جداسازی و شناسایی کیست ژیاردیا لامبلیا از آب‌های سطحی شهر رشت

الهام سعیدی [۱]، نعمت‌الله جنیدی جعفری [۲]، علی صالح‌زاده [۳]، رضا کاظمی درسنکی [۴]

۱- گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران۲. -مرکز تحقیقات سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران.
۳-گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران. نویسنده مسئول. ۴- باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله
پژوهشی

تاریخچه مقاله
دریافت : ۹۶/۷/۱۰
پذیرش : ۹۶/۹/۲۲

کلید واژگان
ژیاردیا لامبلیا، کیست، PCR، رشت.

نویسنده مسئول
Email:
salehzadehmb@yahoo.com

چکیده

مقدمه: ژیاردیا لامبلیا تک‌یاخته بیماری‌زای انگلی با گسترش جهانی در جوامع انسانی می‌باشد. شناسایی، تشخیص و تعیین شیوع گونه عامل عفونی برای جوامع انسانی می‌تواند بسیار با ارزش باشد. هدف این مطالعه جداسازی و تشخیص کیست ژیاردیا از آب‌های سطحی شهر رشت بر پایه روش میکروسکوپی و مولکولی است.

روش‌کار: طی این مطالعه مقطعی بر روی ۴۵ نمونه آب سطحی جمع‌آوری شده از رودخانه‌ها و تالاب‌های اطراف شهر رشت، جداسازی و شناسایی کیست ژیاردیا از روی رسوب تغلیظ شده به روش رنگ‌آمیزی با لوگل و تکثیر ژنوم توسط پرایمرهای اختصاصی از روی ژنوم استخراج شده، انجام گردید.

یافته‌ها: از ۴۵ نمونه آب سطحی، تعداد ۱۵ نمونه (۳۳/۳۳ ٪) بر پایه روش تغلیظ و میکروسکوپی و تعداد ۱۸ نمونه (۴۰٪) با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) مثبت تشخیص داده شد. روش PCRدر مقایسه با روش استاندارد رنگ‌آمیزی کیست و میکروسکوپی دارای حساسیت ۱۰۰٪ و اختصاصیت ۹۰٪ بود.

نتیجه‌گیری: شناسایی کیست ژیاردیا لامبلیا با روش PCR حساس‌تر و اختصاصی‌تر از روش میکروسکوپی می‌باشد. با توجه به اینکه استفاده از منابع آبی برای صنعت کشاورزی امری رایج است، استفاده از روش‌های کنترل بهداشتی عوامل بیماری‌زا، از جمله جلوگیری از ورود هرگونه فاضلاب انسانی به داخل این منابع آبی پیشنهاد می‌گردد.

مقدمه

تک‌یاخته ژیاردیا لامبلیا یکی عوامل عفونی مهم از خانواده تاژکداران روده‌ای با گسترش جهانی می‌باشد که منجر به معمول‌ترین عفونت انگلی انسان در جهان می‌شود (۱). تخمین زده می‌شود که حدود ۲۰۰ میلیون نفر در آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین به ژیاردیا لامبلیا آلوده‌اند و سالیانه حدود ۵۰۰۰۰۰ مورد جدید بیماری در بچه‌ها گزارش می شود(۲). کیست‌های ژیاردیا لامبلیا به شدت برای انسان بیماری زا هستند. در یک مطالعه کلینیکی که بر روی افراد داوطلب انجام گرفت مشخص گردید که خوردن کپسول های ژلاتینی حاوی ۱۰ عدد کیست ژیاردیا می‌تواند منجر به ژیاردیازیس گردد. علایم بیماری ژیاردیازیس از یک اسهال مزمن، سوء تغذیه و کاهش وزن تا ابتلا به بیماری بدون هیچ علامتی متغیر می‌باشد (۳). تشخیص ژیاردیازیس در کشور ما بر اساس جستجوی کیست‌های ژیاردیا لامبلیا در مدفوع صورت می‌گیرد که این روش برای تشخیص انگل در سطوح پایین بیماری حساسیت کافی را دارا نمی‌باشد(۴). اولین بار فیلیس در سال ۱۹۵۲ توانست با اندازه‌گیری ابعاد ترفوزئیت‌های ژیاردیا و نوع مدین بادی سه گونه ژیاردیا دئودنالیس، ژیاردیا موریس و ژیاردیا آرژیلیس را از هم تفکیک کند. ولی با استفاده از روش های رنگ‌آمیزی کیست نمی‌توان گونه‌های ژیاردیا را از هم تفکیک کرد(۵). در مطالعات مقایسه‌ای بر روی روش‌های رنگ آمیزی کیست ژیاردیا، رنگ‌آمیزی تری کروم به عنوان حساس‌ترین و بهترین روش شناسایی کیست ژیاردیا معرفی شده است(۶). در کشورهای درحال توسعه، انگل های بیماری‌زای دستگاه گوارش که از راه آب منتقل می‌شوند از جمله آنتاموبا هیستولیتیکا، ژیاردیا لامبلیا و کریپتوسپوردیوم پاروم غالباً به عنوان عامل مرگ و میر به ویژه در کودکان مطرح می باشند. این انگل ها شایع ترین عامل عفونت زایی در سراسر جهان هستند(۷). اگر چه آب محیط مناسبی برای رشد ژیاردیا نیست، اما پتانسیل بالایی را برای انتقال این انگل دارد و با وجود کاهش تعداد کیست‌ها ورودی به منابع آبی به علت مرگ و ترقیق، این انگل‌های تک یاخته‌ای می‌توانند در آب سرد برای مدت طولانی قابلیت حیات خود را حفظ کنند(۸). عوامل عفونی موجود در منابع آبی در صورت عدم کنترل به‌خصوص در مواقع بروز بحران از قبیل سیل و زلزله می‌تواند بسیار خطرناک باشند. سالانه

مطالعات بسیاری در سراسر جهان در راستای غربالگری عوامل بیماری‌زایی عفونی منتقل شونده از آب انجام می‌شود. اطلاعات حاصل از این مطالعات می‌تواند تأثیرات به‌سزایی در کنترل این عوامل عفونی ایفا کند. با توجه به جایگاه تشخیص مولکولی و اهمیت بیماری ژیاردیازیس به خصوص در بین کودکان مطالعه فوق در راستای شناسایی مولکولی انگل ژیاردیا لامبلیا در نمونه آب‌های سطحی شهر رشت انجام می‌گیرد.

روش‌کار

جمع‌آوری نمونه: طی این مطالعه مقطعی ۴۵ نمونه آب ۱ لیتری از ۱۲ رودخانه و ۸ تالاب مختلف حومه رشت بین مهر و آبان ۱۳۹۱ جمع آوری گردید. نمونه ها از عمق ۳۰ سانتی‌متری و فاصله ۱ متری از کنار رودخانه برداشت شد و در هنگام نمونه‌گیری سعی شد حدالامکان از نواحی آلوده برداشت شود. همه نمونه ها در ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و طی ۴۸ ساعت پس از نمونه‌گیری مورد پردازش قرار گرفتند.

پردازش نمونه ها و آماده‌سازی

نمونه های آب با فیلترWattman-scheicher and schuell با منافذ ۰/۲ میکرومتر فیلتر شد و بلافاصله با استفاده از بافرPBS مورد شستشو قرار گرفت. جستجوی میکروسکوپی کیست‌های ژیاردیا در نمونه‌های فیلتر شده بعد از سانتریفیوژ در۱۰۰۰۰دور به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از رنگ آمیزی لوگول انجام گردید.

استخراج ژنوم

به منظور شکستن دیواره کیست قبل از استخراج DNA ، از روش Freeze-Thaw شامل ۱۵ سیکل دمایی ۳ دقیقه‌ای در دمای ۸۱- و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. برای خالص‌سازی ژنوم نمونه‌های آب تغلیظ شده از روش فنل-کلروفرم استفاده گردید.

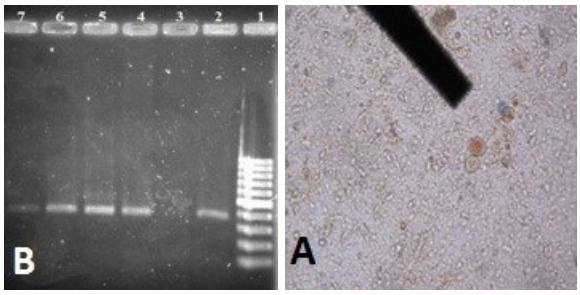
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

در راستای تشخیص مولکولی ژیاردیا لامبلیا پرایمرهای اختصاصی برای ژنheat shock protein به طول ۳۵۰ جفت باز و با توالی '5'-GCATGTCGTCAGTATAGGCG-3 و '5'-GCTTCACTGACTCGGCCTTA-3'طراحی گردید. PCR با استوک نهایی در ۲۵ میکرولیتر تهیه و پروتکل دمایی با استفاده از ترموسایکلر اپندروف به ترتیب در ۳۵ سیکل شامل: ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به‌عنوان مرحله اولیه دناتوراسیون، شامل ۳۰ ثانیه دمای۹۴ درجه سانتی‌گراد به عنوان مرحله ثانویه دناتوراسیون، ۳۰ ثانیه در دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک مرحله دمای گسترش نهایی۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۵ دقیقه انجام گردید. مشاهده و تفسیر نمونه‌های تکثیر شده پس از الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵٪ در زیر دستگاه ترانس لومیناتور صورت گرفت.

کنترل مثبت و منفی: کیست ژیاردیا از نمونه استول بیماران مبتلا به ژیاردیوزیس به روش Percoll/Sucrose جدا و پس از استخراج ژنوم و PCR از نمونه فوق به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

یافته‌ها

از ۴۵ نمونه آب سطحی، ۱۵ نمونه (۳۳/۳۳ ٪) از نظر وجود کیست ژیاردیا با استفاده از روش میکروسکوپی مثبت تشخیص داده شدند. جستجوی کیست با استفاده از لوگول رقیق شده انجام گردید، به طوری که بعد از ورود لوگول به داخل کیست، کیست‌ها رنگ قهوه‌ای به خود گرفتند. تعداد ۱۸(۴۰٪) نمونه نیز با استفاده از PCR مثبت گزارش شدند (شکل و جدول شماره ۱).



شکل – ۱: A: کیست ژیاردیا در نمونه آب تغلیظ شده. شکل شماره B: نتایج تکثیر ژنوم بر روی نمونه های آب : چاهک شماره ۱ Ladder 100 bp، چاهک شماره ۲: کنترل مثبت، چاهک شماره ۳: کنترل منفی ، چاهک‌های ۴،۵،۶،۷ نمونه‌های مثبت ژیاردیا در آب‌های سطحی

با توجه به اینکه روش طلایی استاندارد تشخیص ژیاردیا روش میکروسکوپی می‌باشد، محاسبه حساسیت و اختصاصیت آزمون نشان داد که روش تشخیصی PCR در مقایسه با روش میکروسکوپی دارای ۱۰۰٪ حساسیت و ۹۰٪ اختصاصیت می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

آب عمومی‌ترین ماده مصرفی انسان می‌باشد و کیفیت آب نقش مهمی در سلامت افراد جامعه دارد. امروزه بسیاری از مشکلات بهداشتی کشورهای در حال توسعه، عدم برخوردای از آب آشامیدنی سالم است. یکی از مهمترین معضلات بهداشتی آب، وجود عوامل بیماری‌زا در آن است. شناسایی این عوامل بیولوژیک در راستای حذف و کنترل، از مسایل مهم بهداشتی آب به شمار می آیند(۹). آلودگی آب

جدول ۱- نمونه‌های آب تغلیظ شده مثبت بر اساس مکان نمونه‌گیری

شماره نمونه	مکان نمونه گیری	روش میکروسکوپی	واکنش زنجیره ای پلیمراز
۱	جاده پیر بازار-رودخانه طش(۱)	-	+
۲	رودخانه پل طالشان(۱)	+	+
۳	رودخانه باربند(۲)	+	+
۴	رودخانه خوبک(۲)	+	+
۵	خمام رود(۱)	-	+
۶	خمام رود(۳)	+	+
۷	رودخانه پسیخان(۲)	+	+
۸	رودخانه سیاه صوفیان(۲)	+	+
۹	جعفر آباد –رودخانه۲ سیاه سوفیان(۱)	+	+
۱۰	جعفر آباد –رودخانه۲ سیاه سوفیان(۲)	+	+
۱۱	رودخانه ۱ نیشاوندان-داروسازی(۲)	+	+
۱۲	رودخانه۲ نیشاوندان-داروسازی(۱)	+	+
۱۳	تالاب عینک(۱)	+	+
۱۴	تالاب عینک(۲)	-	+
۱۵	احمد گوراب - رودخانه (۲)	+	+
۱۶	احمد گوراب - رودخانه (۱)	+	+
۱۷	اشکیک –اتوبان انزلی کیلومتر۳ (۱)	+	+
۱۸	اشکیک –اتوبان انزلی کیلومتر۳ (۳)	+	+

به‌وسیله کیست های ژیاردیا رابطه مستقیمی با سطح بهداشت و وضعیت اقتصادی جامعه دارد، به‌خصوص در مواردی که دفع بهداشتی فاضلاب‌ها در محیط صورت گیرد. که به‌ویژه در فصل های بارندگی این روان آب ها موجب انتقال کیست ها به آب و آلودگی شدید آن می شود و درصورت عدم رسیدگی خطر انتقال بیماری به انسان نیز وجود دارد(۱۰). بسیاری از آب‌های سطحی پس از فرآیند تصفیه مورد مصرف خانگی قرار می‌گیرند. یکی از روش‌های مهم در تصفیه آب، کلرزنی است(۱۱). با توجه به مقاومت بالای پروتوزوآها از جمله کیست های ژیاردیا نسبت به کلرزنی، اهمیت حذف انگلی به وسیله فیلتراسیون منابع آبی بیش از کلرزنی توصیه می گردد(۱۲). استفاده از صافی‌های شنی و یا دیاتومه‌ای می‌تواند بخش عمده تک یاختگان را از آب آلوده جدا کند. با این شرایط مطالعات جداسازی کیست ژیاردیا از آب شرب که تحت فرآیند تصفیه و کلرزنی قرار گرفته‌اند، اهمیت پیدا می‌کند(۱۳). انجام مطالعات اپیدمیولوژیکی بر روی منابع آبی در زمانی که ژیاردیازیس به صورت همه‌گیری بروز کند، می‌تواند بسیار با ارزش باشد. در سال۱۹۷۴ ردیابی کیست ژیاردیا به دنبال شیوع ژیاردیازیس روی منابع آب در نیویورک انجام شد(۱۴). ردیابی و تشخیص کیست‌های ژیاردیا در نمونه‌های منابع آبی، مستلزم انجام سه مرحله تغلیظ، خالص‌سازی، بازیابی و شناسایی می باشد. امروزه در بیشتر مطالعات برای تغلیظ نمونه آب جمع آوری شده، از روش فیلتر کردن کردن نمونه ها استفاده می‌شود. درمیان انواع فیلترهای کاربردی همچون (Slow Sand filtration) و (Precoat filtration)، میکروفیلترها به عنوان مناسب‌ترین روش مطرح می‌باشند که دارای منافذ با اندازه ۱/۰ میکرومتر یا

بیشتر می باشند(۱۵). برای خالص‌سازی و بازیابی کیست های ژیاردیا از نمونه‌های آب تغلیظ شده از روش‌های شناورسازی با استفاده از محلول‌های سولفات روی، ساکارز،/Percoll Sucrose و سیترات پتاسیم استفاده می‌شود. در این مطالعه ما برای بازیابی کیست‌ها از روش Percoll/Sucrose استفاده شد(۱۶). تا قبل از دهه ۹۰ میلادی در بیشتر مطالعات انجام شده بیشترین کاربرد را روش های میکروسکوپی و ایمونوفلوروسنس(IFA) برای شناسایی کیست ژیاردیا در منابع آبی داشتند. در سال ۱۹۷۹ استفاده از روشIFAدر شناسایی ژیاردیا توسط Visvesvaraو همکاران مطرح گردید. در روش IFAمرحله تغلیظ و شناسایی ژیاردیا با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال فلورسنت انجام می گیرد(۱۷). در مطالعات کنونی از روش فوق کمتر استفاده می‌شود چرا که کار آیی بازیابی، تحت تاثیر کیفیت آب به ویژه کدورت قرار دارد . علاوه بر این روش IFAروشی وقت‌گیر، خسته کننده و پرهزینه بوده و نیاز به افراد بسیار ماهر و با تجربه دارد. واکنش زنجیره ای پلیمراز یک روش تشخیص با حساسیت و اختصاصیت بالا در شناسایی عوامل بیولوزیک می‌باشد که در سال ۱۹۸۷ توسط کری مولیس ابداع شد. اولین بار در سال ۱۹۹۶ عباس زادگان و همکارانش موفق به شناسایی و تشخیص ژیاردیا در نمونه‌های آب شدند(۱۸). در مطالعات بعدی ردیابی ژیاردیا تا سطح حساسیت یک کیست بر پایه روش واکنش زنجیره ای پلی‌مراز عملی شد(۱۹). از مزایای روش PCR می‌توان به تشخیص کیست‌های زنده از کیست مرده و تشخیص و افتراق گونه‌های ژیاردیا را از هم اشاره کرد(۲۰-۲۱). در این مطالعه با طراحی پرایمرهای اختصاصی برای ژن heat shock protein ژیاردیا لامبلیا ، آلودگی آب های سطحی رشت را به ژیاردیا لامبلیا ۴۰٪ گزارش گردید.

محمودی و همکاران با استفاده روش های IFA, LAMPو واکنشPCRدر شناسایی کیست ژیاردیا، آلودگی دو رودخانه استان گیلان را تا ۳۷/۵٪ گزارش نمودند که نتایج فوق با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد(۲۲). در مطالعه Fernandesو همکاران در کشور برزیل آلودگی آب‌های سطحی، کشاورزی و فاضلاب به ژیاردیا دئودناله با استفاده از روش PCR، ۴۱/۶٪ گزارش شد. با رعایت اصول بهداشتی در راستای جلوگیری از ورود عامل عفونی به منابع آبی آلودگی منابع فوق به صورت چشم‌گیری در منابع آبی کاهش پیدا می‌کند، به‌طوری که در کشورهای پیشرفته نظیر آلمان و فنلاند آلودگی به کیست ژیاردیا در منابع آبی به ترتیب ۴/۲٪ و ۱۳/۷٪ گزارش شده است (۲۳-۲۴).

استان گیلان با داشتن زمین‌های حاصل‌خیز سهم قابل‌توجهی را در صنعت کشاورزی ایران را دارا می‌باشد. سیستم آبیاری کشاورزی در این منطقه بیشتر پر پایه روش سنتی و استفاده از آب‌های سطحی می باشد. استفاده از آب‌های آلوده در صنعت کشاورزی می‌تواند سبب آلودگی محصولات تولید شده و در نهایت منجر به بروز طیف وسیعی از بیماری‌های عفونی در بین مصرف‌کنندگان گردد. چنین مطالعاتی به آلودگی با کیست ژیاردیا در میوه و سبزیجاتی که با آب‌های آلوده آبیاری شده‌اند، اهمیت پیدا می‌کند(۲۵). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که حضور کیست ژیاردیا در آب‌های سطحی رشت قابل توجه می‌باشد. استفاده از روش PCR می‌تواند در کنار روش‌های روتین غربالگری دیگر آب بسیار با ارزش واقع گردد. با توجه به اهمیت سلامت این ماده حیاتی مهم ترین عملکرد بهداشتی یعنی دفع بهداشتی فاضلاب های انسانی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کلیه همکاران دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال تشکر را دارند.

References

1-Wolfe MS. Giardiasis. Clinical microbiology reviews. 1992;5(1):93-100.

2-Thompson R. The zoonotic significance and molecular epidemiology of Giardia and giardiasis. Veterinary parasitology. 2004;126(1):15-35.

3-Rendtorff RC. The Experimental Transmission Of Human Intestinal Protozoan Parasites II. Giardia Lamblia Cysts GWEN In Capsules. American Journal of Epidemiology. 1954;59 (2):209-22.

4-Flanagan P. Giardia--diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. Epidemiology and Infection. 1992;109(1):1.

5-Filice FP. Studies on the Eytology and Lige History of a Giardia from the Laboratory Rat: University of California Press; 1952.

6-Nieminski EC, Schaefer F, Ongerth JE. Comparison of two methods for detection of Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts in water. Applied and Environmental Microbiology. 1995;61(5):1714-7

7-Cráun GF, Meyer E. Waterborne giardiasis. Giardiasis. 1990:267-93.

8-Rose JB, Haas CN, Regli S. Risk assessment and control of waterborne giardiasis. American journal of public health. 1991;81(6):709-13.

9-Gray NF. Water technology: an introduction for environmental scientists and engineers: IWA Publishing; 2010.

10-Staff WHO. Guidelines for drinking-water quality: Surveillance and control of community supplies: World Health Organization; 1997.

11-Serodes J, Rodriguez M. Method of predicting residual chlorine in water supply systems. Google Patents; 1997.

12-Betancourt WQ, Rose JB. Drinking water treatment processes for removal of Cryptosporidium and Giardia. Veterinary parasitology. 2004;126(1):219-34.

13-Wallis P, Erlandsen S, Isaac-Renton J, Olson M, Robertson W, Van Keulen H. Prevalence of Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts and characterization of Giardia spp. isolated from drinking water in Canada. Applied and environmental microbiology. 1996;62(8):2789-97.

14-Rendtorff R. Giardia in water. Annals of Internal Medicine. 1975;82(2):280-1.

15-Jacangelo JG, Rhodes Trussell R, Watson M. Role of membrane technology in drinking water treatment in the United States. Desalination. 1997;113(2):119-27.

16-LeChevallier MW, Norton WD, Lee RG. Evaluation of a method to detect Giardia and Cryptosporidium in water. ASTM Special Technical Publication. 1991(1102):483-98.

17-Visvesvara G, Healy G, editors. The possible use of an indirect immunofluorescent test using axenically grown Giardia lamblia antigens in diagnosing giardiasis. Proceedings, symposium on waterborne transmission of giardiasis US Environmental Protection Agency, Cincinnati; 1979.

18-Abbaszadegan M, Gerba C, Rose J. Detection of Giardia cysts with a cDNA probe and applications to water samples. Applied and environmental microbiology. 1991;57(4):927-31.

19-Abbaszadegan M, Huber MS, Gerba CP, Pepper IL. Detection of viable Giardia cysts by amplification of heat shock-induced mRNA. Applied and environmental microbiology. 1997;63(1):324-8.

20-Mahbubani M, Bej A, Perlin M, Schaefer F, Jakubowski W, Atlas R. Detection of Giardia cysts by using the polymerase chain reaction and distinguishing live from dead cysts. Applied and environmental microbiology. 1991;57(12):3456-61.

21-Weiss JB, van Keulen H, Nash TE. Classification of subgroups of< i> Giardia lamblia</ i> based upon ribosomal RNA gene sequence using the polymerase chain reaction. Molecular and biochemical parasitology. 1992;54(1):73-86.

22-Mahmoudi M-R, Kazemi B, Mohammadiha A, Mirzaei A, Karanis P. Detection of Cryptosporidium and Giardia (oo) cysts by IFA, PCR and LAMP in surface water from Rasht, Iran. Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2013.

23-Gallas-Lindemann C, Sotiriadou I, Plutzer J, Karanis P. Prevalence and distribution of Cryptosporidium and Giardia in wastewater and the surface, drinking and ground waters in the Lower Rhine, Germany. Epidemiology and infection. 2013;141:9-21.

24-Hörman A, Rimhanen-Finne R, Maunula L, von Bonsdorff C-H, Torvela N, Heikinheimo A, et al. Campylobacter spp., Giardia spp., Cryptosporidium spp., noroviruses, and indicator organisms in surface water in southwestern Finland, 2000-2001. Applied and environmental microbiology. 2004;70(1):87-95.

25-Robertson L, Gjerde B. Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway. Journal of Food Protection. 2001;64(11):1793-8.

Isolation and identification of Giardia lamblia cysts from surface waters of Rasht city

Saeedi. E (MSc), Joneidi Jafari. N (PhD), Saleh Zadeh. A (PhD)*, Kazemi. R (MSc)

Abstract

Introduction: Giardia Lamblia is a protozoan parasite with global spread in the human population. Identification, diagnosis and determination of the incidence of the infectious agent can be valuable to control the possible sources of spread of this infectious agent in human communities. Therefore, the aim of this study was isolation and diagnosis of Giardia cysts from surface waters of Rasht based on microscopic and molecular methods.

Methods: This Cross-sectional study was performed on 45 samples of surface water collected from rivers and wetlands in the vicinity of Rasht. The samples were concentrated using nitrocellulose membrane filters. Giardia cysts were sought in concentrated deposits using Lugol staining. Giardia lamblia genome amplification was done by specific primers on DNA extracted from sediment samples using phenol-chloroform method.

Results: From 45 surface water samples, 15 (33.33%) were positive based on concentration and microscopic observation and 18 (40%) were positive in PCR. PCR had 100% sensitivity and 90% specificity in comparison with the standard staining method.

Conclusion: In detection of Giardia lamblia cysts from concentrated water samples, PCR is more sensitive and specific than microscopy. Given the common use of water resources for agriculture, use of sanitary methods of pathogen control including preventing human sewage from entering into any water source is recommended.

Keywords: Giardia lamblia, cysts, PCR, Rasht

---

*Corresponding Author, Department of biology, Rasht Islamic Azad University, Rasht, Iran. Email: salehzadehmb@yahoo.com