ORIGINAL ARTICLE

Molecular Identification of Giardia intestinalis and Blastocystis hominis Genotypes from Fecal Samples in Khuzestan Province, Iran

Mohammad Bagheri[1],
Shirzad Gholami[2],
Seyed Abdollah Hosseini[3],
Ahmad Daryani[2],
Shahabeddin Sarvi[4]

[1] MSc Student in Parasitology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Associate Professor, Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 10, 2021 ; Accepted October 31, 2021)

Abstract

Background and purpose: *Giardia* and *Blastocystis* are common parasites of humans with a wide range of hosts. The aim of this study was to identify the genotypes of *Giardia intestinalis* and *Blastocystis hominis* in individuals attending Bavi health centers in Khuzestan province, Iran.

Materials and methods: In this study, 30 positive stool samples of *Giardia* and *Blastocystis* were collected from individuals attending Bavi health centers in 2019-2020. Then DNA extraction was performed on fecal samples. PCR was performed using GDH gene for *Giardia* and 18S rRNA region for *Blastocystis* and PCR products were drawn to determine sequence type and phylogenetic tree.

Results: Sequence analysis was performed on PCR products from *Giardia* based on amplification of GDH gene. Based on the results of DNA sequence, all identified samples belonged to assemblage BIV. Sequence analysis was performed on PCR products from *Blastocystis* according to amplification of 18S rRNA gene and all identified samples belonged to ST3 subtype.

Conclusion: The study showed that the predominant genotype of *Giardia* in Bavi was BIV which indicates a zoonotic cycle in this region. In addition, the predominant subtype of *blastocystis* was previously reported in this region (ST3) often seen in human-to-human transmission cycle, although there have been reports of animal-to-human cycle. Therefore, alongside health measures to control these two parasites in this area, molecular epidemiology studies in local animals is necessary to determine the zoonotic transmission of *Giardia* and *Blastocystis* parasites in this region.

Keywords: genotypes, *Giardia*, *Blastocystis*, Khuzestan

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (203): 73-82 (Persian).

* **Corresponding Author: Shahabeddin Sarvi -** Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: shahabesarvi@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و یکم شماره 203 آذر سال 1400 (82-73)

شناسایی ژنوتیپ های انگل های ژیاردیا اینتستینالیس و بلاستوسیستیس هومینیس در نمونه‌های مدفوع در استان خوزستان

محمد باقری[1]
شیرزاد غلامی[2]
سید عبداله حسینی[3]
احمد دریانی[2]
شهاب الدین سروی[4]

چکیده

سابقه و هدف: ژیاردیا و بلاستوسیستیس انگل‌های شایع انسان با طیف گسترده‌ای از میزبانان است. هدف ازمطالعه حاضر شناسایی مولکولی ژنوتیپهای انگل‌های *ژیاردیا لامبلیا* و *بلاستوسیستیس هومینیس* از نمونه‌های مدفوع مراجعه‌کنندگان به مراکز بهداشتی و درمانی در شهرستان باوی استان خوزستان در سال 98-1399 بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تعداد 30 نمونه مدفوع از مراجعه کنندگان به مراکز بهداشتی در شهرستان باوی استان خوزستان از آبان ماه 1398 تا دی ماه 1399 که با روش میکروسکوپی از نظر هر کدام از انگل‌های ژیاردیا و بلاستوسیستیس مثبت شده بودند، جمع‌آوری شد. سپس استخراج DNA از نمونه های انگل‌های مدفوع انجام شد. PCR با استفاده از پرایمرهای ژن GDH برای *ژیاردیا* و 18 S rRNA برای *بلاستوسیستیس* انجام شد و محصولات PCR برای تعیین ژنوتایپ، سکانس شد و درخت فیلوژنیک ترسیم شد.

یافته‌ها: پس ازتکثیر ژن نواحی مورد نظر، آنالیز سکانس روی محصول PCR از ژیاردیا براساس ژن GDH صورت گرفت. براساس نتایج سکانس همه نمونه‌های شناسایی شده به assemblage B (BIV) تعلق داشتند. آنالیز سکانس روی محصولات PCR از بلاستوسیستیس براساس ژن 18 S rRNA نشان داد که همه نمونه‌های شناسایی شده به ساب تایپ ST3 تعلق داشت.

استنتاج: نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتایپ غالب ژیاردیا در شهرستان باوی استان خوزستان از نوع BIV بوده، که حاکی از وجود چرخه زئونوتیک انگل در این منطقه می‌باشد. علاوه بر این ساب تایپ غالب انگل بلاستوسیستیس در این منطقه ST3 بوده، که اغلب در چرخه انتقال انسان به انسان مشاهده می‌شود، هر چند گزارشاتی از وجود چرخه بین حیوان و انسان نیز وجود دارد. بنابراین ضمن انجام اقدامات بهداشتی برای کنترل این دو انگل در این منطقه، بررسی‌های اپیدمیولوژی در حیوانات آن منطقه برای تعیین چگونگی انتقال این انگل‌ها به آن‌ها توصیه می‌شود.

واژه های کلیدی: ژنوتیپ، ژیاردیا ، بلاستوسیستیس ، خوزستان

مقدمه

علی رغم پیشرفت‌های بهداشتی، عفونت‌های انگلی سراسر جهان به ویژه در کشورهای در حال توسعه به یکی از شایع‌ترین و مهمترین مشکلات بهداشتی در دلیل رشد جمعیت، تنوع آب و هوایی، پایین بودن سطح

مولف مسئول: شهاب الدین سروی -ساری ساری: کیلومتر 17 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: shahabesarvi@yahoo.com
1. کارشناسی ارشد انگل شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. استاد، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
4. دانشیار، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1400/3/20 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1400/4/30 تاریخ تصویب :1400/8/9

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

آگـاهی و همچنـین تغذیـه نامناسـب اسـت. دو انگـل *ژیاردیـا* و *بلاستوسیستیس* از مهم‌ترین و شایع‌ترین تـک یاخته‌های بیماری زای دسـتگاه گـوارش مـی‌باشـند(1). انگـل *ژیاردیـا* از نظـر تاکسـونومی بـه شـش گونـه : *Giardia intestinalis (lamblia)* در پستانداران از جملـه انسان، *G. agilis* در دوزیسـتان، *G. ardeae* و *G. psittaci* در پرنـدگان و *G. muris* در جونـدگان تقسـیم‌بنـدی می‌شود(2). *ژیاردیا لامبلیا* دارای توزیـع جهـانی بـوده بـه طوری که که سالانه حدودا باعث آلـودگی 280 میلیـون نفر می‌شود. این انگل انتشار جهانی داشته و بیش‌ترین شیوع آن در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر به ویژه در شـرایط بهداشتی ضعیف و تراکم بالای جمعیت می‌باشد. این انگـل یکی از شایع‌ترین انگل‌های روده‌ای در ایران است(4،3). مطالعات اپیدمیولوژیکی مختلفی در زمینـه شـیوع انگـل *ژیاردیا* در نواحی متنوع آب و هوایی ایـران انجـام شـده است. انتقـال ایـن انـگل ازطریق کیسـت و بـه‌طـور مسـتقیم عوامـل و شـرایط و یـا به‌وسـیله‌ی آب و مـواد غذایـی صورت مـی‌گیـرد(5). اجتماعـی، فرهنگـی، فقـر اقتصـادی، وضعیـت اقلیمـی، عـدم امکانـات بهداشـتی، عدم توجـه بـه بهداشـت فـردی و اجتمـاعی در افـزایش بـروز ایـن بیماری نقش مهمی دارد(6). علائم بالینی متنوع بوده و از عفونت‌های بدون علائم تا اسهال مزمن متغیـر اسـت. بـه علت وجود ناقلین سالم انگل، این مساله مطرح شده کـه احتمالا تفاوت‌های ژنتیکی در این‌گونـه وجـود دارد(7). *ژیاردیا لامبلیا* یک گونه پیچیده با هشت ژنوتایپ اصلی A تا H می‌باشد. ژنوتایپ‌های A و B در انسـان و حیوانـاتی مثل سگ وجود دارد ولی ژنوتایپ‌هـای C تـا G دارای میزبان اختصاصی هستند. مطالعات تعیین توالی نمایـانگر شمار زیادی از ساب تایپ‌هـا یـا assemblage هـای A و B بـود. آنـالیز فیلوژنتیـک بـا اسـتفاده از ژن‌هـای RNA ریبوزومی کوچک(SSU rRNA)، گلوتامات دهیـدروژناز (GDH)، بتا ژیـاردین (BG) و تریـوز فسـفات ایزومـراز (TPI) برای بررسی تنوع ژنتیکی و ژنوتیپ‌های *ژیاردیـا لامبلیا* در میزبان‌های مختلف، استفاده شده اسـت. GDH به‌طور موفقیت‌آمیز برای جداسازی ژنوتایپ‌های *ژیاردیا لامبلیا* تعدادی از میزبان‌های مهره‌دار مورد اسـتفاده قـرار گرفته است. بـا اسـتفاده از ایـن ژن مـی‌تـوان بـین سـاب ژنوتایپ‌های مختلف *ژیاردیا لامبلیا* تفاوت قائل شـد(8). اپیدمیولوژی مولکولی ژیاردیازیس انسانی در بسیاری از مناطق ایران هنوز کاملا مشخص نیسـت(10،9). مطالعـات صورت گرفته در مناطق مختلف استان خوزستان نشان از تنـوع ژنتیکـی *ژیاردیـا* در ایـن منطقـه دارد(13-11). *بلاستوسیستیس هومینیس* نیز یکی از تک‌یاخته‌هـای انگلـی شایع دستگاه گوارش انسان و بسیاری از حیوانات بوده و انتشار جهانی دارد. تخمین زده می‌شود که یـک میلیـون نفر در سراسر جهان آلـوده بـه ایـن تـک یاختـه هسـتند. شـیوع این تک‌یاختـه از 1/6 الـی 16 درصـد در کشـورهای توسعه یافته تا بیش از 60 درصد در کـشورهای در حـال توسـعه متغیـر مـی‌باشـد(9). ایـن انگـل دارای دو مرحلـه کیستی و تروفوزوییت است و انتقال انگل از طریق فـرم کیـستی آن همراه آب و مواد غذایی و یـا به‌صورت مستقیم صورت می‌گیرد و می‌تواند علایم بـالینی هم‌چـون اسـهال، استفراغ، کرامپ‌های شـکمی و نفـخ ایجـاد کنـد(10). *بلاستوسیستیس* براساس پلی‌مورفیسم ژن 18 S rRNA به ساب تایپ‌های مختلفـی (ST) تقسـیم‌بنـدی مـی‌شـود و تاکنون 17 ساب تایپ از این انگل شناسایی شده اسـت. بیماری‌زایـی ایـن ارگانیسـم عمـدتا بـه دلیـل دارا بـودن حاملان بـدون علامـت، تفـاوت در حساسـیت میزبـانی، میکروبیوتای روده و تفاوت در پتانسیل‌های بیماری زایی در ساب تایپ‌های ژنتیکی مختلف است(11).

مطالعاتی به منظور تعیین ژنوتایـپ *بلاستوسیسـتیس* در مناطق مختلف اسـتان خوزسـتان انجـام شـده اسـت و ژنوتایپ‌هـای ST1, ST3, ST4 گـزارش شـدند(19-17). این شواهد نشان‌دهنـده آن اسـت کـه الگـوی ژنوتـایپی *بلاستوسیستیس* در استان خوزستان متفاوت است.

با وجود قرار گرفتن شهرستان باوی درمنطقه آب و هوایی گرمسیری تا نیمه گرمسیری، شرایط جهت انتقال و گسترش این دو انگل افزایش یافته و تاکنون مطالعه‌ای

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

در زمینه انگل‌های روده‌ای در این شهرستان انجام نشده و به علت مجاورت این منطقه در کنار رودخانه کارون و تخلیه فاضلاب شهری در رودخانه کارون و عدم تصفیه صحیح آب شرب مردم منطقه، این منطقه می‌تواند به عنوان کانونی برای عفونت‌های انگلی باشد(12). با توجه به این‌که مطالعه‌ای در زمینه شیوع تک یاخته‌های روده‌ای در منطقه باوی انجام نشده است و از آن‌جایی که *ژیاردیا* و *بلاستوسیتیس* به عنوان شایع‌ترین انگل‌های روده‌ای در ایران به‌شمار می‌آیند و از طرفی ژنوتایپ‌ها نقش مهمی در بیماری‌زایی و شناسایی ساختار جمعیتی انگل‌ها و انتقال بیماری دارند، بنابراین هدف از مطالعه حاضر مشخص کردن ژنوتیپ‌های تک یاخته‌های *ژیاردیا لامبلیا* و *بلاستوسیستیس هومینیس* در این منطقه بود تا ژنوتیپ غالب منطقه و چرخه احتمالی این انگل‌ها در این منطقه روشن شود. نتایج این مطالعه می‌تواند به شناخت راه مفید در انتقال و مدیریت پیشگیری موثر علیه این انگل‌ها کمک کند.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع توصیفی- مقطعی می‌باشد که پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد IR.MAZUMS.REC.1399.8714 انجام شد. جامعه مورد مطالعه، مراجعه‌کنندگان به مراکز بهداشتی در شهرستان باوی از آبان ماه 1398 تا دی ماه سال 1399 بودند. دراین مطالعه تعداد 30 نمونه مدفوع متعلق به مراجعه‌کنندگان این مراکز که با روش میکروسکوپی بررسی شدند و از نظر حضور هر کدام از انگل‌های *ژیاردیا* و *بلاستوسیستیس* مثبت شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها در محلول دی‌کرومات پتاسیم 2/5 درصد در 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و به آزمایشگاه تحقیقاتی انگل‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انتقال داده شدند. جهت بررسی مولکولی پس از شستشوی نمونه‌های مثبت با نرمال سالین، استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج (یکتا تجهیز آزما، ایران) طبق دستور عمل کیت انجام شد. واکنش زنجیره پلیمراز در این مطالعه از نوع semi-nested PCR- به منظور افزایش دقت در تعیین ژنوتایپ ایزوله‌های انسانی *ژیاردیا* و *بلاستوسیستیس* انجام شد. پرایمرهای اختصاصی ژن GDH *ژیاردیا* قابلیت تکثیر قطعه432 جفت بازی را داشتند و همچنین از پرایمرهای ناحیه ژن 18 S rRNA به طول316 جفت باز جهت تشخیص انگل *بلاستوسیستیس* استفاده شد. لیست پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره 1 آمده است.

واکنش PCR اولیه در حجم نهایی 25 میکرولیتر شامل 5 میکرولیتر DNA، 12/5 میکرولیتر از مسترمیکس شرکتAmpliqon، 1 میکرولیتر از هریک از پرایمرهای داخلی *ژیاردیا* (GDHeF و GDHiR) و پرایمرهای *بلاستوسیستیس* (18s-F و 18s-R) با غلظت 10 پیکومول انجام شد. حجم واکنش PCR ثانویه برای تشخیص ژیاردیا همانند PCR اولیه بود و در این مرحله از پرایمرهای داخلی *ژیاردیا* (GDHiF و GDHiR) استفاده شد. این مرحله از محصول PCR اولیه به عنوان DNA الگو استفاده شد. شرایط چرخه حرارتی جهت انجام PCR اولیه ژیاردیا بدین شرح بود: واسرشت اولیه در دمای 95°C به‌مدت 5 دقیقه، 35 چرخه با دمای واسرشت 95°C به مدت 30 ثانیه، دمای اتصال 57 °C به‌مدت 30 ثانیه، دمای تکثیر 72°C به‌مدت 30 ثانیه و در نهایت 72°C به‌مدت 7 دقیقه. شرایط چرخه حرارتی

جدول شماره 1: پرایمرهای مورد استفاده برای تشخیص *ژیاردیا* و *بلاستوسیستیس* در مطالعه حاضر

Band size	Gene	3′ 5′	Primer	Parasite
458 bp	GDH	TCAACGTCAACCGCGGTTTCCGT	GDHeF	*G. intestinalis*
		GTTATCCTTGCACATCTCC	GDHiR	
432 bp		CAGTACAACTCCGCTCTCGG	GDHiF	
316 bp	18S rRNA	GGAATCCTATTAGAGGGACACTATACAT	18s-F	*B. hominis*
		TTACTAAAATCCAAAGTGTTCATCGGAC	18s-R	

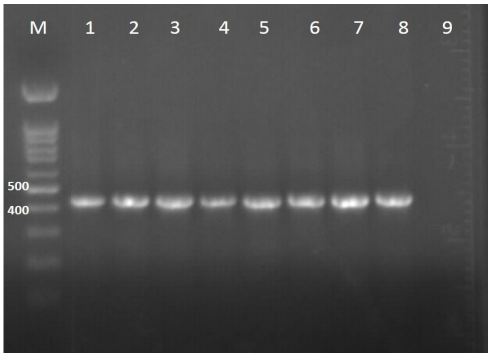
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

در PCR ثانویه به استثنای دمای اتصال (56°C) همانند مرحله اول بود. شرایط چرخه حرارتی جهت انجام PCR اولیه *بلاستوسیستیس* بدین شرح بود: واسرشت اولیه در دمای 95 °C به‌مدت 5 دقیقه، 35 چرخه با دمای واسرشت 95 °C به‌مدت 60 ثانیه، دمای اتصال 75 °C به مدت 60 ثانیه، دمای تکثیر 72°C به‌مدت 60 ثانیه و در نهایت 72 °C به‌مدت 10دقیقه. شرایط چرخه حرارتی در PCR ثانویه به استثنای دمای اتصال (56 °C) همانند مرحله اول بود. در ادامه، محصول PCR بر روی ژل آگارز 1/5 درصد رنگ‌آمیزی شده با DNA safe stain الکتروفورز شد. در نهایت به منظور تایید نهایی ژنوتایپ‌های شناسایی شده 4 ایزوله از *ژیاردیا* و 3 ایزوله از *بلاستوسیستیس* برای تعیین توالی به شرکت پیشگام ارسال شد. پس از همترازی چندگانه با موارد ثبت شده در بانک ژن، با استفاده از نرم‌افزار MEGA نسخه 7 و الگوریتم تکرار درخت 1000 و Maximum Likelihood فیلوژنی ترسیم شد.

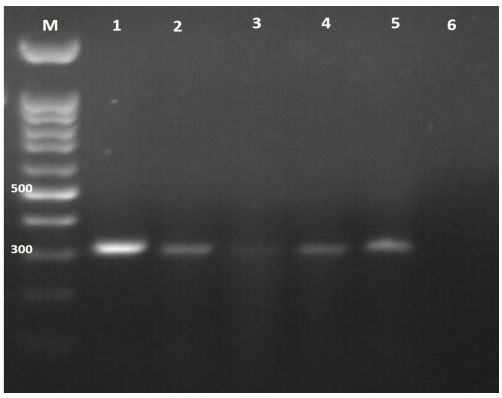
یافته ها

در مطالعه حاضر تعداد 30 نمونه مدفوع میکروسکوپی مثبت از هر کدام از انگل‌های *ژیاردیا* و *بلاستوسیستیس* از مراجعه‌کنندگان به مراکز بهداشتی در شهرستان باوی استفاده شد و پس از تایید نتایج میکروسکوپی با روش مولکولی، آنالیز مولکولی و تعیین ژنوتایپ این انگل‌ها انجام شد. تمامی نمونه‌ها از لحاظ ژن GDH در semi-nested PCR مثبت بودند. تصویر شماره 1 قطعه‌ی 423 بازی تکثیر شده از محصولات PCR با استفاده از پرایمرهای GDH را نشان می‌دهد.

همچنین همه نمونه‌ها از لحاظ ژن 18S rRNA در PCR مثبت بودند. تصویر شماره 2 قطعه‌ی 312 جفت بازی تکثیر شده از محصولات PCR با استفاده از پرایمرهای 18S rRNA را نشان می‌دهد.



تصویر شماره 1: الکتروفورز محصول PCR ژن GDH *ژیاردیا*، باند 423 بازی. (M : مارکر وزنی 100 bp، شماره 1 : کنترل مثبت، شماره 2 تا8: نمونه های مثبت، شماره 9: کنترل منفی،)



تصویر شماره 2: الکتروفورز محصول PCR ژن 18S rRNA *بلاستوسیستیس* باند 316 جفت‌بازی، (M : مارکر وزنی 100، شماره 1 : کنترل مثبت، شماره 2 تا 5 نمونه مثبت، شماره 6 : کنترل منفی)

آنالیز سکانس ژن GDH ژیاردیا

آنالیز سکانس روی 4 محصول PCR از *ژیاردیا* براساس amplification از ژن GDH صورت گرفت. براساس نتایج سکانس DNA از ژن GDH، هر 4 نمونه شناسایی شده به B assemblage (BIV) تعلق داشتند. نتایج آنالیز سکانس نشان داد که 3 ایزوله جدا شده 100 درصد و یک ایزوله 99/24 درصد شباهت به BIV sub-assemblage داشتند (GenBank Accession number MT292447.1).

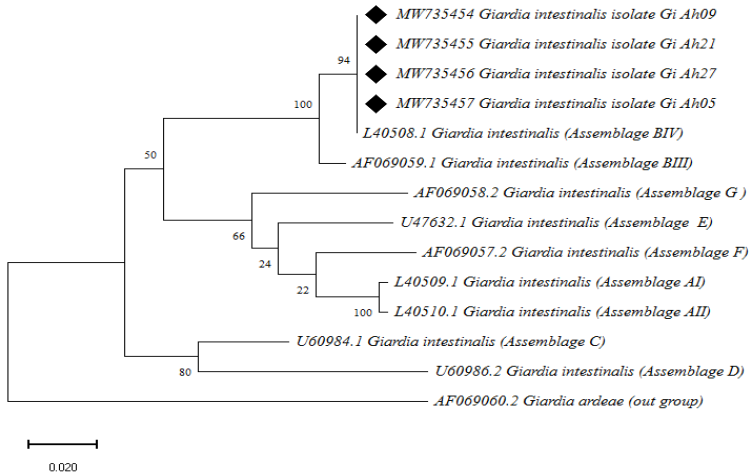
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

آنالیز سکانس ژن 18S rRNA بلاستوسیستیس

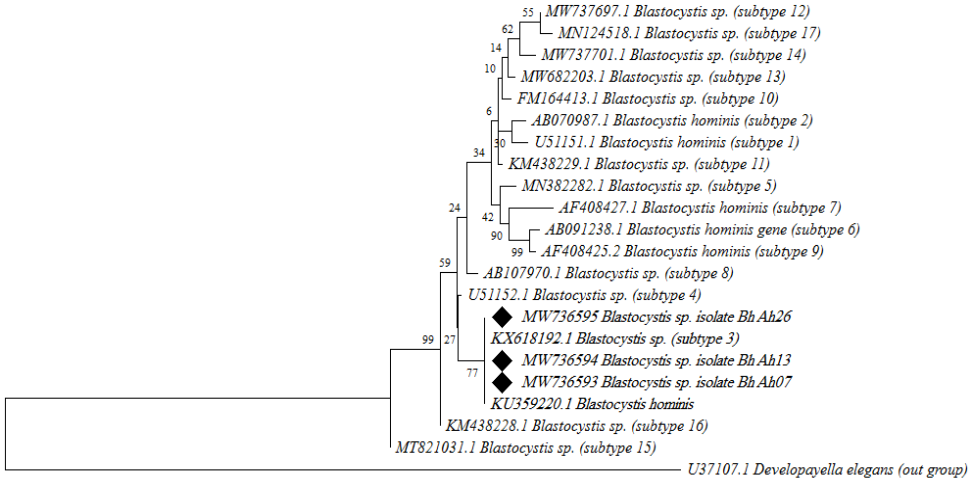
آنالیز سکانس بر روی 3 محصول PCR از *بلاستوسیستیس* براساس amplification از ژن 18S rRNA صورت گرفت. براساس نتایج سکانس DNA از ژن 18S rRNA هر 3 نمونه شناسایی شده به ساب تایپ ST3 تعلق داشته و 100 درصد با آن شباهت دارند (GenBank Accession number MK801409.1).

آنالیز فیلوژنیک

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک توالی DNA ژن GDH *ژیاردیا* و ژن 18S rRNA *بلاستوسیستیس* برای روشن شدن بیش‌تر رابطه ژنوتایپ‌های شناسایی شده در مطالعه حاضر با ژنوتایپ‌های جدا شده از مطالعات دیگر تعیین شد. تصویر شماره 3 و 4 درخت فیلوژنتیک را در روش neighbor-joining از توالی‌های ژن GDH *ژیاردیا* و ژن 18S rRNA *بلاستوسیستیس* جدا شده از بیماران در این مطالعه و جدا شده‌های مرجع GenBank نشان می‌دهد. در این تصاویر سکانس‌های علامت‌دار سویه‌های مطالعه حاضر بوده که با فاصله‌ی ژنتیکی از سایر سویه‌ها و ریشه درخت مشخص شده است.



تصویر شماره 3: ترسیم درخت فیلوژنیک با استفاده از روش Maximum Likelihood بر روی ژن GDH انگل *ژیاردیا* با استفاده از نرم افزار MEGA X



تصویر شماره 4: ترسیم درخت فیلوژنیک با استفاده از روش Maximum Likelihood بر روی ژن 18s rRNA انگل *بلاستوسیستیس* با استفاده از نرم‌افزار MEGA X

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

بحث

ژیاردیازیس یکی از دلایل اصلی اسهال در سنین مختلف به ویژه در کودکان زیر پنج سال در کشورهای در حال توسعه به شمار می‌آید. در ایران، ژیاردیازیس انسانی با میزان عفونت از 5 درصد تا 23 درصد در مناطق مختلف کشور گزارش شده است(15). داده‌های مولکولی موجود در مورد ژیاردیازیس در ایران محدود به مطالعات کمی است که با استفاده از روش‌های PCR-RFLP و Nested PCR در محل ژن‌های GDH یا TPI انجام شده است(16).

توزیع جغرافیایی ژنوتایپ‌ها یا همان assemblages *ژیاردیا* برحسب مکان، میزبان و عوامل محیطی بسیار متغیر است. پیشرفت‌های اخیر در زمینه شناسایی assemblages و sub-assemblages *ژیاردیا* درک ما از زیست‌شناسی و رابطه میزبان و انگل را به‌طور چشم‌گیری افزایش داده است. ژنوتایپ مولکولی جدا شده‌های انسانی *ژیاردیا* از مناطق مختلف جهان نشان می‌دهد که تقریباً در همه موارد فقط A assemblages و B به عفونت‌های انسانی مربوط می‌شوند. ساب ژنوتایپ‌های C و D در سگ، گربه، و گرگ، E assemblage در گاو، گوسفند، بز، خوک، گاومیش و F assemblage و G به‌ترتیب در گربه و موش شناسایی شده است(16).

در مطالعه حاضره‌ی ایزوله‌های جدا شده *ژیاردیا* مربوط به BIV sub-assemblages بودند. در آمریکای مرکزی و جنوبی، مناطقی با توزیع متفاوتی از assemblage وجود دارد. برخی گزارش‌ها از مکزیک، برزیل و کلمبیا توزیع بالاتر A assemblage را مشخص می‌کند، در حالی که در نیکاراگوئه، آرژانتین و همچنین کلمبیا assemblage غالب B است. این نشان می‌دهد که توزیع و تنوع ژنتیکی بیش‌تر از آن که متاثر از موقعیت جغرافیایی باشد، با عوامل اجتماعی - اپیدمیولوژیکی جمعیت مورد مطالعه مرتبط است(17).

در مطالعه سرکاری و همکاران در سال 2012 در جنوب ایران فراوان‌ترین ایزوله AII (74 درصد) و پس از آن BII (17/44 درصد) و BIV (4 درصد) بود(18). در مطالعه‌ی بابایی و همکاران در تهران AII sub-assemblages (87 درصد) عمده‌ترین ایزوله و BII (7/8 درصد) دومین ایزوله فراوان بود(19). در یک مطالعه در استان اصفهان، 59/7 درصد نمونه‌ها متعلق به ژنوتیپ AII، 34/32 درصد نمونه‌ها به‌عنوان ژنوتیپ B III و 2/98 درصد نمونه‌ها به عنوان ژنوتیپ BIV شناسایی شدند(28-26). در مجموع A assemblages بیش‌تر در شمال، جنوب، غرب، جنوب غربی و مرکز ایران دیده می‌شود، در حالی که مناطق شمال غربی کشور B assemblages را به عنوان ژنوتیپ غالب گزارش کرده‌اند(7). این تفاوت‌ها ممکن است به تفاوت در تعداد کل نمونه‌ها مربوط باشد که در هر منطقه به طور موفقیت‌آمیز تعیین ژنوتیپ شده باشد، یا به عوامل خاص اپیدمیولوژیکی جمعیت مورد مطالعه مرتبط باشد(7).

براساس نتایج مطالعه حاضر که همه ایزوله های جدا شده مربوط به BIV بودند، که با سایر مطالعات در مناطق مجاور همخوانی داشت و با توجه به مطالعات قبلی که نشان دادند که ژنوتایپ BIV پتانسیل انتقال زئونوتیک بیش‌تری دارد، چنین استنباط می‌شود که لگوی انتقال انتروپونتیک و زئونوتیک در این منطقه وجود دارد. در بسیاری از مناطق روستایی شهرستان‌های خوزستان، مردم حیوانات را در خانه نگهداری می‌کنند، این حیوانات ممکن است به عنوان منبع عفونت‌های انسانی نقش داشته باشند و این امر بحث انتقال و برقراری چرخه زئونوتیک انگل *ژیاردیا* را در این منطقه از کشور مطرح می‌سازد.

بلاستوسیستیس نیز یکی از رایج‌ترین تک یاخته‌هایی است که در نمونه‌های مدفوع انسانی افراد علامت‌دار و بدون علامت درسراسر جهان یافت می‌شود و طیف وسیعی از حیوانات از جمله پستانداران، پرندگان، خزندگان و بندپایان را آلوده می‌کند(20).

در مطالعه حاضر همانند بسیاری از مطالعات انجام شده در سایر مناطق جهان، ST3 به‌عنوان متداول‌ترین زیرگروه ژنوتایپی *بلاستوسیستیس* گزارش شد. این

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

ساب تایپ، به عنوان زیرگروه غالب در بیش‌تر مناطق جهان مانند ژاپن، پاکستان، بنگلادش، آلمان، سنگاپور، یونان، ترکیه، عربستان، تایلند و ایران است(22،21).

در مطالعه Hisao Yoshikawa و همکاران نشان داده شد که غالب‌ترین ژنوتایپ در 4 جمعیت مختلف در کشور ژاپن، ST3 (41تا 92 درصد) بود(23).

همچنین مطالعه مشابه دیگر توسط صالحی و همکاران (2021) در جنوب غرب ایران انجام شد که نشان داد که ST3 غالب است. آن‌ها گزارش کردند که 20/83 درصد، 20/83 درصد و 58/34 درصد نمونه ها به ترتیب ساب تایپ‌های ST1، ST2 و ST3 بودند. اعتقاد بر این است که ST3 زیرمجموعه اصلی انسان است(24). علاوه بر این مطالعات، در مطالعه‌ی خشنود و همکاران در ایران (2015) نشان داده شد که ساب تایپ‌های شناسایی شده در این مطالعه ST3، ST4، ST5 و ST7 بودند و بیش‌ترین ساب تایپ شناسایی شده ST4 بود(22).

موسوی و همکاران (2012) همچنین ST1، ST2 و ST3 را در انسان شناسایی کردند. با این حال هم چنین موارد کمی از ST7 گزارش شده، که در سایر مطالعات به‌طور پراکنده در انسان یافت شده است. 13/3 درصد از زیرگروه‌های *بلاستوسیستیس* در گاوهای ایران ST3 هستند(81) که ممکن است در انتشار و انتقال بین دو میزبان تأثیرگزار باشد و بحث برقراری یک چرخه زئونوز از این ژنوتایپ(ساب تایپ) را در ایران مطرح می‌سازد(25).

یکی از دلایل تنوع ساب تایپ در مناطق مختلف دنیا نوع روش شناسایی ساب تایپ‌ها است. تعیین ساب تایپ در مطالعات قبلی اغلب توسط PCR-RFLP انجام شده است، که یک روش دقیق برای شناسایی زیرگروه *بلاستوسیستیس* در نظر گرفته نمی‌شود، بلکه روش دقیق تعیین توالی به روش‌های مختلف از جمله سنگر می‌باشد. در مطالعه حاضر، نیز برای تعیین ژنوتایپ‌های مختلف این دو انگل از تعیین توالی دو طرفه به روش سنگر استفاده شد.

نتایج نشان داد که ژنوتایپ غالب انگل ژیاردیا در شهرستان باوی BIV بود که حاکی از وجود چرخه زئونوتیک در این منطقه می‌باشد. علاوه براین، ساب تایپ غالب انگل بلاستوسیستیس در این منطقه ST3 گزارش شد که اغلب در چرخه انتقال انسان به انسان مشاهده می‌گردد هر چند گزارشاتی از وجود چرخه بین حیوان و انسان برای این ساب تایپ در ایران نیز وجود دارد. بنابراین ضمن انجام اقدامات بهداشتی برای کنترل این دو انگل در این منطقه، بررسی‌های اپیدمیولوژی مولکولی در حیوانات آن منطقه برای تعیین و بررسی انتقال زئونوتیک آن‌ها توصیه می‌شود.

References

1. Cernikova L, Faso C, Hehl AB. Five facts about Giardia lamblia. PLoS Pathog 2018; 14(9): e1007250.
2. Abozahra R, Mokhles M, Baraka K. Molecular genotyping of Giardia lamblia assemblages by conventional PCR in rural and urban areas in Egypt. Microbes and Infectious Diseases 2021; 2(2): 378-385.
3. Pan W, Wang M, Abdullahi AY, Fu Y, Yan X, Yang F, et al. Prevalence and genotypes of Giardia lamblia from stray dogs and cats in Guangdong, China. Vet Parasitol Reg Stud Reports 2018; 13: 30-34.
4. Zylberberg HM, Green PH, Turner KO, Genta RM, Lebwohl B. Prevalence and predictors of giardia in the united states. Dig Dis sci 2017; 62(2): 432-440.
5. Hooshyar H, Ghafarinasab S, Arbabi M, Delavari M, Rasti S. Genetic variation of Giardia lamblia isolates from food-handlers in Kashan, Central Iran. Iran J Parasitol 2017; 12(1): 83-89.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

6. Bahrami F, Zamini G, Haghighi A, Khademerfan MB. Detection and molecular identification of human Giardia isolates in the West of Iran. Biomed Res India 2017; 28(13): 5687-5692.
7. AL-huchaimi SN, AL-hassani MK, Khattar A, Alhatemi S, Alshammari MMM, Mahmood TA. The Association Between Genotypes And Clinical Symptoms Of Giardia Lamblia In Patients With Symptomatic Giardiasis. International Journal of Pharmaceutical Research 2020; 12(4): 1642-1647.
8. Faria CP, Zanini GM, Dias GS, da Silva S, do Céu Sousa M. New multilocus genotypes of Giardia lamblia human isolates. Infect Genet Evol 2017; 54: 128-137.
9. Mohamed AM, Ahmed MA, Ahmed SA, Al-Semany SA, Alghamdi SS, Zaglool DA. Predominance and association risk of Blastocystis hominis subtype I in colorectal cancer: a case control study. Infect Agent cancer 2017; 12(21): 1-8.
10. Angelici MC, Nardis C, Scarpelli R, Ade P. Blastocystis hominis transmission by non-potable water: a case report in Italy. New Microbiol 2018; 41(2): 173-177.
11. Shaker D, Anvari D, Hosseini SA, Fakhar M, Mardani A, Hezarjaribi HZ, et al. Frequency and genetic diversity of Blastocystis subtypes among patients attending to health centers in Mazandaran, northern Iran. J Parasit Dis 2019; 43(4): 537-543.
12. Baghlaninezhad R, Beiromvand M, Veisi MS. Analysis of knowledge and attitudes related to parasitic infections among inhabitants of Ahvaz County, Khuzestan Province, Iran. Acta Trop 2019; 193: 211-216.
13. Góra-Gebka M, Liberek A, Sikorska-Wiśniewska G, Jankowska A, Szlagatys-Sidorkiewicz A, Bako W, et al. Giardiasis in children-clinical diversity and diagnostic problems based on own experience. Med Wieku Rozwoj 2006; 10(2): 529-538.
14. Tavares RG, Staggemeier R, Borges A, Rodrigues M, Castelan L, Vasconcelos J, et al. Molecular techniques for the study and diagnosis of parasite infection. J Venom Anim Toxins incl Trop Dis 2011; 17(3): 239-248.
15. Siyadatpanah A, Sharif M, Daryani A, Sarvi S, Kohansal MH, Barzegari S, et al. Spatial distribution of Giardia lamblia infection among general population in Mazandaran Province, north of Iran. J Parasit Dis 2018; 42(2): 171-176.
16. Fakhar M, Kialashaki E, Sharif M. An overview on the present situation of giardiasis in Iran and the world with emphasis on zoonotic aspects. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(113): 235-251 (Persian).
17. Puebla LEJ, Núñez FA, Santos LP, Rivero LR, Silva IM, Valdés LA, et al. Molecular analysis of Giardia duodenalis isolates from symptomatic and asymptomatic children from La Habana, Cuba. Parasite Epidemiol Control 2017; 2(3): 105-113.
18. Sarkari B, Ashrafmansori A, Hatam GR, Motazedian MH, Asgari Q, Mohammadpour I. Genotyping of Giardia lamblia isolates from human in southern Iran. Trop Biomed 2012; 29(3): 366-371.
19. Babaei Z, Ourmazdi H, Akhlaghi L, Rezaei S, Razmjou E, Soltani AS, 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.
20. Yakoob J, Jafri W, Beg MA, Abbas Z, Naz S, Islam M, et al. Irritable bowel syndrome: is it associated with genotypes of Blastocystis hominis. Parasitol Res 2010; 106(5): 1033-1038.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]

21. Badparva E, Ezatpour B, Mahmoudvand H, Behzadifar M, Behzadifar M, Kheirandish F. Prevalence and genotype analysis of blastocystis hominis in Iran: a systematic review and meta-analysis. Arch Clin Infect Dis 2017; 12(1): e36648.
22. Khoshnood S, Rafiei A, Saki J, Alizadeh K. Prevalence and genotype characterization of Blastocystis hominis among the baghmalek people in southwestern Iran in 2013-2014. Jundishapur Journal of Microbiology 2015; 8(10): e23930.
23. Yoshikawa H, Abe N, Iwasawa M, Kitano S , Nagano I, Wu Z, et al. Genomic analysis of Blastocystis hominisStrains isolated from two long-term health care facilities. J Clin Microbiol 2000; 38(4): 1324-1330.
24. Salehi M, Mardaneh J, Niazkar HR, Minooeianhaghighi M, Arshad E, Soleimani F, et al. Prevalence and Subtype Analysis of <i>Blastocystis hominis Isolated from Patients in the Northeast of Iran. Journal of Parasitology Research 2021; 2021: 8821885, 8.
25. Moosavi A, Haghighi A, Nazemalhosseini Mojarad E, Zayeri F, Alebouyeh M, Khazan H, et al. Genetic variability of Blastocystis sp. isolated from symptomatic and asymptomatic individuals in Iran. Parasitol Res 2012; 111(6): 2311-2315.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-16]