيجة قريبة لما وجده [20] , ربما يعود السبب في الحمى التي يعاني منها المصابين [21]. اما بالنسبة للزيادة في معدل تعداد كريات الدم البيضاء التي سجلتها الدراسة الحالية وبمعدل (8973.8cell/ mm^3) فهي تتفق مع[23,22].

فحوصات الكيمياء الحياتية:- ان انخفاض معدل كل من الكوليسترول, إذ بلغ 2.9 mmol/L وثلاثي الكليسريد حيث بلغ المعدل لديهم 0.31 mmol/L الذي سجلتها الدراسة الحالية تتفق مع[24]. يعد طفيلي الجيارديا من الطفيليات التي تفتقد إلى الـMitochondria,كما إن عقد Golgi غير مطورة بشكل جيد مما جعلها غيرقادرة على تركيب أغلبية الليبيدات Lipids والكولسترول لذا فأنها تحصل على هذه المواد من الجزء العلوي للامعاء الدقيقة[25]. كما ان انخفاض تركيز كل من الألبومين و البروتين الكلي يمكن تفسيره بأن طفيلي *Giardia* يفتقد إلى القابلية على تركيب الأحماض الامينية ويعتمد في اقتياتها على الأمعاء أو البيئة التي تتضاعف فيها الأطوار الخضرية[26]. فقد بينت دراسات المجهر الضوئي إن الأطوار الخضرية لطفيلي الجيارديا يرتبط بالخلايا الطلائية والخيوط المخاطية في الفراغات بين الزغابات وهذا يشكل عائق ميكانيكي ويؤدي إلى تهيج الغشاء المخاطي وبالتالي حدوث سوءِ إمتصاص البروتينِ وخسارته[27].

ان زيادة تركيز الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين البايروفيت, إذ بلغ المعدل لديهم IU/L 29.50 و الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين اوكسالواستيت , إذ بلغ 40.81IU/L يعود إلى تغيير الوظائف الأيضية للكبد خلال مدة الخمج بالإسهال الناتج عن إلتهاب الأمعاء مما يؤدي إلى حدوث سوء التغذية وسوء الإمتصاص بسبب حدوث إضطراب في وظائف الكبد[27]. وفيما يخص انخفاض تركيز الشوارد بلغ معدل الكالسيوم 8.2 mg/dl و 1.2 mg/dl للمغنسيوم و 125mmol/l للصوديوم فقد يعود إلى الإسهال المرافق للخمج بداء الجيارديا مما يسبب فقدان الكثير من الماء الحاوي على الصوديوم والأملاح الأخرى فضلاً عن الامتصاص الغير كامل من قبل الطبقة المخاطية المعوية والطرح المفرط لهذه الشوارد. ويرى[28] إن استمرار فقدان الحافة الفرشاتية للزغيبات المرافق أحياناً لضمور أو عدم ضمور الزغابات مسؤول عن حالاتِ سوء إمتصاص المنحلات الشوارد .

إن التفاوت في النتائج سواء كانت بالنسبة لفحوصات الكيمياء السريرية أو فحوصات الدم ربما يعود إلى عدد من العوامل منها سلالة الطفيلي فقد بين [30] وجود بعض من السلالات من الجيارديا لامبليا غير مخصصة لمضيف معين والتي لها مدى واسع من المضائف, ويمكن أن يصاب الإنسان بهذه السلالات التي قد تعود إلى اللبائن والطيور والتي تعمل كمضائف خازنة دائمة للإصابة. فضلاً عن التداخل مع تغذية المضيف والعوامل الوراثية للمضيف و نوعية الجراثيم المتعايشة normal flora وكذلك مقاومة المضيف فقد بين[31] ظهور مناعة ضد الجيارديا في معظم الإصابات لكن عودة الإصابة عالية وقد يكون السبب هو إن هذه المناعة قصيرة الأمد أو وجود سلالات عديدة للطفيلي.

المصادر

1- Black, R. (1977). Giardiasis in Day-Care center: Evidence of person Transmission. Pediatr. 4: 486-491.

2- Wolfe, M.S. (1992). Giardiasis. J. Clin. Microbiol. 5(1): 93- 100.

3- Dryden, M.W., Payne, P.A., Ridley, R., and Smith, V. (2005). Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. Vet. Ther. 6(1): 14–28.

4- Gupta, S. (1979). The short text book of pediatric 2nd ed., Jaypee. Bros. Med. Publ. India. P:388.

5- الحديثي, إسماعيل عبد الوهاب وعواد, عبد الحسين حبش. (1986).علم الطفيليات.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة البصرة.

6-John, D.T., and Petri, W.A. (2006). Markell and Voge's Medical Parasitology, 8th ed., Printed in the USA. P: 49-51.

7- Al-Tae, A.M. (1984). A comparative study of the invasion and subsequent distribution of *Toxocara canis* in the white mouse *Mus musculus* using radioactive labeling technique and traditional method. Ph. D. Thesis, Newcastle University.

8- Garcia, L. S.M and Shimizu, R. Y. (1997). Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. J. Clin. Microbiol. 53: 9-1526.

9- Aldeen, W. E., Carroll, K., and Robison, A. (1998). Comparison of nine commercially available enzyme-Linked immunoobsorbent Assays for the detection of *Giardia lamblia* in fecal specimens. J. Clin. Microbiol. 36: 40-1338.

10- Sullivan, P.B., Marsh, M.N., Phillips, M.B., Dewit, O., Neale, G., Cevallos, A.M., Yamson, P., Farthing, M.J. (1991). Prevalence and treatment of giardiasis in chronic diarrhea and malnutrition. Arch. Dis. Child. 66: 6-304.

11- عبد الله, إبراهيم أحمد والشريفي, حيدر مهدي. (2005). إنتشار الطفيليات المعوية بين عمال وبائعي الأغذية في مدينة كركوك. مجلة علوم الرافدين.16(71):1-180.

12- AL-Yassaree, H.F.A. (2004). Isolation and identification of three protozoal enteroparasites, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in Babylon province. M.Sc. Thesis, College of Sciences. Koffa. University.

13- Salman, Y.G., Mohammed, E.A., and Ibrahim, M.N. (2007). Effect of *Giardia lamblia* on some biochemical change of the human. Tikrit J. Pure Sci. 12(1): 120-124.

14- AL-Mosa, H.A. (2002). Epidemiology study of the parasitic causes of some intestinal disorders of human in AL-Hilla city. M.Sc. Thesis, College of Medicine. Kufa University.

15- الزبيدي, علي البناوي و العبيدي, جاسم نجم. (1996). الإصابات الطفيلية المعوية بين سكان قرية تونس في محافظة بابل. مجلة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية: 1(3):283-290.

16- Burke, J. A. (1975). Giardiasis in childhood. Am. J. Dis. Child. 129: 1304-10.

17- الجبوري, علي حمد طلال.(2008). دراسة وبائية و سريريه لمرض الجيارديا Giardiasis في أطفال مدينة الشرقاط وضواحيها. رسالة ماجستير – كلية التربية ،جامعة تكريت.

18- Barbieri, D., Debrito, T., Hoshino, S., Nascimentof, O.P., Martins Campos, J.V., Quarentei, G.M *et al* ., (1970). Giardiasis in Childhood. Arch. Dis. Child. 45: 466.

19- Judith, C., Byrne, F., Saxton, D.F., Pelikan, P.K., and Nugent, P.M. (1986). Laboratory tests Implications for nursing care. 2nd ed., Health Sciences Division, Menlo Park, California. P:68-703.

20- Tandon, B.N., Tandon, R.K., Satpathy, B.K., and Shariniwas, A.C. (1977). Mechanism of malabsorption in giardiasis: a study of bacterial flora and bile salt deconjugation in upper jejunum. Gut. 18: 176-181.

21- وحيد, احمد محمد و سالم, عالية كاظم. (1990).علم أمراض الدم العملي. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. هيئة المعاهد الفنية. المعهد الفني/ الموصل.

22- Mark, A., Cusack, M., Sinead, O., and Ken, W. (2001). Giardia in older people. Age and ageing. 30: 419-420.

23- Baghaei, M. (2003). Hypoproteinaemia and Edema Due to Giardiasis. J. Microbiol. 28(2): 98-99.

24-Salman, Y.G., Mohammed, E.A., and Ibrahim, M.N. (2007). Effect of *Giardia lamblia* on some biochemical change of the human. Tikrit J. Pure Sci. 12(1): 120-124.

25- Das, S., Stevens, T., Castillo, C., Villasenor, A., Arredondo, H., Reddy, K. (2002). Lipid metabolism in mucous-dwelling amitochondriate protozoa. Int. J. Parasitol. 32: 57-655.

26- Sencer, K., Shen,Z., Newburg, D.S., and Jarool, E.L. (2004). Amino sugar phosphate levels in *Giardia* change during cyst wall formation. Microbiol. 150: 1225-1230.

27-Farthing, M.J., Mata. L., Urrutia, J.J., and Kronmal, R.A. (1986). Natural history of giardia infection of infants and children in rural guatemala and its impact on physical growth. Am. J. Clin. Nutr. 43(3): 395 – 405.

28- Belosevic, M., Faubert, G.M., and Macleam, J. (1989). Disccharidase activity in the small intestine of gerbils (Meriones unguiculatus) during primary and challenge infections with *Giardia lamblia*. Gut. 30: 1213-1219.

29- Buret, A.G. (2005). Immunopathology of giardiasis: the role of lymphocytes in intestinal epithelial injury and malfunction. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 100(1): 274-267.

30- Jukett, G. (1997). Pets and parasites. Am. Fam. Phys. 56(7): 1763-1774.

31- W.H.O. (1981). Field studies on the relation between intestinal Parasitic infection and human nutrition. Geneva. P:1-32.

A comparison between microscopical and ELISA technique in diagnosis of Giardia lamblia infection with epidemiological and biochemical study among Children under ten years in Tikrit District

Sinai Najy Muhsin[1] , Ibrahim Sh. Daoud[2]

[1] *General sciences department , Dentistry College, Tikrit University , Tikrit , Iraq*

[2] *Biology department , Sciences College , Tikrit University , Tikrit , Iraq*

Abstract

The current study includes 644 stool samples of patients infected with diarrhea less than ten years old who are attended Tikrit Teaching Hospital from 1/12/2008 to 30/6/2009. Three methods are used for the examination of stool, the first one is the direct microscopical test. The number of samples which are tested are 55 with the percentage of 8.54%. The second is the floatation method with three solution[Zinc Sulphate solution, Sucrose solution, and Sodium chloride solution] The number of samples which are tested by floatation method are 64 with the percentage of 9.94%. The third is ELISA method to detect parasite antigen in stool. The number of samples which are tested by this methods are 80 with the percentage of 12.42%. The results show there are significant difference between infected patients with giardiasis and the healthy persons group and for significant level $0.05<p$ in the mentioned tests. The study points out a decrease in both Hb, PCV and an increase in the rate of WBCc and ESR . The study point out a decrease in the rate of Ca^{++}, Mg^{++}, Na^{+}, Tp, Chol. And Tri. and an increase in the rate concentration of GOT, GPT.