Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017

ORIGINAL ARTICLE

Genotyping of Giardia Duodenalis by β-giardin Gene in Asymptomatic Patients

Leyla Nasiri Goorabi[1],
Majid Pirestani[2],
Javid Sadraei[3]

[1] MSc in Medical Parasitology, Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3] Associate Professor, Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received February 20, 2016 Accepted May 8, 2017)

Abstract

Background and purpose: Giardiasis is a major diarrheal disease and the major symptoms include diarrhea, bloating, abdominal cramps, weight loss, and abdominal pain. In developing countries, some patients can carry giardia parasites without experiencing any symptoms and some genotypes are believed to be responsible for that. The aim of this study was the genotyping of giardia duodenalis in asymptomatic patients.

Materials and methods: A total of 320 stool samples was collected from people attending Baharestan health centers in Tehran, Iran and investigated for giardia cyst by microscopic method. Positive samples were stored in Potassium dichromate 2.5% and 4ºC. DNA extraction was performed using CTAB method and genotyping was carried out by PCR-RFLP on β-giardin gene.

Results: Among the samples, 25 were positive (7.8%). All patients suffering from giardiasis were asymptomatic and the appearance and color of samples were normal and brown, respectively. Four samples were found in women (16%) and 21 in men (84%). The results of RFLP on these samples revealed that 16 samples (64%) had infections with assemblage A and 9 samples (36%) were assemblage B. The phylogenetic tree revealed sub-assemblage AII, BIII, and BIV to be present in Baharestan.

Conclusion: The most common genotype of Giardia duodenalis is assemblage A in asymptomatic people in Baharestan, Iran. Identification of AII, BIII, and BIV genotypes in this area indicates the possibility of anthroponotic and anthropozoonotic transmission cycles.

Keywords: giardia, genotype, β-giardin, Baharestan

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (150):27-34 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره 150 تیر سال 1396 (34-27)

بررسی ژنوتیپ های ژیاردیا دئودنالیس در بیماران بدون علامت با استفاده از ژن بتاژیاردین

لیلا نصیری گورابی[1]
مجید پیرستانی[2]
جاوید صدرایی[3]

چکیده

سابقه و هدف: ژیاردیازیس یک بیماری کلینیکی خود محدود شونده را ایجاد می‌کند که علائم مشخصه آن اسهال، کرامپ‌های شکمی، نفخ، کاهش وزن و سوء جذب مواد می‌باشد. مواردی از ژیاردیازیس بدون علائم بالینی در کشورهای در حال توسعه گزارش شده است که برخی از ژنوتیپ‌ها در ایجاد آن دخیل هستند. هدف از این مطالعه بررسی ژنوتیپ تک یاخته ژیاردیا در بیماران فاقد علامت مبتلا به ژیاردیازیس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد 320 نمونه مدفوع از مراجعه‌کنندگان به مراکز بهداشتی شهرستان بهارستان (استان تهران) جمع‌آوری و با روش میکروسکوپی از نظر کیست ژیاردیا مورد بررسی قرار گرفت. نمونه های مثبت در دی کرومات پتاسیم 2/5 درصد در یخچال نگهداری و با استفاده از روش CTAB تخلیص DNA انجام گرفت. تعیین ژنوتیپ انگل‌های ژیاردیا به روش PCR–RFLP بر روی ژن بتاژیاردین انجام گرفت.

یافته‌ها: از 320 نمونه مورد بررسی، 25 نمونه از لحاظ کیست ژیاردیا مثبت بود (7/8 درصد). کلیه بیماران مبتلا به ژیاردیازیس فاقد علامت بوده و ظاهر و رنگ نمونه‌ها نیز دارای قوام و قهوه‌ای بود. 4 نمونه مربوط به زنان (16 درصد) و21 نمونه مربوط به آقایان (84 درصد) بود. پس از تکثیر بخشی از ژن بتا ژیاردین و هضم با آنزیم HaeIII، به ترتیب 16 نمونه (64 درصد) مربوط به مجموعهA و 9 نمونه (36 درصد) مربوط به مجموعهB شناسایی شد. پس از تعیین توالی مشخص شد که ژنوتیپ‌های AII، BIII و BIV در شهرستان بهارستان شایع می‌باشند.

استنتاج: شایع‌ترین ژنوتیپ آلوده کننده ژیاردیا دئودنالیس در افراد فاقد علامت شهرستان بهارستان، مجموعه A می‌باشد. با توجه به شناسایی ژنوتیپ‌های AII، BIII و BIV در این منطقه احتمال وجود چرخه‌های انتقال آنتروپونوتیک و آنتروپوزئونوتیک وجود دارد.

واژه های کلیدی: ژیاردیا، ژنوتیپ ، بتاژیاردین، بهارستان

مقدمه

ژیاردیا دئودنالیس (مترادف: ژیاردیا لامبلیا، ژیاردیا اینتستینالیس) تک‌یاخته انگلی است که طیف وسیعی از مهره‌داران ازجمله انسان، حیوانات خانگی، اهلی، وحشی و دریایی را آلوده می‌کند. ژیاردیا دارای شیوع جهانی بوده، و یکی از شایع‌ترین انگل‌های مسبب اسهال در انسان می‌باشد که عفونت ناشی از آن فاقد علامت

مولف مسئول: مجید پیرستانی - تهران: تقاطع بزرگراه جلال آل احمد و چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی Email: pirestani@modares.ac.ir
1. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
2. استادیار، گروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
3. دانشیار، گروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1395/11/13 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1395/11/20 تاریخ تصویب : 1396/2/18

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017

یا علامت‌دار بوده است. که به صورت بیماری مزمن و یا حاد نمایان می‌شود(1،2). ژیاردیازیس یکی از نگرانی‌های عمده سلامت در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه محسوب می‌شود(3، 4). براساس پیش بینی‌ها، در حدود 200 میلیون نفر در سراسر جهان دارای علائم ژیاردیازیس روده ای بوده و سالانه 500 هزار مورد جدید گزارش می‌شود(5). فقر اقتصادی هم به‌طور مستقیم و غیر مستقیم عاملی در گسترش این عفونت انگلی محسوب می شود. کودکان، پرخطرترین قشر به ویژه در کشورهای در حال توسعه و جوامع مناطق محروم می باشند(6). بر اساس اهمیت بهداشتی این انگل به ویژه در میان کودکان کشور های در حال توسعه، با ابتکار سازمان بهداشت جهانی از سال 2004 ژیاردیا در زمره بیماری های فراموش شده قرار گرفت(7).

ژیاردیا دئودنالیس دارای 8 ژنوتیپ یا مجموعه-A) (Hمی‌باشد که از لحاظ ژنتیک متفاوت بوده ولیکن از لحاظ ریخت شناسی کاملا به یکدیگر شبیه هستند. مجموعه‌های A و B قادر به آلوده نمودن انسان و سایر پستانداران بوده درحالی که مجموعه های C تا H اختصاصیت میزبانی دارند(8). از سال 1979 سازمان بهداشت جهانی، ژیاردیازیس را به عنوان یک عفونت زئونوز احتمالی طبقه‌بندی نمود.

در مطالعات اخیر، تنوع ژنتیکی و پراکندگی جغرافیایی ژیاردیا دئودنالیس با منشاء انسانی و حیوانی و بالقوه برای انتقال زئونوز توسط روش‌های ژنوتایپینگ مولکولی مختلف ارزیابی شده است. راه‌های انتقال ژیاردیا دئودنالیس (زئونوتیک یا آنتروپونوتیک) و منابع بالقوه آلودگی با تشخیص ژنوتیپ‌های آلوده کننده در یک منطقه جغرافیایی امکان پذیر می‌باشد. جهت مشخص شدن پتانسیل زئونوتیک، اختلاف ژنتیکی و راه‌های انتقال، (Multilocus Genotyping (MLG، به عنوان روشی استاندارد در همه‌گیر شناسی مولکولی ایزوله‌های ژیاردیا، همراه با داده‌های اپیدمیولوژیکی مطرح می‌باشد. در بررسی‌های مولکولی از ژن‌های بتاژیاردین، گلوتامات دهیدروژناز و تریوز فسفات ایزومراز به منظور تعیین ژنوتیپ به‌صورت انفرادی یا ترکیبی استفاده می‌شود(9). از آن‌جایی که مطالعات مولکولی هزینه‌بر بوده، و استفاده همزمان سه ژن در تعیین ژنوتیپ ژیاردیا زمان بر است لذا استفاده از یک ژن با توانایی شناسایی تمامی ژنوتیپ‌های ژیاردیا مقرون به صرفه می‌باشد. هتروژنیسیتی موجود در توالی لوکوس ژنی بتاژیاردین، در ردیابی منبع عفونت بسیار مفید بوده است. به ویژه اگر ژیاردیا دارای یک ساختار جمعیتی کلونال باشد (به طور مثال در شرایط شیوع بیماری)(10، 11). نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ براساس آنالیز توالی یک لوکوس ژنی با هتروژنیسیتی بسیار بالا نظیر بتاژیاردین و یا تریوز فسفات ایزومراز، نتایج مشابهی همانند مطالعات MLGبه‌دست می‌آید(12). در بحث همه‌گیرشناسی افراد فاقد علامت نقش به‌سزایی در انتقال مستقیم و غیر مستقیم ژیاردیا داشته‌اند. و در برخی از مطالعات ارتباط بین علائم بالینی و ژنوتیپ آلوده‌کننده مشاهده شده است(13). از این رو به دلیل اهمیت ناقلین بدون علامت و شناسایی ژنوتیپ‌های آلوده‌کننده در آن‌ها، در این مطالعه ژنوتیپ‌های ژیاردیا دئودنالیس در افراد بدون علامت با استفاده از ژن بتاژیاردین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع توصیفی- مقطعی می‌باشد. جامعه مورد مطالعه از مراجعه‌کنندگان به مراکز بهداشتی جهت دریافت کارت بهداشت در شهرستان بهارستان (جنوب غربی استان تهران) بودند. نمونه‌گیری از دی ماه 1394 الی اردیبهشت 1395 از مراکز بهداشتی شهرستان دارای آزمایشگاه انجام گرفت. تمامی افراد مراجعه کننده بالای 25 سال بودند که فقط افراد بدون علامت انتخاب شدند. دراین مطالعه تعداد 320 نمونه مدفوع با روش میکروسکوپی از نظر کیست ژیاردیا مورد بررسی قرار گرفته شده‌اند. و نمونه های مثبت در محلول دی کرومات پتاسیم 2/5 درصد در 4 درجه سانتی گراد

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017

نگهداری شدند. جهت بررسی مولکولی پس از شستشوی نمونه های مثبت با نرمال سالین با استفاده از روش CTAB استخراج DNA صورت گرفت(14). واکنش زنجیره پلیمراز در این مطالعه از نوع nested-PCR به منظور افزایش دقت در تعیین ژنوتیپ ایزوله‌های انسانی ژیاردیا دئودنالیس بوده است. پرایمرهای اختصاصی ژن بتاژیاردین قابلیت تکثیر قطعه 510 bp ~ را داشتند. لیست پرایمر های مورد استفاده در جدول 1 آمده است.

جدول شماره 1: فهرست پرایمر های مورد استفاده در این مطالعه

منبع	طول قطعه تکثیری (bp)	نام و توالی پرایمر	
(15)	~750	G7: 5'-AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC- 3'	PCR1
		G759: 5'-AGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC-3'	
	~510	F2: 5'-GAACGAACGAGATCGAGGTCCG-3'	PCR2
		R2: 5'-CTCGACGAGCTTCGTGTT-3'	

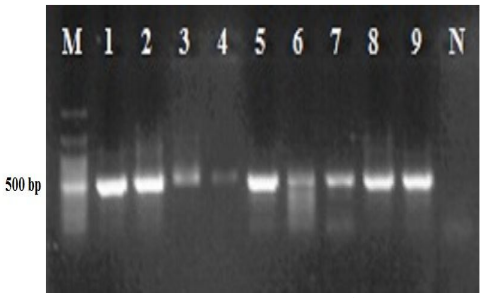
واکنش PCR اولیه در حجم نهایی 15 میکرو لیتر شامل 5/5 میکرو لیتر (100-50 نانو گرم) از DNA انگل، 7/5 میکرو لیتر مسترمیکس شرکت Ampliqon(150301 A)، 1 میکرو لیتر از هر یک از پرایمرهای G7 و G759 با غلظت 10 پیکو مول انجام شد. حجم واکنش PCR ثانویه همانند PCR اولیه بود و در این مرحله از پرایمرهای F2 و R2 استفاده شد. در این مرحله از محصول PCR اولیه به عنوان DNA الگو استفاده شد. شرایط چرخه حرارتی جهت انجام PCR اولیه بدین شرح بود: واسرشت اولیه در دمای 95 °C به مدت 5 دقیقه، 35 چرخه با دمای واسرشت 95 °C به مدت 30 ثانیه، دمای اتصال 52/5 °C به مدت 30 ثانیه، دمای تکثیر 72 °C به مدت 30 ثانیه و در نهایت 72 °C به مدت 10 دقیقه. شرایط چرخه حرارتی در PCR ثانویه به استثنای دمای اتصال همانند مرحله اول بود. دمای اتصال در PCR ثانویه 55 °C بود. در این مطالعه از نمونه انگل ژیاردیای موجود در گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس به عنوان کنترل مثبت و آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در خاتمه محصول PCR برروی ژل آگارز 1 درصد رنگ‌آمیزی شده با safe DNA stain الکتروفورز گردید.

آنالیز RFLP با هضم 5 میکرولیتر از محصول PCR ثانویه با استفاده از 10 واحد از آنزیم HaeIII (Thermo Scientific) در 2 میکرو لیتر از بافر X10 و حجم نهایی 20 میکرولیتر به مدت 2 ساعت در 37° C، به‌منظور تعیین ژنوتیپ A و B ژیاردیا دئودنالیس انجام شد. سپس جهت بررسی الگوهای حاصل از RFLP، محصول واکنش بر روی ژل 3/5 % الکتروفورز گردید. در نهایت به منظور تایید نهایی ژنوتیپ‌های شناسایی شده 4 ایزوله 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 Maximum Likelihood و 1000 تکرار درخت فیلوژنی ترسیم شد. در رسم درخت فیلوژنی از ژیاردیا موریس به عنوان گروه خارجی استفاده شد.

یافته ها

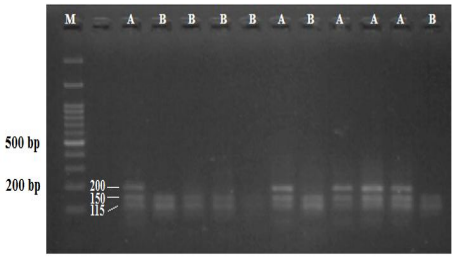
در این تحقیق از تعداد 320 نمونه مدفوع افراد مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی که با روش میکروسکوپی و گسترش مرطوب مورد ارزیابی قرار گرفتند، تعداد 25 نمونه (7/8 درصد) از نظر کیست ژیاردیا مثبت بودند. از 25 نمونه، 4 نمونه مربوط به بانوان (16 درصد) و 21 نمونه مربوط به آقایان (84 درصد) بود که محدوده سنی آن‌ها بین 60-25 سال متغیر بود. هیچ‌یک از این افراد علامت گوارشی خاصی نداشته و سابقه ای از اسهال نداشتند. ظاهر و رنگ نمونه ها طبیعی و قوام دار بود. پس از استخراج DNA نمونه های مثبت، در آزمایشات مولکولی با استفاده از ژن بتاژیاردین، PCR بر روی تمامی نمونه‌ها انجام شد و محصول PCR با باند 510bp~ مشاهده شد (تصویر شماره 1).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017



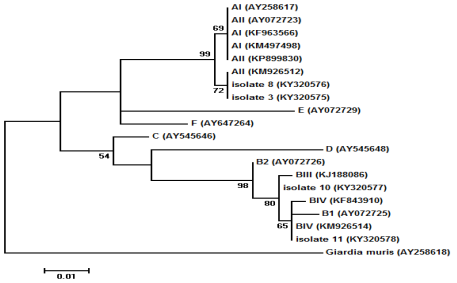
تصویر شماره 1: الکتروفورز محصولPCR ژن بتاژیاردین برخی از ایزوله‌های ژیاردیا دئودنالیس بر روی ژل آگارز 1 درصد

نتایج RFLP نشان داد که در بین مبتلایان شیوع ژنوتیپ A ژیاردیا (64 درصد) در مقایسه با ژنوتیپ B (36 درصد) بیشتر می‌باشد (تصویر شماره 2).



تصویر شماره 2: تاثیر آنزیم HaeIII بر روی محصولPCR ژن بتاژیاردین بر روی ژل آگارز 3/5 درصد. حرف A نشان‌دهنده ژنوتیپ A و حرف B نشان دهنده ژنوتیپ B می باشد. (باند های قابل مشاهده در ژنوتیپ A: 200 ، 150 و 115 جفت باز. باندهای قابل مشاهده در ژنوتیپ B: 150، 115 و 85 جفت باز)

با استفاده از توالی‌های مربوط به 4 ایزوله ارسالی و بلاست نمودن هر یک از داده‌ها، مشخص شد که توالی‌ها دارای 100 درصد همولوژی با موارد ثبت شده ژیاردیا دئودنالیس در بانک ژنی هستند (جدول شماره 2). 4 توالی مورد نظر با شماره دستیابی 78-KY320575 در بانک ژن ثبت شدند. با استفاده از نرم‌افزار MEGA نسخه 7 و توالی ژنوتیپ‌های مختلف ثبت شده در بانک ژن درخت فیلوژنی رسم گردید (تصویر شماره 3). درخت فیلوژنی رسم شده نشان می‌دهد که دو ایزوله در شاخه مربوط به ژنوتیپ AII یک ایزوله در شاخه BIII و یک ایزوله در شاخه BIV قرار می گیرند.



تصویر شماره 3:درخت فیلوژنی ژنوتیپ‌های شناخته شده ژیاردیا دئودنالیس و ایزوله های شناسایی شده بر اساس ژن BG با استفاده از الگوریتم Maximum Likelihood، مدل Tamura 3-parameter و 1000 تکرار

جدول شماره2: مقایسه نتایج تعیین توالی ایزوله‌های شهرستان بهارستان با نمونه های موجود در بانک ژنی

ایزوله	شماره دستیابی ژن	درصد شباهت به ایزوله های ثبت شده	ژنوتیپ شناسایی شده
3	KY320575	(100) FJ472824	AII
8	KY320576	(100) AY072724	AII
10	KY320577	(100) KU504732	BIII
11	KY320578	(100) JF918489	BIV

بحث

تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی شیوع عفونت ژیاردیا در منطقه بهارستان تهران صورت نگرفته ولیکن در مطالعات گذشته در شهر تهران شیوع عفونت بین 7/5 الی 25/8 درصد گزارش شده است(16، 17). در این مطالعه میزان شیوع در افراد بزرگسال 7/8 درصد بود که این میزان در مقایسه با 25/8 درصد گزارش شده توسط آرانی و همکاران در سال 2005 از منطقه جنوب تهران، کاهش چشمگیری داشته که احتمالاً ناشی از افزایش آگاهی مردم نسبت به بهداشت فردی و اجتماعی می‌باشد. جهت شناسایی و تعیین ژنوتیپ‌های مختلف ژیاردیا در نمونه های مدفوع، روش های مولکولی بر اساس PCR به طور چشمگیری افزایش یافته است. از ژن‌های مختلفی جهت تعیین ژنوتیپ ژیاردیا در نمونه‌های بالینی و محیطی به خصوص آب استفاده

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017

می‌شود که می‌توان به ژن‌های بتاژیاردین، گلوتامات دهیدروژناز و تریوز فسفات ایزومراز اشاره نمود. مطالعات مولکولی مختلفی در ایران صورت گرفته که از ژن‌های GDHو TPI در آن ها استفاده شده و از ژن بتاژیاردین جهت تعیین ژنوتیپ ژیاردیا دئودنالیس استفاده نشده است. با توجه به هتروژنیسیتی موجود در توالی ژن بتا ژیاردین، این ژن کاندید مناسبی برای مطالعات همه گیر شناسی مولکولی بوده و می توان تمامی مجموعه های شناسایی شده از این انگل را از یکدیگر تفکیک نمود. نتایج RFLP با استفاده از آنزیم HaeIIIنشان داد که ژنوتیپ A نسبت به ژنوتیپ B از شیوع بالاتری برخوردار بوده که با نتایج اعتمادی و همکاران در کرمان ، رایانی و همکاران در شیراز ، اکبریان و همکاران در خرم‌آباد، سرکاری و همکاران در استان فارس ، پسته چیان و همکاران در اصفهان ، بابایی و همکاران در تهران و نهاوندی و همکاران در آذربایجان شرقی مطابقت دارد(24- 18). در مورد ارتباط بین ژنوتیپ و علائم بیماری گزارش های ضد و نقیضی وجود دارد. در مطالعه ای در اتیوپی ارتباط قوی بین ژنوتیپ B و عفونت بدون نشانه مشاهده شده است(25).

در مطالعه‌ای هاکیو و همکاران در بنگلادش مشخص شد که اگر چه ژنوتیپ B شایع‌تر است، اما در ایجاد اسهال نقشی نداشته، و ژنوتیپ A باعث ایجاد اسهال‌های پیش رونده می‌شود(26). با وجود تنوع ژنتیک یافت شده در مطالعه حاضر هیچ یک از افراد، علائم گوارشی نظیر اسهال نداشته که در تضاد با نتایج برخی از محققان ایرانی است. رحیمیان و همکاران در شهرستان کرج ارتباط مستقیمی بین نمونه‌های اسهالی و ژنوتیپ A گزارش کردند(27).در مطالعه اعتمادی و همکاران بین ژنوتیپ A و اسهال ملایم و ژنوتیپ B و اسهال پایدار رابطه معنی‌داری وجود داشت(18). در مطالعه منوچهری و همکاران همبستگی آماری بین عفونت‌های بدون علامت و ژنوتیپ B و اسهال و ژنوتیپ A مشاهده شد(28). به هر حال، فاکتورهای مربوط به میزبان نیز در ایجاد بیماری نقش داشته و برای درک بهتر نقش ژنوتیپ‌های مختلف در ایجاد علائم بالینی به مطالعات گسترده تری نیاز می‌باشد. پس از تعیین توالی، هم ترازی آن ها با توالی های ثبت شده در بانک ژن و ترسیم درخت فیلوژنی حضور ژنوتیپ‌های AII، BIIIو BIV در این منطقه به اثبات می رسد. در سال‌های گذشته اعتقاد بر این بود که ژنوتیپ AII تنها از میزبان انسانی یافت شده بنابراین انتقال آنتروپونوتیک را برای آن متصور بودند. با افزایش مطالعات بر روی میزبان های حیوانی مشخص شد که این ژنوتیپ در گاو، سگ، گربه، گوسفند و بز نیز آلوده کننده می‌باشد که حاکی از انتقال آنتروپوزئونوتیک آن دارد(29). از طرفی تنها میزبان ژنوتیپ BIV نیز انسان شناخته می‌شد که با استفاده از تکنیک های ایزو آنزیمی مشخص شد که در حیوانات وحشی نظیر خرس و موسکارت به کرات وجود داشته و به طور کلی ماهیت زئونوتیک ژنوتیپ‌های AII ، BIIIو BIV به اثبات رسید(30). لذا امکان انتقال عفونت ژیاردیا در این منطقه به صورت آنتروپونوتیک و آنتروپوزئونوتیک وجود دارد.

مطالعه حاضر نشان داد که در شهرستان بهارستان مجموعه A در افراد فاقد علامت از فراوانی بیش‌تری برخوردار بوده که بر خلاف سایر نقاط جهان می‌باشد که مجموعه B بیش‌ترین شیوع را دارد. یکی از پدیده‌های بارز جمعیتی در شهرستان بهارستان، تراکم بالای جمعیتی و مهاجرت است که می تواند منجر به تنوع ژنتیکی ژیاردیا دئودنالیس در این منطقه شود. با این وجود مطالعات جامع‌تری نیاز است تا رابطه دقیق بین علائم بیماری و مجموعه‌های شناسایی شده ژیاردیا در این شهرستان مشخص شود.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و همکاری مرکز

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017

بهداشت شهرستان بهارستان به انجام رسیده است. لذا بدین وسیله از همکاری‌های ارزنده آنان تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1. Lasek-Nesselquist E, Welch DM, Sogin ML. The identification of a new Giardia duodenalis assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of G. duodenalis population biology in marine systems. Int J Parasitol. 2010; 40(9): 1063-1074.
2. Thompson RA. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. Int J Parasitol. 2000; 30(12): 1259-1267.
3. Buret AG. Pathophysiology of enteric infections with Giardia duodenalis. Parasite. 2008; 15(3):261-265.
4. Bundy DA, Hall A, Medley GF, Savioli L. Evaluating measures to control intestinal parasitic infections. World health Stat Q. 1992; 45(2-3):168-179.
5. World Health Organization. The World Health Report 1996: fighting disease, fostering development. Genuva .W H O; 1996.
6. Crompton DW, Savioli L. Intestinal parasitic infections and urbanization. Bull World Health Organ. 1993; 71(1):1-7.
7. Savioli L, Smith H, Thompson A. Giardia and Cryptosporidium join the 'neglected diseases initiative'. Trends Parasitol. 2006; 22(5): 203-208.
8. Lebbad M, Petersson I, Karlsson L, Botero-Kleiven S, Andersson JO, Svenungsson B, etal. Multilocus genotyping of human Giardia isolates suggests limited zoonotic transmission and association between assemblage B and flatulence in children. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(8): e1262.
9. Monis PT, Caccio SM, Thompson RC. Variation in Giardia: towards a taxonomic revision of the genus. Trends Parasitol, 2009; 25(2): 93–100.
10. Tibayrenc M, Kjellberg F, Ayala FJ. A clonal theory of parasitic protozoa: the population structures of Entamoeba, Giardia, Leishmania, Naegleria, Plasmodium, Trichomonas, and Trypanosoma and their medical and taxonomical consequences. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1990; 87(7):2414-2418.
11. Meloni BP, Lymbery AJ, Thompson RC. Genetic characterization of isolates of Giardia duodenalis by enzyme electrophoresis: implications for reproductive biology, population structure, taxonomy, and epidemiology. J Parasitol. 1995 ; 81(3):368-383.
12. Sulaiman IM, Fayer R, Bern C, Gilman RH, Trout JM, Schantz PM, et al. Triosephosphate isomerase gene characterization and potential zoonotic transmission of Giardia duodenalis. Emerg Infect Diseases. 2003; 9(11): 1444-1452.
13. Cordón GP, Soldan OC, Vásquez FV, Soto JV, Bordes LS, Moreno MS, etal. Prevalence of enteroparasites and genotyping of Giardia lamblia in Peruvian children. Parasitol Res. 2008;103(2):459-465
14. Ali MA, Al-Herrawy AZ, El-Hawaary SE. Detection of enteric viruses, Giardia and Cryptosporidium in two different types of drinking water treatment facilities. Water Res. 2004; (18):3931-3939.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 17:53 +0330 on Tuesday September 26th 2017

15. Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, CrottiD, Cacciò SM. Genetic heterogeneity at the β-giardin locus among human and animal isolates of Giardiaduodenalis and identification of potentially zoonotic subgenotypes. Int J Parasitol. 2005; 35(2), 207-213.
16. Alborzi A, Zerafati Z. Asymptomatic Giardia infection in children in a hyperendemic area, Iranian J Med Sci. 1994; 2-1(19). 6-1.
17. Arani AS, Alaghehbandan R, Akhlaghi L, Shahi M, Lari AR. Prevalence of intestinal parasites in a population in south of Tehran, Iran. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008; 50(3):145-149.
18. Etamadi S, Zia-Ali N, Babai Z, Fasihi Harandi M, Zia-Ali A. The correlation between clinical signs and genotypes of Giardia duodenalis isolated from patients with Giardiasis in Kerman city. J Kerman Univ Med Sci. 2014; 18(4): 330-338.
19. Rayani M, Unyah NZ, Hatam G. Molecular identification of Giardia duodenalis isolates from Fars province, Iran. Iran J Parasitol. 2014; 9(1):70-78.
20. Akbarian A , Sadraei J , Forouzandeh M. Evaluattion of Giardia lamblia genetic differences in Khorramabad City and surrounding villages by use of PCR and sequencing. SJKU. 2012; 17(2):61-71.
21. 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.
22. Pestehchian N, Rasekh H, Babaei Z, Yousefi HA, Eskandarian AA, Kazemi M, etal. Identification of genotypes of Giardia duodenalis human isolates in Isfahan, Iran, using polymerase chain reaction-Restriction Fragment Length polymorphism. Adv Biomed Res. 2012;1(1):84.
23. Babaei Z, Oormazdi H, Akhlaghi L, Rezaie S, Razmjou E, Soltani-Arabshahi SK, etal. Molecular characterization of the Iranian isolates of Giardia lamblia: application of the glutamate dehydrogenase gene. Iranian J Pub Health. 2008; 37(2):75-82.(Persian)
24. Nahavandi KH, Fallah E, Jamali R. Genetic characterization of Giardia intestinalis strains from patients having sporadic giardiasis by using PCR assay. J Med Sci. 2008; 8(3):310-315.
25. Wegayehu T, Karim MR, Li J, Adamu H, Erko B, Zhang L, etal. Multilocus genotyping of Giardia duodenalis isolates from children in Oromia Special Zone, central Ethiopia. BMC Microbiol. 2016; 16:89 .
26. Haque R, Roy S, Kabir M, Stroup SE, Mondal D, Houpt ER. Giardia assemblage A infection and diarrhea in Bangladesh. J Infect Dis. 2005; 192(12): 2171-2173.
27. Rahimian F. Genotyping of human isolates of Giardia in Karaj city using PCR. Master Thesis. Tarbiat Modarres University, Faculty of Medical Sciences. 2013 (Persian).
28. Manouchehri Naeini K, Hosseini SA, Gholipour A, Babaei Z, Taghipoor S. Genotyping of Giardia duodenalis isolates in individuals with and without chronic diarrhea using Polymerase Chain Reaction. J Mazand Univ Med Sci. 2012; 22(95):39-46 (Persian).
29. Luján HD, Svärd S, editors. Giardia: A model organism. Verlag Vienna :Springer; 2011.
30. Sprong H, Cacciò SM, van der Giessen JW. Identification of zoonotic genotypes of Giardia duodenalis. PLoS Negl Trop Dis. 2009; 3(12):e558.