دراسة انتشار الجيارديا المعوية وتطبيق اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنزيم(الإليزا) لكشف مستضد الجيارديا في البراز لدى مجموعة من مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي .

خزامى زريق* **عبير الكفري****

الملخص:

خلفية البحث وهدفه: تعد الأخماج الطفيلية المعوية سبباً مهماً للمراضة والوفيات لدى مرضى نقص المناعة بما في ذلك مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي. وتعد الجيارديا المعوية من أكثر الطفيليات المعوية المسببة للإسهال شيوعاً في العالم. وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد نسبة انتشار الجيارديا المعوية عند مجموعة من مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي باعتبارهم مضعفين مناعياً وتحديد حساسية ونوعية اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنزيم (إليزا) لكشف مستضد الجيارديا في البراز.

المواد والطرائق: شملت الدراسة 90 عينة برازية جمعت من مرضى مراجعين لقسم الكلية الاصطناعية في مشفى المواساة الجامعي بدمشق (49 أنثى و41 ذكراً) ، وتراوحت أعمارهم بين 25 و75 عاماً ؛ إذ أجري لهم فحص مجهري مباشر للعينات، وتم تطبيق اختبار الإليزا للبحث عن طفيلي الجيارديا وتحديد حساسية ونوعية هذا الاختبار بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر.

النتائج: أظهرت أن نسبة الانتشار في عينة البحث بعد إجراء الفحص المجهري المباشر هي 15.6%(8.9% عند الذكور، و 6.7% عند الإناث) ، وكانت أعلى نسبة للانتشار(6.7%) ضمن الفئة العمرية من 45-54 سنة (P value 0.000) بينما ارتفعت نسبة الانتشار بعد تطبيق اختبار الإليزا إلى 18.9% (11.1% عند الذكور ، و 7.8% عند الإناث) ، وكانت أعلى نسبة للانتشار(8.9%) ضمن الفئة العمرية من 45-54 سنة (P value 0.000) ، وبلغت حساسية اختبار الإليزا 82.4% بينما بلغت النوعية 100%.

الاستنتاج: أظهرت الدراسة الإحصائية وجود الجيارديا المعوية بنسبة انتشار عالية في عينة البحث، وأظهرت حساسية ونوعية عالية لاختبار الإليزا بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر

التوصيات: إجراء فحص براز روتيني لهؤلاء المرضى للتحري عن وجود الجيارديا المعوية ومعالجتها، واستخدام اختبار الإليزا لتأكيد التشخيص لدى المرضى الذين لديهم أعراض سريرية موجهة للإصابة بالجيارديا مع سلبية نتائج الفحص المجهري وفي حالة الدراسات الوبائية.

الكلمات المفتاحية: الجيارديا المعوية ، الإليزا ، الديال الدموي.

* طالبة دكتوراه – قسم الطب المخبري – كلية الطب البشري – جامعة دمشق

** أستاذ مشرف – قسم الطب المخبري _كلية الطب البشري _جامعة دمشق

The prevalence study of Intestinal Giardiasis and detection of Giardia antigen by enzyme-linked immunosorbent assay in stool specimens in chronic renal failure patients on hemodialysis

Khouzama zreik* **Abeer al kafri****

Abstract

Background & Aim: Intestinal parasites infections are an important cause of morbidity and mortality in immunodeficiency patients including patients with chronic renal failure on hemodialysis. Intestinal Giardiasis is one of the most common diarrheal intestinal parasites in the world.

The study aims to determine the prevalence of Giardia intestinal in chronic renal failure on hemodialysis and determine the sensitivity and specificity of a commercial ELISA test for detection of Giardia intestinal in stool.

Materials & Methods: The study included 90 stool samples from patients attending the dialysis department at AL-Mowasat university hospital in Damascus (49 female, 41 males) aged between 25 -75 years , stool samples were examined microscopically and the ELISA test was applied to determine the sensitivity and specificity compared to microscopy.

Results : the result showed : The prevalence rate in the research sample by microscopy examination was 15.6% (6.7%female, 8.9% males), the prevalence was the highest 6.7% within the age group 45-54 year (p value 0.000) , while The prevalence rate by ELISA was 18.9% (7.8%female, 11.1% males), the prevalence was the highest 8.9% within the age group 45-54 year (p value 0.000), the sensitivity of the ELISA test versus microscopy was 82.4%and the specificity was 100% .

Conclusions : the statistics study showed the presence of Giardia intestinal with a high prevalence in the research sample and it showed a high sensitivity and specificity of the ELISA test compared to direct microscopy.

Recommendations: a routine stool examination for these patients to detect and treat the presence of Giardiasis and use ELISA in epidemiology surveys and to confirm the diagnosis in patients with typical clinical symptoms of giardiasis but negative results by direct microscopy.

Key words : Giardia intestinal , ELISA, hemodialysis

الاختصارات

1. **ELISA** : enzyme-linked immunosorbent assay
2. **PCR** : Polymerase chain reaction
3. **ESRF**: End Stage Renal Failure

* ph. D student Laboratory Medicine Department – Faculty of Medicine – Damascus University

** Supervising professor -Laboratory Medicine Department – Faculty of Medicine – Damascus University

المقدمة :

تعد الأخماج الطفيلية المعوية سبباً هاماً للمراضة والوفيات لدى مرضى نقص المناعة بما في ذلك مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي. يعد داء الجيارديا Giardia disease أحد أهم الأمراض الطفيلية البشرية المسببة للإسهال الأكثر شيوعاً في العالم، حيث يعد السبب الأكثر شيوعاً للأخماج الطفيلية المعوية في الولايات المتحدة الأمريكية، في عام 2013 كان هناك حوالي 280 مليون شخص في جميع أنحاء العالم يعانون من داء الجيارديا المصحوب بأعراض مع معدلات تصل إلى 7% في الدول المتقدمة و30% في الدول النامية وقد تم تصنيفه من قبل منظمة الصحة العالمية على أنه مرض مهمل.
Currie, S.L., et al.2017. 145(14): p. 3007-3011.
Beer, K.D. ,et al. 2017. 64(9): p. 1244-1250.
يسببه طفيلي الجيارديا وهو كائن حي أولي سوطي يتكاثر في الأمعاء الدقيقة للإنسان وبعض الثدييات حيث يلتصق بالطبقة البطانية للأمعاء بواسطة قرص بطني لاصق ويتكاثر بالانقسام الثنائي البسيط.

طفيلي الجيارديا لا ينتشر بالطريق الدموي كما أنه لاينتشر إلى أجزاء القناة المعدية المعوية الأخرى لكن يقتصر وجوده ضمن تجويف الأمعاء الدقيقة حيث يتمكن الطور الناشط للجيارديا من امتصاص المواد الغذائية الخاصة به وهو لاهوائي التنفس.

شكل العامل الممرض: يتواجد بأحد شكلين:

- الشكل الأتروفي Trophozoite: يشبه مقطع الإجاصة، يقيس 10*15 ميكرون وهو السوطي الوحيد الذي يحوي تناظر محوري بسبب وجود عضو في محور الطفيلي ابتداءً من الانخفاض وحتى النهاية الخلفية يؤدي إلى قسمه إلى جزأين متناظرين يدعى الإبرة المحورية، يحوي في جزئه الأمامي العريض على انخفاض يشبه مظهر الكلية فيه نواتان ضخمتان وله ثمانية سياط متحركة: زوج أمامي، زوجان في منتصف الطفيلي، زوج خلفي، تؤمن هذه السياط حركة نشطة للطفيلي.
- الشكل الكيسي Cysts: بيضوي، يقيس 8*13 ميكرون، له غلاف مضاعف أملس ورقيق بداخله 4 نوى أما بقايا السياط فيمكن أن تشاهد بشكل خط يمتد على طول محور الكيس يأخذ شكل S. Leder K, et al. 2020; 14(5):p.164-180.

العدوى: إن الشكل الأتروفي غير مقاوم للوسط الخارجي وسريع العطب لذلك لايعد وسيلة للعدوى، أما الأكياس فهي الشكل المقاوم للطفيلي إذ تبقى حية في الوسط الخارجي لعدة أسابيع أو أشهر وتعد هي المسؤولة عن عدوى الإنسان عن طريق شرب الماء أو تناول الخضار والفواكه النيئة الملوثة بالأكياس. Esch KJ, Petersen CA. 2013.26(1):58-8.

أهم المجموعات ذات الخطورة العالية للإصابة بالعدوى:

- الأطفال الصغار بعمر أقل من 5 سنوات
- النساء في سن الإنجاب
- الممارسات الجنسية الشرجية
- الاتصال الوثيق مع شخص مصاب بالمرض
- المناطق التي تعاني من سوء الصرف الصحي
- الرحالة أو المعسكرات الذين يشربون المياه غير المعالجة من الينابيع والبحيرات
- وجود ضعف بالجهاز المناعي
- وجود تماس مع حيوانات مصابة

Minetti C,Lamden K.. 2016. 355:I 5369.

المستودع : كان يعتقد بأن الإنسان هو الخازن الوحيد للجيارديا لكن تبين حديثاً بأنه يصيب ثدييات أخرى كالكلاب والقطط والأبقار والأغنام .....

دورة الحياة:

تبدأ عندما يبتلع الإنسان الأكياس مع الماء أو الطعام الملوث حيث ينحل جدار الكيس في العفج وذلك بسبب وجود الحمض المعدي والخمائر الهاضمة البنكرياسية مثل الكيموتريسين والتريسين ووجود الوسط الحامضي المناسب حيث PH بين 1.3-2.7 حيث تخرج من الكيس كتلة سيتوبلاسمية تحوي أربع نوى تشكل فيما بعد أربع أتروفات تشكل طور نشط متغذي متحرك وبعد فترة تبدأ مرحلة التكاثر اللاجنسي عن طريق الانقسام الثنائي الطولي وينتج عن ذلك أطوار نشطة وأطوار متكيسة تطرح خارج الجسم مع البراز. Huang DB, White AC.2006;35(2):291-314.

الآلية الإمراضية :

تغلف الجيارديا سطح الطبقات المخاطية للعفج والصائم مما يمنع امتصاص المواد الغذائية الضرورية كالحديد والزنك ويمكن أن تخترق هذه السوطيات الزغابات المعوية مؤدية إلى ضمورها وتصل إلى الطبقات تحت المخاطية مؤدية إلى التهاب مخاطية الأمعاء.

تعد الاستجابة المناعية الإفرازية بواسطة IgA الوسيلة الرئيسية لاستجابة المضيف والقضاء على العدوى كما تلعب الخلايا اللمفاوية التائية دوراً محتملاً في القضاء على الجيارديا حيث تهاجم الخلايا البطانية للأمعاء التي تعرضت للإصابة للتخلص منها بينما تمتلك البالعات التي تم عزلها في لويحات باير في الأمعاء الدقيقة القدرة على هضم نواشط الجيارديا في الزجاج وهذا ما يدعم دورها في دفاعات الثوي ضد الجيارديا.

Feely, Dennis E;Erlandsen ,Stanley L,Chase , David G. Springer Science.p.3 (2013)

الأعراض:

لاتظهر أعراض المرض على كل حالات الإصابة بالجيارديا فهناك العديد من العوامل تلعب دوراً في ذلك منها ما يعود للطفيلي (البروتينات السطحية المتغيرة، المقاومة الدوائية..) ومنها ما يعود للمضيف (العمر، الحالة العامة النظام الغذائي ..) لذلك يمكن أن يكون كثير من الناس يحملون العدوى دون علمهم بذلك. أهم الأعراض ألم البطني، إسهال دهني رغوي ذو رائحة كريهة مع مغص وانتفاخ بالبطن، لا يوجد دم في البراز لأن الطفيلي لا يغزو جدار الأمعاء.

الأعراض عند الأطفال تكون أكثر حدة وقد تؤدي إلى سوء امتصاص ونقص سريع بالوزن وهزال.

Granot E; Spira DT;Fraser D, Deckelbaum RJ. 44(4):6-241,1998

التشخيص:

- يعتمد التشخيص الموجه على القصة المرضية وظهور الأعراض السريرية "الفحص السريري".
- نادراً ما تشاهد الأتروفات في فحص البراز لكن يمكن البحث عنها في الرشافة العفجية المأخوذة من القسم العلوي للأمعاء بواسطة تنبيب العفج.
- التحري عن الطفيلي بفحص البراز حيث تشاهد الأكياس بشكل واضح، يجب تكرار الفحص 3 مرات بفاصل 3-4 أيام وذلك بسبب وجود فترات سلبية لا تطرح فيها الأكياس.
- الطرق التشخيصية الحديثة:

– التحري عن مستضد الجيارديا في مستحلب البراز بطريقة الاستشراب المناعي

– التحري عن المستضد في البراز بطريقة المقايسة المناعية المرتبطة بالأنزيم ELISA enzyme-linked immunosorbent assay

– التألق المناعي Immunofluorescence الذي يكشف الطفيلي باستخدام أضداد وحيدة النسيلة.
Alharbi A et al. September 07, 2020. Cureus 12(9):e 10287.

– تفاعل البوليميراز المتسلسل Polymerase PCR chain reaction الذي يتميز بحساسية ونوعية عالية جداً تجاه عدد قليل من الطفيلي. Hooshyar H, Rostamkhani P, Arbabi M, Delavari M.2019. 12(1):3-12.

العلاج :

الميترونيدازول Metronidazole جرعتين بفاصل 10 أيام أو التينيدازول Tinidazole جرعة واحدة. Lalle M, Hanevik K.2018 .11:1921-1933.

الوقاية :

معالجة الحملة الأصحاء اللاعرضيين وخاصة في ظروف معينة مثل دور الحضانة والعدوى المتكررة في الأسرة، تعقيم مياه الشرب، غسيل الخضار جيداً والعناية بنظافة الأيدي.

يوجد العديد من الدراسات لإنتاج لقاح ضد الجيارديا ومنها اللقاح GiardiaVax الذي يتم تطبيقه حالياً على الحيوانات.
Palatnik-de-Sousa, CB;Nico,D.2020. 11:204.

الاضطرابات المناعية عند مرضى الديال الدموي :

الديال الدموي Hemodialysis هو عملية يتم من خلالها إخراج دم المريض وتمريره عبر مراشح تقوم بتنقيته ثم إعادته إلى جسم المريض، حيث يهدف إلى إزالة المواد السامة من الجسم وتعويض فقدان وظيفة الكلية لدى مرضى القصور الكلوي المزمن بمراحله النهائية ESRF End stage renal failure. ويتم ذلك بشكل منتظم إما بإدخال المريض إلى المستشفى أو عبر زيارة وحدات غسيل الكلى في المشافي والعيادات الخارجية. Yu ASL,et al.2020.

يعد مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي أكثر عرضة للإصابة بالأخماج وذلك لأن القصور الكلوي المزمن هو من الأمراض المضعفة للمناعة حيث يؤثر سلباً على المناعة الخلطية والخلوية في الجسم كما أن أحد أهم الأسباب لضعف المناعة هو الانسمام بالبولة الذي يسبب اضطرابات بالجهاز المناعي تؤدي بالنتيجة إلى حالة التهابية مناعية مزمنة، كما أن الاتصال المتكرر بأدوات غسيل الكلية يمكن أن يزيد من شدة هذه الحالة والتي تؤدي على المدى الطويل إلى عوز مناعي لدى مريض الديال. لذلك تعد الأخماج السبب الثاني للوفيات عند مرضى الديال الدموي بعد الأمراض القلبية الوعائية. Leou S, Garnier F, and Testevuide P.2013;9:137-42. Goldman L, et al.2020.

هدف البحث :

- دراسة نسبة انتشار الجيارديا المعوية لدى مجموعة من مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي(باعتبارهم مرضى مضعفين مناعياً).
- دراسة حساسية ونوعية اختبار المقايسة المناعية المرتبط بالأنزيم ELISA لكشف مستضد الجيارديا في البراز وذلك بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر.

مواد و طرائق الدراسة :

عينة الدراسة : تم تحديد حجم عينة الدراسة باستخدام البرنامج الإحصائي Sample size calculation \ Cross_ sectional study، عند p _value< 0.05 و95% Confidence interval . حيث شملت الدراسة 90 مريض (49 إناث+41 ذكور) من مراجعي قسم الكلية الاصطناعية في مشفى المواساة الجامعي في دمشق، أعمارهم بين 75-25 سنة جميعهم مرضى قصور كلوي

مزمن يخضعون للديال الدموي ويعانون من إسهالات متكررة.

- تم شرح هدف الدراسة للمرضى المشاركين وأخذ موافقتهم مع ضمان سرية المعلومات وتم جمع البيانات على استمارات استبيان خاصة بكل مريض.
- تم أخذ عينات البراز من المرضى في علب بلاستيكية محكمة الإغلاق منعاً للتلوث
- تم نقل العينات إلى المخبر مباشرة لإجراء :
- الفحص العياني والمجهري المباشر
- الفحص المجهري بعد إضافة اللوغول
- اختبار ELISA مباشرة أو بعد الحفظ

مواد الدراسة :

- مجهر ضوئي مع صفائح زجاجية وسواتر ومحلول لوغول للفحص المجهري المباشر
- جهاز قارئ ELISA reader من نوع Multiskan EX مع كيت ap Dia Giardia lamblia ELISA REF 610001 بلد المنشأ بلجيكا.

مكان العمل:

جمع العينات: قسم الكلية الاصطناعية – مشفى المواساة الجامعي– دمشق

فحص العينات مجهرياً: مخبر الأحياء الدقيقة – قسم الطب المخبري – كلية الطب البشري – جامعة دمشق

اختبار ELISA : المخبر المركزي – مشفى المواساة الجامعي – دمشق

زمن الدراسة: تم إجراء الدراسة بين 2020 – 2021

طريقة فحص العينات :

أجري لكل عينة براز فحص عياني وفحص مجهري

فحص البراز عيانياً: بهدف تحديد قوام البراز ولونه والتحري عن وجود مخاط أو دم أو قيح أو طفيليات عيانيه (ديدان أو يرقات متحركة).

فحص البراز مجهرياً: تم تحضير شكلين للفحص المجهري المباشر للبراز الندي الأول يستخدم قطرة من المصل الفيزيولوجي (normal saline) لكشف الأشكال الأتروفية المتحركة، والثاني يستخدم محلول اليود (Lugol's iodine5%) لدراسة وتحديد بنية الطفيلي. تم فحص جميع العينات من قبل نفس الباحث باستعمال التكبير *10 ثم *40 وذلك لكشف وجود الجيارديا بشكليها الأتروفي والكيسي وتحديد الطفيليات الأخرى في حال وجودها.

تم إعادة الفحص المجهري 3 مرات بفاصل 4-3 أيام للعينات السلبية للتحقق من وجود الجيارديا.

اختبار ELISA : تم جمع العينات بنفس الطريقة للفحص المجهري المباشر ولاختبار ال ELISA معاً.

العينات التي لايمكن إجراء الاختبار عليها مباشرةً يتم حفظها في البراد 8-2 درجة مئوية لمدة 24 ساعة أو يتم حفظها في المجمدة بالدرجة 20- حيث يمكن فحصها خلال 18 شهر من جمعها.

مبدأ الاختبار: تم تطوير وتقييم نظام مقايسة مناعية مرتبط بالأنزيم يستخدم الأجسام المضادة أحادية النوع للكشف عن مستضد جزيئي محدد بوزن 66 كيلو دالتون في الجيارديا المعوية. خلال عملية الحضن يتم ارتباط مستضد الجيارديا الموجود في عينة البراز مع الضد النوعي الموجود في الآبار وبعد الحضن والغسيل تتم إضافة أضداد الجيارديا النوعية المرتبطة بأنزيم البيروكسيداز والذي من خلاله يتم التفاعل اللوني الذي يسمح بكشف المستضد. Nagati IM, Hegazi MM.2007.Aug.37(2):641-8.

يتم تحضير المستحلب البرازي بأخذ 0.3 مل من السائل الممدد مع ماسحة قطنية من العينة البرازية (ما يعادل 0.1غ) أما بالنسبة للبراز السائل فنأخذ 0.1 مل من العينة وننقلها إلى الأنبوب الحاوي على سائل التمديد ونمزج جيداً وبذلك نحصل على تمديد 1:4 .

طريقة العمل: بعد أخذ العدد المناسب من الآبار (عدد العينات مع الشاهد الإيجابي والسلبي) نضيف 50 ميكرون من سائل التمديد و50 ميكرون من مستحلب العينة ونحضن لمدة 60 دقيقة في درجة حرارة الغرفة (15-25 درجة) ثم نغسل.

نضيف 100 ميكرون من الأنزيم المرتبط ثم نحضن لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ثم نغسل باستخدام محلول الغسيل الموجود في الكيت.

نضيف 100 ميكرون من الكروموجين (المادة المولدة للون) ونحضن لمدة 10 دقائق.

نضيف 100 ميكرون من سائل إيقاف التفاعل لكل بئر.

نقرأ النتيجة عيانياً أو على طول موجة 450 نانومتر

قراءة النتائج: عيانياً: تعتبر النتيجة إيجابية إذا ظهرت بلون أصفر بشكل واضح أكثر من الشاهد السلبي بينما أي عينة لاتعطي اللون الأصفر الواضح أكثر من الشاهد السلبي تعتبر سلبية.

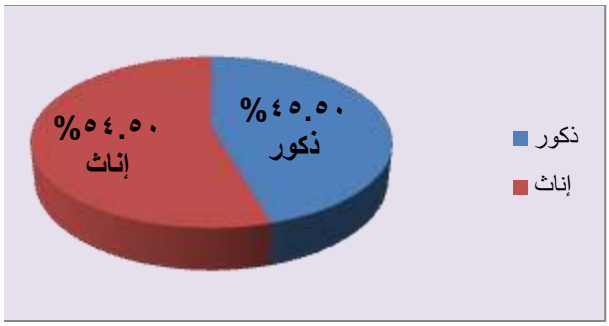
القراءة على الجهاز : تعتبر العينة إيجابية (تحوي مستضد الجياردیا) إذا كانت قراءة الامتصاص أكثر من 0.08 بينما تعتبر سلبية إذا كانت القراءة أقل من 0.08.

النتائج والدراسة الإحصائية :

أولاً – وصف العينة:

كانت عينة البحث مؤلفةً من 90 مريض (49 إناث و41 ذكور) تراوحت أعمارهم بين 25 و75 عاماً وكانوا جميعاً مرضى قصور كلوي مزمن ويخضعون للديال الدموي ويعانون من إسهالات متكررة .

يبين الشكل (1) توزع المرضى في عينة البحث حسب الجنس :



الشكل (1): توزع المرضى حسب الجنس في عينة البحث

تم توزيع العينة إلى فئات عمرية متجانسة باستخدام قانون سترجيس حساب طول الفئة

C = R /3.322logn + 1 حيث بلغ مدى الفئة 10 كالآتي:

الجدول (1): توزع المرضى في عينة البحث حسب الفئات العمرية

الفئات العمرية	25-34	35-44	45-54	55-64	65-74
عدد المرضى	9	15	35	23	8

ثانياً – الدراسة الإحصائية التحليلية: (البرنامج الإحصائي SPSS 22):

بعد فحص العينات وإجراء الفحص المجهري المباشر واختبار الإليزا سيتم حساب نسبة انتشار الجياردیا المعوية ضمن عينة البحث حسب الجنس والفئات العمرية.

يتم حساب الحساسية والنوعية لاختبار ELISA كالتالي:

الحساسية Sensitivity = (عدد العينات الإيجابية بالفحص المجهري المباشر وباختبار ELISA معاً / عدد الحالات الإيجابية باختبار ELISA) × 100

النوعية Specificity = (عدد العينات السلبية بالفحص المجهري المباشر وباختبار ELISA معاً / عدد الحالات السلبية باختبار ELISA) × 100

يبين الجدول رقم (2) توزع الحالات الإيجابية والسلبية حسب الجنس وحساب نسبة الانتشار من مجمل عينة البحث.

الجدول (2): توزع الحالات الإيجابية و السلبية حسب الجنس في عينة البحث

الجنس	عدد الحالات الإيجابية		عدد الحالات السلبية		نسبة الانتشار من مجمل العينة	
	الفحص المجهري المباشر	ELISA	الفحص المجهري المباشر	ELISA	الفحص المجهري المباشر	ELISA
إناث	6	7	43	42	6.7%	7.8%
ذكور	8	10	33	31	8.9%	11.1%
المجموع	14	17	76	73	15.6%	18.9%

بلغت نسبة انتشار الجيارديا المعوية 15.6% (90 / 14) بالفحص المجهري المباشر وكانت نسبة الانتشار عند الذكور أعلى منها عند الإناث (8.9% ذكور مقابل 6.7% عند الإناث) بينما ارتفعت النسبة بعد تطبيق اختبار الإليزا إلى 18.9% (90 / 17) وأيضاً كانت النسبة عند الذكور أعلى منها عند الإناث (11.1% ذكور مقابل 7.8% عند الإناث).

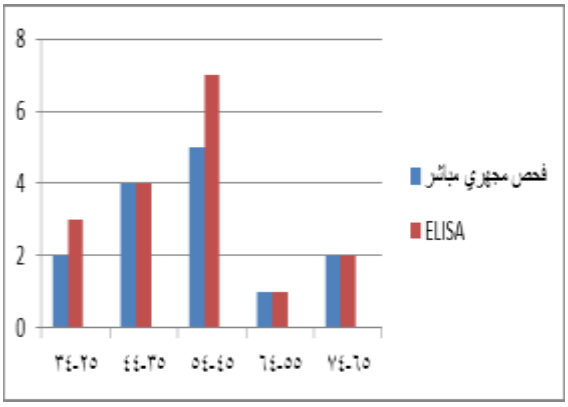
يبين الجدول (3) توزع الحالات الإيجابية لكل من الفحص المجهري المباشر واختبار الإليزا حسب الفئات العمرية مع حساب نسبة الانتشار في مجمل عينة البحث.

الجدول (3): توزع الحالات الإيجابية لكل من الفحص المجهري المباشر واختبار الإليزا حسب الفئات العمرية مع حساب نسبة الانتشار في مجمل عينة البحث.

العمر	عدد الحالات الإيجابية		النسبة المئوية من مجمل العينة	
	الفحص المجهري المباشر	ELISA	الفحص المجهري المباشر	ELISA
25-34	2	3	2.2%	3.3%
35-44	3	3	3.3%	3.3%
45-54	6	8	6.7%	8.9%
55-64	1	1	1.1%	1.1%
65-74	2	2	2.2%	2.2%
المجموع	14	17	15.6%	18.9%

يوضح الجدول السابق أن الفئة العمرية 45-54 سنة هي الأعلى انتشاراً للجيارديا المعوية حيث بلغت 6.7% بالفحص المجهري المباشر بينما بلغت 8.9% بعد تطبيق اختبار الإليزا ولدراسة علاقة الإصابة بالعمر تم إجراء اختبار كاي مربع وفق الرزمة الإحصائية SPSS(22) ووجدت علاقة قوية دالة إحصائياً حيث بلغت قيمة P value 0.000 وهي قيمة ذات مغزى إحصائي عند مستوى دلالة أصغر من 0.05

يبين المخطط (2) توزع الحالات الإيجابية في كلا الاختبارين حسب الفئات العمرية.



المخطط (2): توزع الحالات الإيجابية في عينة البحث حسب الفئات العمرية

يظهر الجدول (4) المقارنة بين الفحص المجهري المباشر(المعيار الذهبي للتشخيص) وبين اختبار ELISA لتشخيص الجيارديا المعوية وحساب الحساسية والنوعية لاختبار الإليزا بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر

الجدول (4): الحساسية والنوعية لاختبار ELISA بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر لكشف الجيارديا المعوية عند عينة الدراسة

الفحص المجهري	المجموع	ELISA		الحساسية Sensitivity	النوعية Specificity
		إيجابي	سلبي		
إيجابي	14	14	0	–	–
سلبي	76	3	73	–	–
المجموع	90	17	73	82.4%	100%

بالفحص المجهري المباشر للعينات تبين أنه من أصل 90 عينة براز كانت 14 عينة إيجابية (تحوي طفيلي الجيارديا) و76 عينة سلبية. جميع العينات التي كانت إيجابية بالفحص المجهري المباشر كانت إيجابية باختبار ELISA بالإضافة ل 3 عينات كانت سلبية بالفحص المجهري المباشر بينما كانت إيجابية باختبار ELISA، وبالتالي فإن الحساسية لاختبار الELISA كانت 82.4% و النوعية 100%.

مناقشة النتائج والمقارنة مع الدراسات العالمية:

في دراستنا تم تطبيق اختبار ELISA للمرة الأولى(غالباً) في تشخيص الجيارديا المعوية في سورية. وتبين أنه من أصل 13 مريض إيجابي بالفحص المجهري المباشر كانوا جميعاً إيجابيين ب ELISA ، بينما من أصل 77 عينة سلبية بالفحص المجهري المباشر (مع إعادة الفحص 3مرات) وجدت 3 عينات إيجابية ب ELISA مما يعطي هذا الاختبار حساسية 82.4% ونوعية 100% بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر.

كما أظهرت الدراسة أن نسبة انتشار الجيارديا المعوية لدى عينة مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي بلغت 15.6% بالفحص المجهري المباشر بينما ارتفعت النسبة إلى 18.9% بعد تطبيق اختبار ال ELISA. كانت نسبة الانتشار أعلى عند الذكور (8.9% بالفحص المجهري المباشر و11.1% باختبار الإليزا) منها عند الإناث (6.7% بالفحص المجهري المباشر و7.8% باختبار الإليزا)، وكانت النسبة الاعلى للانتشار ضمن الفئة العمرية من 45-54 سنة (6.7% بالفحص المجهري المباشر و8.9% باختبار الإليزا).

وكانت نتائج دراستنا متوافقة مع العديد من الدراسات العالمية التي أظهرت أن اختبار الELISA أكثر حساسية ونوعية من الفحص المجهري المباشر ففي تركيا أجريت عدة دراسات لتقييم اختبار ELISA وبعض الاختبارات المناعية المصلية الأخرى المستخدمة لكشف مستضد الجيارديا المعوية في البراز ومنها الدراسة التي أجريت عام 2006 ووجدت أن اختبار ELISA له حساسية 88.6% ونوعية 88.6% بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر. AL FD et al.2006,30:275-8. كما بينت الدراسة التي أجريت في ايرلندا عام 2016 على عدة مجموعات من الأطفال (إسهال، سوء تغذية، سرطانات، دور الرعاية ..)

أن اختبار ال ELISA أكثر حساسية في كشف مستضد الجياردیا بالمقارنة مع الفحص المجهري المباشر (97% مقابل 55%) Silva, R.K., et al.2016. 65(6 Pt A): p. 635-640.. أما الدراسة التي أجريت في الأردن عام 2018 لدراسة انتشار الجياردیا المعوية لدى عينة مؤلفة من 96 مريض يعانون من إسهالات متكررة فقد أظهرت أن نسبة انتشار الجياردیا المعوية كانت 64.6% وكانت حساسية اختبار ELISA 76.5% والنوعية 68% وذلك بالمقارنة مع اختبار PCR Nawall Hijjawi et al.2018 Feb..

الخلاصة :

تعد الجياردیا المعوية من الطفيليات المعوية شائعة الانتشار عند مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي باعتبارهم مرضى مضعفين مناعياً ويرتبط وجودها بظهور مجموعة من الأعراض السريرية أهمها الإسهال والألم البطني ويعد اختبار الELISA كطريقة مناعية لكشف مستضد الجياردیا المعوية في البراز أكثر حساسية وأكثر نوعية من الفحص المجهري المباشر.

التوصيات :

- إجراء فحص براز بشكل روتيني لدى مرضى القصور الكلوي المزمن الخاضعين للديال الدموي بهدف التحري عن الطفيليات المعوية ومنها الجياردیا المعوية وعلاج الحالات العرضية والحملة الأصحاء لمنع انتشار العدوى.
- تطبيق اختبار ال ELISA لدى المرضى الذين لديهم أعراض سريرية موجهة للإصابة بالجياردیا مع نتيجة سلبية بالفحص بالمجهري المباشر(3 عينات سلبية).
- يمكن تطبيق اختبارELISA في حالة الدراسات الوبائية التي تشمل عدد كبير من العينات وتتطلب السرعة والدقة في إظهار النتائج.

References:

1. **1 .** Currie, S.L., et al., Under-reporting giardiasis: time to consider the public health implications. Epidemiol Infect, 2017. 145(14): p. 3007-3011.
2. Beer, K.D., et al., Giardiasis Diagnosis and Treatment Practices Among Commercially Insured Persons in the United States. Clin Infect Dis, 2017. 64(9): p. 1244-1250.
3. Leder K, et al. Giardiasis : Epidemiology, clinical manifestation, and diagnosis. Accessed Nov. 2020; 14(5):p.164-180.
4. Esch KJ, Petersen CA. " Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal disease of companion animals". Clinical Microbiology Review. 2013.26(1):58-85.
5. Minetti C,Lamden K ."Giardiasis "BMJ (Clinical Research ED).(27 October 2016).355:I 5369. **5.**
6. Huang DB, White AC. " An updated review on Cryptosporidium and Giardia ". Gastroenterol Clin North Am.2006;35(2):291-314.
7. Feely, Dennis E;Erlandsen ,Stanley L,Chase , David G."Structure of the trophozoite and cyst ." In Erlandsen , Stanley L; Meyer, Ernest A. (eds).Giardia and Giardiasis:Biology, Pathogenesis , and Epidemiology. Springer Science.p.3 (2013).
8. Granot E; Spira DT;Fraser D . and Deckelbaum RJ.Immunological response to infection with giardia lambelia in children .J.Trop Pediatar;44(4):6-241,1998.
9. Alharbi A et al.Detection of giardia lamblia by microscopic examination, rapid chromatographic immunoassay test, and molecular technique. September 07, 2020. Cureus 12(9):e 10287.
10. Hooshyar H, Rostamkhani P, Arbabi M, Delavari M." Giardia lamblia infection:review of current diagnostic strategies". Gastroenterology and hepatology from bed to bench.2019. 12(1):3-12.
11. Lalle M, Hanevik K ."Treatment refractory giardiasis: challenges and solutions". Infection and Drug Resistance.2018 .11:1921-1933.
12. **12**.Palatnik-de-Sousa, CB;Nico,D." The Delay in the Licensing of Protozoal Vaccines: A Comparative History". Frontiers in immunology. 2020. 11:204.
13. Yu ASL, et al. Hemodialysis . In: Brenner &Rector 's the kidney. 11th ed. Elsevir; 2020.
14. Leou S, Garnier F, and Testevuide P .Infectious complications rate from hemodialysis catheters: experience from the French Polynesia.Nephrol ther .2013;9:137-42.
15. Goldman L, et al. Chronic kidney disease. In: Goldman- Cecil medicine. 26th ed . Elsevir; 2020.
16. **16**.Nagati IM, Hegazi MM. Dot- ELISA copro – antigen and direct stool examination in diagnosis of giardiasis patients. J Egypt Soc Parasitol.2007 Aug.37(2):641-8.
17. AL FD et al. The use of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and direct fluorescent antibody(DFA) methods for diagnosisof Giardia intestinalis. Turkiye parazitolji dergisi,2006,30:275-8.
18. Silva, R.K., et al., Performance of microscopy and ELISA for diagnosing Giardia duodenalis infection in different pediatric groups. Parasitol Int, 2016. 65(6 Pt A): p. 635-640.
19. Nawall Hijjawi et al." comparison of ELISA, nested PCR and sequencing and a novel q PCR for detection of giardia isolates from Jordan".Exp parasitol.2018 Feb.