Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

BRIEF REPORT

Frequencies of Important Intestinal Coccidia and Microsporidium in Stool Samples

Abbas Shahbazi[1],
Shirzad Gholami[2],
Nasrin Mirsamadi[3],
Iran No'khahi[4],
Ardavan Ghazanchaei[4]

[1] Tabriz Research Center of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2] Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[4] Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

(Received December 21, 2010 ; Accepted October 30, 2011)

Abstract

Background and purpose: Cryptosporidium, Cyclospora and Microsporidium are infectious agents bringing about concern about food products across the world. The current epidemiological evidence suggests that these pathogens can be of great risk to human health. Therefore, the present study was conducted to determine the frequency of the pathogens in people referred to the medical laboratories in Tabriz.

Materials and methods: A total of 1825 stool samples referred to the parasitology department of Tabriz medical laboratories were examined by direct wet file diagnoses, formalin-ether concentration, cold Kinyoun acid-fast and modified trichrome for detection of Cryptosporidium, Cyclospora and Microsporidium.

Results: No cases of the pathogens were diagnosed through direct diagnostic method, whereas using concentration method, 18 cases of infection were diagnosed among which 15 (83% of total positive cases) were Cryptosporidium and 3 (17% of total positive cases positive) were Microsporidium. On the other hand, among the 15 cases of Cryptosporidium, presence of parasite was confirmed by cold Kinyoun acid-fast method jsut in three cases. In modified trichrom method, Microsporidium was diagnosed just in one non-diarrheal sample. Overall, no case of infection with Cyclospora was observed using all the three methods.

Conclusion: Due to zoonotic nature of Cryptosporidium, the 0.16 percent frequency of this parasite in people referred to one medical diagnostic laboratory emphasizes the necessity of paying more attention to issues such as water and food health, public health education, and control of infection in cattle.

Key words: Cryptosporidium, cyclospora, microsporidium, Tabriz

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(86): 271-277 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و یکم شماره ۸۶ بهمن سال ۱۳۹۰ (۲۷۷-۲۷۱)

فراوانی کوکسیدیاهای مهم روده ای و میکروسپوریدیوم در نمونه‌های مدفوع

عباس شهبازی[۱]
شیرزاد غلامی[۲]
نسرین میرصمدی[۳]
ایران نوع خواهی[۴]
اردوان قازانچایی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: کریپتوسپوریدیوم، سیکلوسپورا و میکروسپوریدیوم از جمله عوامل عفونی می‌باشند که بیشترین نگرانی را در فرآورده‌های غذایی در سراسر جهان ایجاد کرده‌اند. شواهد اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که این عوامل بیماری‌زا می‌توانند خطر بزرگی برای سلامت انسان باشند. به همین جهت مطالعهٔ حاضر با هدف تعیین فراوانی پاتوژن‌های مذکور در افراد مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تبریز طراحی و به اجرا درآمد.

مواد و روش ها: تعداد ۱۸۲۵ نمونهٔ مدفوع از مراجعین به بخش انگل‌شناسی آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تبریز با روش‌های مستقیم (گسترش مرطوب)، تغلیظ (فرمالین- اتر) و رنگ‌آمیزی اسید فست کاینیون سرد و تری‌کروم اصلاح شده از لحاظ وجود کریپتوسپوریدیوم، سیکلوسپورا و میکروسپوریدیوم بررسی شدند.

یافته ها: با روش مشاهدهٔ مستقیم (گسترش مرطوب) هیچ موردی از آلودگی به کوکسیدیاهای روده‌ای تشخیص داده نشد. با روش تغلیظ ۱۸ مورد آلودگی تشخیص داده شد که ۱۵ مورد آن (۸۳ درصد کل موارد مثبت) کریپتوسپوریدیوم و ۳ مورد (۱۷ درصد موارد مثبت) میکروسپوریدیوم بودند. با روش اسید فست کاینیون سرد برای تشخیص کریپتوسپوریدیوم تنها در سه نمونه از ۱۵ نمونه‌ای که با روش تغلیظ آلوده به کریپتوسپوریدیوم تشخیص داده شدند وجود انگل تأیید گردید. تنها در یک نمونه غیر اسهالی با روش تری‌کروم اصلاح شده میکروسپوریدیوم تشخیص داده شد. هیچ موردی از آلودگی به سیکلوسپورا با هر سه روش مشاهدهٔ مستقیم، تغلیظ و رنگ‌آمیزی مشاهده نگردید.

استنتاج: با توجه به زئونوز بودن کریپتوسپوریدیوم، فراوانی ۰/۱۶ درصدی تأیید شده به‌وسیله رنگ‌آمیزی این انگل در مراجعه‌کنندگان به یک آزمایشگاه تشخیص طبی مبین ضرورت توجه بیش از پیش به مقوله‌هایی همچون بهداشت آب و مواد غذایی، آموزش بهداشت عمومی و کنترل عفونت در دام است.

واژه‌های کلیدی: کریپتوسپوریدیوم، سیکلوسپورا، میکروسپوریدیوم، تبریز

مقدمه

در دهه‌های اخیر تک یاخته‌های انگلی دارای بیشترین ظرفیت ایجاد بیماری‌های منتقله از آب و غذا می‌باشند. کریپتوسپوریدیوم، سیکلوسپورا و میکروسپوریدیوم از جمله این انگل‌ها می‌باشند(۱).

مولف مسئول: اردوان قازانچایی– تبریز: دانشگاه علوم پزشکی، دانشکدهٔ پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری تبریز E-mail: ghazanchaeia@tbzmed.ac.ir
۱. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری تبریز، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳. دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
تاریخ دریافت : ۸۹/۹/۳۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۰/۱/۷ تاریخ تصویب : ۹۰/۸/۸

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

کریپتوسپوریدیوم یک انگل کوکسیدیایی تک میزبانه[1] داخل سلولی و خارج سیتوپلاسمی است که یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای منتقله از طریق آب است(۳،۲). این انگل عامل مهم اسهال آندمیک و اپیدمیک در سراسر دنیا به خصوص کودکان و بیماران دچار نقص سیستم ایمنی است(۵-۳). گونه‌های کریپتوسپوریدیوم پاروم و کریپتوسپوریدیوم هومینیس شایع‌ترین گونه‌هایی هستند که انسان را آلوده می‌کنند. کریپتوسپوریدیوم پاروم به عنوان سومین یا چهارمین عامل شناخته شده مولد اسهال در انسان مطرح است(۶). کریپتوسپوریدیوزیس یکی از مهم‌ترین عفونت‌های فرصت‌طلب است(۷). روش‌های رایج برای تشخیص کریپتوسپوریدیوم شامل استفاده از روش‌های تغلیظ، رنگ‌آمیزی گسترش‌های تهیه شده از مدفوع و سرولوژی است(۸). از روش‌های مولکولی مبتنی بر (PCR) نظیر Nested PCR و PCR- RFLP نیز برای تشخیص انگل کریپتوسپوریدیوم استفاده شده است(۱۳-۹). رایج‌ترین روش رنگ‌آمیزی برای تشخیص کریپتوسپوریدیوم روش تغییر یافته کاینیون سرد است(۱۴).

میکروسپوریدیاها[2] متعلق به شاخهٔ میکروسپورا بوده جزء تک یاخته های اجباری داخل سلولی می‌باشند(۱۵). عفونت میکروسپوریدیا در میزبان در بیشتر موارد به صورت گوارشی است اما عامل عفونت می‌تواند در هر ارگانی وجود داشته باشد. به‌طور معمول انتقال عفونت از حیوان به انسان، انسان به انسان و از آب و غذا به انسان صورت می‌پذیرد(۱۶). میکروسپوریدیاها امروزه به‌عنوان یکی از عوامل عفونت‌زای فرصت طلب مطرح می‌باشند. انتروسایتوزون بینوزی و انسفالیتوزون اینتستینالیس موجب ایجاد اسهال‌های طولانی با دردهای شکمی و کاهش وزن در بیماران با نقص ایمنی می‌شوند(۱۸،۱۷). روش‌های تشخیص آزمایشگاهی این انگل شامل بیوپسی روده کوچک و رنگ‌آمیزی آن(۱۹)، روش‌های سرولوژی، روش‌های مولکولی مبتنی بر PCR (۱۵)، روش‌های رنگ‌آمیزی اسپور با روش‌های رنگ‌آمیزی اصلاح شده تری کروم(۲۰)، گیمسا(۲۱) و یا رنگ‌های فلورسنت می‌باشند. روش وبر یک روش رنگ‌آمیزی متداول در بسیاری از آزمایشگاه‌ها است(۲۲). سیکلوسپورا کایتاننسیس[3] تک یاخته پاتوژن انسانی است که سلول‌های اپیتلیال در قسمت‌های فوقانی رودهٔ باریک، عمدتاً ژژنوم را هدف قرار می‌دهد و عامل ناراحتی‌های گوارشی و تب خفیف است(۲۳). تعدادی اپیدمی بزرگ ناشی از مصرف غذای آلوده به این انگل گزارش شده است(۲۴). در بسیاری از کشورهای در حال توسعه انتقال این انگل با آب(۲۵)، خاک(۲۶) و سبزیجات و گیاهان نپخته(۲۷) گزارش شده است. احتمال می‌رود که انتقال بیشتر در مناطقی اتفاق می‌افتد که فاضلاب انسانی محصولات غذایی انسان را آلوده می‌کند(۲۸). مشاهدهٔ میکروسکوپی در نمونهٔ تازه و رنگ‌آمیزی شده با رنگ کاینیون(۲۹) و مشاهده زیر اشعهٔ ماوراء بنفش(۳۰) از جمله روش‌های تشخیص انگل در مدفوع می‌باشند. گزارشاتی در زمینهٔ تأیید اپیدمی‌های کانونی با روش‌های مولکولی مبتنی بر PCR نیز منتشر شده است(۲۹).

در حال حاضر از روش‌های مولکولی که به مراتب هزینهٔ بیشتری نسبت به روش‌های رایج مبتنی بر رنگ آمیزی دارند و انجام آن‌ها نیاز به تخصص، مهارت و تجهیزات بیشتری دارد به طور عمده برای بررسی‌های اپیدمیولوژیک و تعیین گونه‌های انگل‌ها و تنوع ژنتیکی ایزوله‌ها استفاده می‌شود(۳۱). لذا با توجه به فقدان اطلاعات دقیق و قابل تعمیم به جمعیت و اهمیت روز افزون این سه انگل در بروز بیماری‌های گوارشی، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی این انگل‌ها با روش‌های تشخیصی رایج یعنی مشاهدهٔ لام مستقیم، رنگ‌آمیزی و روش تغلیظ طراحی و به اجرا در آمد.

1. Monoxen
2. Microsporidia
3. Cyclospora cayetanensis

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

مواد و روش ها

در این مطالعه تعداد ۱۸۲۵ نمونهٔ مدفوع از مراجعین به بخش انگل‌شناسی آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تبریز بررسی شدند. در مرحلهٔ نمونه‌گیری در هر روز ۴۰-۳۰ نمونهٔ مدفوع از بین نمونه‌های دریافت شد و در یکی از یک آزمایشگاه تشخیص طبی، بلافاصله تشخیص مستقیم میکروسکوپی با محلول ید- لوگل صورت گرفت.

در مرحلهٔ تغلیظ جهت مشاهدهٔ اووسیست انگل یک گرم مدفوع در ۱۰ سی سی از محلول ۱۰ درصد فرمالین مخلوط گردید. سوسپانسیون از بین دو لایه گاز جراحی به داخل لوله سانتریفوژ عبور داده شد. ۳ سی سی اتر به لولهٔ سانتریفوژ اضافه و تکان داده شد تا کاملاً مخلوط شوند، سپس سانتریفوژ گردید. پس از تخلیه محتویات لوله، رسوب ته لوله با لوگل مشاهده گردید(۸).

از رسوب حاصله در فرایند تغلیظ یک گسترش روی لام تهیه شد. سپس گسترش‌های تهیه شده در معرض هوا و در دمای اتاق خشک شده به روش اسید فست کاینیون سرد رنگ‌آمیزی شدند(۱۴). لام‌ها پس از رنگ‌آمیزی توسط میکروسکوپ و با عدسی روغنی بررسی شدند. در این روش زمینه لام به رنگ آبی دیده می‌شود و اووسیست‌ها به شکل اجسام مدور و به رنگ قرمز، حاوی اسپروزوئیت‌های هلالی شکل دیده می‌شوند.

برای رنگ‌آمیزی تری‌کروم اصلاح شده برای تشخیص میکروسپوریدیوم از سوسپانسیون تهیه شده در فرمالین ۱۰ درصد، ۱۰ میکرولیتر بر روی لام قرار داده شد. پس از خشک شدن گسترش‌ها برای مدت ۵ دقیقه توسط متانول فیکس و خشک شدند. سپس به روش وبر رنگ‌آمیزی و با عدسی روغنی بررسی شدند(۳۲).

یافته ها

به‌طور کلی کوکسیدیاهای پاتوژن روده‌ای و میکروسپوریدیاها امروزه به عنوان یکی از عوامل عفونت‌زای فرصت‌طلب هستند و به میزان بسیار کم در افراد با ایمنی سالم مطرح می‌باشند(۳۳). آزمایش نمونه‌های مدفوع به وسیله میکروسکوپ نوری روش استانداردی برای تشخیص این میکرو ارگانیسم‌ها می‌باشند.

در این بررسی از مجموع ۱۸۲۵ نمونهٔ مدفوع بررسی شده با روش مشاهدهٔ مستقیم، هیچ موردی از آلودگی به کوکسیدیاهای روده‌ای و میکروسپوریدیوم تشخیص داده نشد. طی مرحلهٔ تغلیظ ۱۸ مورد مثبت تشخیص داده شد که ۱۵ مورد آن (۸۳ درصد کل موارد مثبت) کریپتوسپوریدیوم و ۳ مورد (۱۷ درصد موارد مثبت) میکروسپوریدیوم بودند. پس از رنگ‌آمیزی نمونه‌ها برای تشخیص کریپتوسپوریدیوم تنها در سه نمونه از ۱۵ نمونه‌ای که با روش تغلیظ آلوده به کریپتوسپوریدیوم تشخیص داده شدند وجود انگل تأیید گردید. دو مورد از این موارد مثبت مذکر و یک مورد مؤنث بودند که همگی در گروه سنی زیر ۵ سال قرار داشتند. در ایران گزارشات متعددی مبنی بر وجود کریبتوسبوریدیوم در دام و انسان وجود دارد(۳۶-۳۴). در بررسی که در استان مازندران بر روی ۱۴۲ نمونهٔ مدفوع با روش‌های گسترش مرطوب، تغلیظ و ذیل نلسون اصلاح شده انجام گردید در ۹/۴ درصد افراد +HIV و ۲/۵ درصد افراد -HIV ، انگل کریپتوسپوریدیوم مشاهده گردید. هیچ موردی از میکروسپوریدیا و یا سیکلوسپورا در مطالعهٔ مذکور گزارش نشد(۳۷). در بررسی دیگر، نمونهٔ مدفوع ۳۶۲ کودک دچار معلولیت ذهنی با روش‌های مذکور آزمایش گردید که هیچ موردی از کریپتوسپوریدیوم مشاهده نشد(۳۸). با بررسی که بر روی نمونهٔ مدفوع ۶۱۶ کودک کمتر از ۳ سال روستایی و شهری با یا بدون اسهال در کرمانشاه انجام شد در ۱۰/۴ درصد موارد کریپتوسپوریدیوم مشاهده گردید و شیوع این انگل بین کودکان روستایی حدود دو برابر کودکان شهری و در کودکان دارای اسهال حدود سه برابر موارد بدون اسهال گزارش گردید(۳۹). نتایج متفاوتی از مطالات انجام شده در کشور در زمینهٔ فراوانی کریپتوسپوریدیوم

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

گزارش شده است که البته جمعیت هدف در اغلب موارد گروه سنی کودکان بودند. فراوانی بسیار کمتر کریپتوسپوریدیوم و میکروسپوریدیوم در بررسی حاضر می‌تواند به این دلیل باشد که جمعیت هدف در مطالعهٔ حاضر به‌طور اختصاصی افراد دچار نقص سیستم ایمنی و یا HIV+ نبودند. چنین وضعیتی در مطالعات انجام شده در ایران و سایر کشورها نیز مشاهده می‌شود(۴۲-۴۰).

کروموتروپ 2R از جمله روش‌های رایج هر چند طولانی، برای تشخیص میکروسکوپی میکروسپوریدیازیس روده‌ای است که به روش گیمسا ترجیح داده می‌شود (۴۴،۴۳). در بررسی حاضر نیز از روش رنگ‌آمیزی تری‌کروم اصلاح شده برای تشخیص میکروسپوریدیوم استفاده شد. البته تفکیک گونه‌های میکروسپوریدیوم از یکدیگر با این روش امکان‌پذیر نیست و باید از روش‌های مولکولی استفاده کرد(۳۱) که این مقاصد جزء اهداف این مطالعه نبودند. با استفاده از روش‌های مولکولی، انتروسایتوزون بینوزی و انسفالیتوزون اینتستینالیس، به عنوان عوامل میکروسپوریدیوزیس گوارشی شناخته شده‌اند(۴۵).

تنها یک نمونه غیر اسهالی از مجموع ۱۸۲۵ گسترش مدفوع رنگ‌آمیزی شده به روش تری‌کروم اصلاح شده متعلق به یک دختر ۹ ساله حاوی میکروسپوریدیوم تشخیص داده شد که البته جزو سه نمونهٔ مثبت تشخیص داده شده به روش تغلیظ نبود.

اولین مورد سیکلوسپوریازیس در ایران در سال ۱۳۷۵ در یک بیمار مبتلا به ایدز گزارش گردید و دومین مورد نیز در یک بیمار مبتلا به اسهال به روش مشاهدهٔ گسترش مرطوب، رنگ‌آمیزی و کشت مدفوع در محیط دی کرومات پتاسیم گزارش شد که در هیچ‌کدام از این موارد تشخیص انگل با روش مولکولی تأیید نگردید(۴۶). در مطالعهٔ دیگر در کشورمان ۴۲۰ نمونهٔ مدفوع کودکان مبتلا به اسهال در مدت سه سال با روش‌های مشاهدهٔ گسترش مرطوب و رنگ‌آمیزی از نظر وجود انگل سیکلوسپورا بررسی شد که هیچ موردی از این انگل شناسایی نگردید(۴۷). در بررسی حاضر نیز همچون بسیاری از مطالعات انجام شده هیچ موردی از سیکلوسپورا دیده نشد و در این زمینه فراوانی میکروسپوریدیوم و سیکلوسپورا در جامعه (نه در گروه‌های جمعیتی خاص همچون HIV+ و یا دریافت‌کنندگان عضو پیوندی با ایمنی سرکوب شده) بسیار ناچیز و در حد صفر مشاهده گردید(۳۳، ۴۲-۴۰) که البته با توجه به ماهیت این عوامل عفونی این دستاورد قابل پیش بینی بود. با توجه به زئونوز بودن کریپتوسپوریدیوم، فراوانی ۰/۱۶ درصدی این انگل در مراجعه کنندگان به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی مبین ضرورت توجه بیش از پیش به مقوله‌هایی همچون بهداشت آب و مواد غذایی، آموزش بهداشت عمومی و کنترل عفونت در دام است.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری تبریز انجام شده است.

References

1. Dawson D. Food borne protozoan parasites. Int J Food Microbiol 2005; 103(2): 207-227.
2. Mosier DA, Oberst RD. Cryptosporidiosis a global challenge. Ann N Y Acad Sci 2000; 916: 102-111.
3. Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. Clin Microbiol Rev 1991; 4(3): 325-358.
4. Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. Microbes Infect 2002; 4(10): 1047-1058.
5. Fayer R. Cryptosporidium: A water-born zoonotic parasite. Vet Parasitol 2004; 126(1-2): 37-56.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

6. Griffiths JK. Human cryptosporidiosis: epidemiology, transmission, clinical disease, treatment, and diagnosis. Adv Parasitol 1998; 40: 37-85.
7. Flanigan TP, Whalen C, Turner J, Soave R, Toerner J, Havlir D, et al. Cryptosporidium infection and CD4 counts. Ann Intern Med 1992; 116(10): 840-842.
8. Berenji F, Zabolinezhad N, HRiradfar S, Kianifar HR, Badii Z, Banihashem SAA. Cryptosporidum infection in pediatric patients with lymphohematopoietic mphohematopoietic malignancies. Iranian J Pediat 2007; 17(3): 247-251.
9. Coupe S, Sarfati C, Hamane S, Derouin F. Detection of Cryptosporidium and Identification to the Species Level by Nested PCR and Restriction Fragment Length Polymorphism. J Clin Microbiol 2005; 43(3): 1017-1023.
10. Balatbat AB, Jordan GW, Tang YJ, Silva JR. Detection of Cryptosporidium parvum DNA in Human Feces by Nested PCR. J Clin Microbiol 1996; 34(7): 1769-1772.
11. Llorente MT, Clavel A, Goñi MP, Varea M, Seral C, Becerril R, et al. Genetic characterization of Cryptosporidium species from humans in Spain. Parasitol Int 2007; 56(3): 201-205.
12. Arauho AJ, Kanamura HY, Almeida ME, Gomes AH, Pinto TH, DA Silva AJ. Genotypic Identification of Cryptosporidium SPP. Isolated from HIV-infected patients and Immunocompetent children of SÃO Paulo, Brazil. Rev Inst Med Trop S Paulo 2008; 50(3): 139-143.
13. Joan M. Shields and Betty H. Olson. PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Method for Detection of Cyclospora cayetanensis in Environmental Waters without Microscopic Confirmation. Appl Environ Microbiol 2003; 69(8): 4662-4669.
14. Gharagozlou M. A review of Cryptosporodiose and its laboratory diagnoses. Journal of Veterinary 1997; 52(1): 1-12 (Persian).
15. Franzen C, Müller A. Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis ofmicrosporidia. Clin Microbiol Rev 1999; 12(2): 243-285.
16. Dowd SE, Gerba CP, Pepper IL. Confirmation of the human-pathogenic microsporidia Enterocytozoon bieneusi, Encephalitozoon intestinalis, and Vittaforma corneae in water. Appl Environ Microbiol 1998; 64(9): 3332-3335.
17. Chu P, West AB. Encephalitozoon (Septata) intestinalis. Cytologic, histologic, and electron microscopic features of a systemic intestinal pathogen. Am J Clin Pathol 1996; 106(5): 606-614.
18. Franzen C, Muller A. Microsporidiosis: human diseases and diagnosis. Microbes Infect 2001; 3(5): 389-400.
19. Rabeneck L, Gyorkey F, Genta RM, Gyorkey P, Foote LW, Risser JM. The role of Microsporidia in the pathogenesis of HIV-related chronic diarrhea. Ann Intern Med 1993; 119: 895-899.
20. Field AS, Hing MC, Milliken ST, Marriott DJ. Microsporidia in the small intestine of HIV-infected patients. A new diagnostic technique and a new species. Med J Aust 1993; 158(6): 390-394.
21. van Gool T, Hollister WS, Schattenkerk WE, Van den Bergh Weerman MA, Terpstra WJ, van Ketel RJ, et al. Diagnosis of Enterocytozoon bieneusi microsporidiosis in AIDS patients by recovery of spores from faeces. Lancet 1990; 336(8716): 697-698.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

22. Samie A, Obi CL, Tzipori S, Weiss LM, Guerrant RL. Microsporidiosis in South Africa: PCR detection in stool samples of HIV positive and HIV-negative individuals and school children in Vhembe district, Limpopo Province. Trans R Soc Trop Med Hyg 2007; 101(Issue 6): 547-554.
23. Connor BA, Reidy J, Soave R. Cyclosporiasis: clinical and histopathologic correlates. Clin Infect Dis 1999; 28(6): 1216-1222.
24. Herwaldt BL. Cyclospora cayetanensis: a review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. Clin Infect Dis 2000; 31(4): 1040-1057.
25. Sturbaum GD, Ortega YR, Gilman RH, Sterling CR, Cabrera L, Klein DA. Detection of Cyclospora cayetanensis in wastewater. Appl Environ Microbiol 1998; 64(6): 2284-2286.
26. Bern C, Hernandez B, Lopez MB, Arrowood MJ, de Mejia MA, de Merida AM, et al. Epidemiologic studies of Cyclospora cayetanensis in Guatemala. Emerg Infect Dis 1999; 5(6): 766-774.
27. Ortega YR, Roxas CR, Gilman RH, Miller NJ, Cabrera L, Taquiri C, et al. Isolation of Cryptosporidium parvum and Cyclospora cayetanensis from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. Am J Trop Hyg 1997; 57(6):683-686.
28. Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP, Engelstoft C, Schwantje H, Ribble CS. Potential contamination of drinking water with Toxoplasma gondii oocysts. Epidemiol Infec 1999; 122(2): 305-315.
29. Mundaca CC, Torres-Slimming PA, Araujo-Castillo RV, Morán M, Bacon DJ, Ortega Y, et al. Use of PCR to improve diagnostic yield in an outbreak of cyclosporiasis in Lima, Peru. Trans R Soc Trop Med Hyg 2008; 102(7): 712-717.
30. Edrisian GH, Rezaeian M, Ghorbani M, Keshavarz H, Mohebali M. Medical Protozoology. 1st ed. Tehran: Tehran University of Medical Sciences; 2007. p 175-176 (Persian).
31. Fotouhi Ardakani R, Fasihi Harandi M, Soleyman Banai S, Kamyabi H, Atapour M, Sharifi I. Epidemiology of Cryptosporidium Infection of Cattle in Kerman/Iran and Molecular Genotyping of some Isolates. J Kerman Univ Med Sci 2008; 15(4): 313-320.
32. Abreu-Acosta N, Lorenzo-Morales J, Leal-Guio Y, Coronado-Alvarez N, Foronda P, Alcoba-Florez J, et al. Enterocytozoon bieneusi (microsporidia) in clinical samples from immunocompetent individuals in Tenerife, Canary Islands, Spain. Trans R Soc Trop Med Hyg 2005; 99(11): 848-855.
33. Zali J, Jafari Mehr A, Rezaian M, Meamar AR, Vaziri S, Mohraz M. Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV-Positive Individuals in Iran. JPn J Infect Dis 2004; 57(6): 268-270.
34. Nouri M, Mahdavi Rad S. Effect of nomadic shepherds and their sheep on the incidence of cryptosporidiosis in an adjacent town. J Infect 1993; 26(1): 105-106.
35. Fasihi Harandi M, Fotouhi Ardakani R. Cryptosporidium infection of farm animals: first identification of Cryptosporidium andersoni and Cryptosporidium parvum in Iran. 11th International Congress of Parasitology; 2006 Aug 6-11, Glasgow, Scotland.
36. Meamar AR, Guyot K, Certad G, Dei-Cas E, Mohraz M, Mohebali M, et al. Molecular characterization of Cryptosporidium isolates from humans and animals in Iran. Appl Environ Microbiol 2007; 73(3): 1033-1035.
37. Daryani A, Sharif M, Meigouni M, Mahmoudi FB, Rafiei A, Gholami Sh, et al. Prevalence

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 10:18 +0330 on Sunday September 24th 2017

of intestinal parasites and profile of CD4+ counts in HIV+/AIDS people in north of Iran, 2007-2008. Pak J Biol Sci 2009; 12(18): 1277-1281.

38. Sharif M, Daryani A, Asgarian F, Nasrolahei M. Intestinal parasitic infections among intellectual disability children in rehabilitation centers of northern Iran. Res Dev Disabil 2010; 31(4): 924-928.
39. Moghaddam AA. Symptomatic and asymptomatic cryptosporidiosis in young children in Iran. Infect Dev Ctries 2010; 4(5): 309-317.
40. Idris NS, Dwipoerwantoro PG, Kurniawan A, Said M. Intestinal parasitic infection of immunocompromised children with diarrhoea: clinical profile and therapeutic response. Pak J Biol Sci 2007; 10(7): 1108-1112.
41. Gassama A, Thiaw B, Dia NM, Fall F, Camara P, Hovette P, et al. Infective etiology of diarrhea in adults with HIV infection in Dakar: a case-control study on 594 patients. Dakar Med 2001; 46(1): 46-50 (French).
42. Al-Megrin WAI. Intestinal Parasites among Immunocompromised Patients in Riyadh, Saudi Arabia. Pak J Biol Sci 2010; 13(8): 390-394.
43. Muller A, Bialek R, Kamper A, Fatkenheuer G, Salzberger B, Franzen C. Detection of Microsporidia in Travelers with Diarrhea. J Clin Microbiol 2001; 39(4): 1630-1632.
44. Katzwinkel-Wladarsch S, Deplazes R, Weber R, Loscher T, Rinder H. Comparison of Polymerase Chain Reaction with Light Microscopy for Detection of Microsporidia in Clinical Specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16(1): 7-10.
45. Orenstein JM, Benator D, Kotler DP. Microsporidia and HIV-related diarrhea. Ann Intern Med 1994; 120: 973-974.
46. Rezaeian M, Houshyar H. A case report of human infection with Cyclospora cayetanensis. Hakim 2000; 3(1): 39-44.
47. Nikmanesh B, Ourmazdi H, Akhlaghi C, Haghi C, Ashtiani MT, Ghalavand Z. An investigation in to Cyclospora infection in children with diarrhea referred to Tehran Children Medical Centre, 2002-2003. J Iran Univ Med Sci 2006; 12(49): 165-171.