

بررسی ایمونوگلوبولین‌های IgA، IgG، و IgG₂ در افراد بالغ آلوده به

بلاستوسیستیس هومینیس

چکیده

زمینه و هدف: بلاستوسیستیس هومینیس (*Blastocystis hominis*) انگل ساکن روده انسان و حیوان است که با وجود تحقیقات وسیعی که بر روی آن انجام گرفته است، هنوز نقش بیماری‌زایی آن مورد بحث می‌باشد. شیوع آلودگی به این ارگانیزم، در کشورهای توسعه یافته ۱۰-۱۵ درصد و در کشورهای در حال توسعه تا ۵۰ درصد گزارش شده است. هدف از این پژوهش، بررسی ایمونوگلوبولین‌های توتال IgG (Immunoglobulin G) و توتال IgA (Immunoglobulin A) و IgG₂ (Immunoglobulin G₂) در افراد بالغ آلوده به بلاستوسیستیس هومینیس و مقایسه آنها با افراد سالم است. روش بررسی: این مطالعه به صورت مقطعی (cross-sectional) و مورد - شاهدی (case-control) بر روی ۱۰۰ فرد بالغ آلوده به بلاستوسیستیس هومینیس و ۱۰۰ فرد سالم مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران و بیمارستان میلاد صورت گرفت. انجام آزمایش‌های مربوطه، با استفاده از روش نفلومتری و کیت Minineph شرکت انگلیسی The Binding Site Ltd., Birmingham, Uk صورت گرفت. در پایان، نتایج به دست آمده با کمک آزمون آماری Independent samples T-Test و برنامه SPSS Version 12 آنالیز شدند. یافته‌ها: به موجب نتایج به دست آمده، میزان توتال IgA در دو گروه مورد و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (t=409, P=0.683). اما، در نتایج حاصل از بررسی توتال IgG و IgG₂ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. (IgG: t=۲/۸۳, P=۰/۰۰۵ و IgG₂: t=۲/۰۲, P=۰/۰۰۲). نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً پاسخ سیستم ایمنی نسبت به آنتی‌ژن‌های کربوهیدراتی و گلیکوژنی واکوئول مرکزی این تک یاخته، منجر به افزایش سطح IgG سرمی به خصوص زیر کلاس IgG₂ می‌شود.

*دکتر هرمزد اورمزدی I

دکتر لامع اخلاقی II

دکتر الهام رزمجو III

ملوک بیرموند IV

شهاب‌الدین سروی V

مهدی تولا IV

کلیدواژه‌ها: ۱- بلاستوسیستیس هومینیس ۲- توتال IgG ۳- توتال IgA ۴- IgG₂

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۹، تاریخ پذیرش: ۸۶/۶/۱۲

مقدمه

اولین بار در سال ۱۹۱۱ توسط Alexieff به عنوان کیست تک یاخته و در سال ۱۹۱۲ توسط Brumpt به عنوان مخمر تعریف شد.^(۴) مطالعات فرا ساختاری Zierdt و همکاران در سال ۱۹۶۷ نشان داد که بر خلاف تصور Alexieff و Brumpt، این ارگانیزم یک تک یاخته می‌باشد.^(۵) در سال ۱۹۹۶، Silberman با مطالعه فیلوژنی RNA (Ribonucleic acid)

بلاستوسیستیس هومینیس (*Blastocystis hominis*)، یک انگل ساکن روده انسان و حیوان است که با وجود تحقیقات وسیعی که بر روی آن صورت گرفته است، هنوز نقش بیماری‌زایی آن مورد بحث می‌باشد.^(۲ و ۱) شیوع آلودگی به این ارگانیزم، در کشورهای توسعه یافته ۱۰-۱۵ درصد و در کشورهای در حال توسعه تا ۵۰ درصد گزارش شده است.^(۳)

(I) استاد و مدیر گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسؤول).

(II) دانشیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(III) استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(IV) دانشجوی PhD انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(V) دانشجوی PhD انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران و بیمارستان میلاد، که از نظر سن و جنس در شرایط یکسانی بودند، صورت گرفت.

به منظور بررسی تغییرات احتمالی ناشی از جایگزینی این انگل در روده، افراد آلوده دارای علائم گوارشی همراه با اسهال و افراد آلوده بدون علائم گوارشی و اسهال که فاقد آلودگی به سایر انگلهای روده‌ای بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

ابتدا، پس از معاینه افراد مورد پژوهش توسط پزشکان مستقر در مراکز بهداشتی درمانی و بیمارستان و با کسب رضایت و تکمیل پرسشنامه‌ای که حاوی اطلاعاتی مبنی بر عدم ابتلاء فرد به بیماریهای روده‌ای، ایدز، رادیوتراپی، شیمی درمانی و درمان با کورتیکواستروئیدها بود، از آنان نمونه‌گیری مدفوع به عمل آمد.

پس از آزمایش‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی گسترش مستقیم رنگ‌آمیزی با لوگل، تری‌کروم، زیل نلسون اصلاح شده و روش فرمل اتر در آزمایشگاه گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی توسط دانشجویان کارشناسی ارشد، زیر نظر اساتید گروه انجام شد. به این صورت که ابتدا پس از تشخیص آلودگی به بلاستوسیسیتیس هومینیس، به کمک اسمیرهای تهیه شده با لوگل و سرم فیزیولوژی، جهت تأیید تشخیص و اطمینان از عدم آلودگی به سایر انگلهای روده‌ای و حضور چشمگیر بلاستوسیسیتیس هومینیس، از رنگ‌آمیزی تری‌کروم و زیل نلسون اصلاح شده استفاده شد که به علت اینکه رنگ‌آمیزی‌ها جزء اهداف مطالعه نبوده و صرفاً جهت تشخیص به کار گرفته شده‌اند، به نتایج حاصل از آن اشاره‌ای نشده است.

در مرحله بعد، با مراجعه به آزمایشگاه‌های مراکز مورد نظر، نمونه‌های سرم این بیماران جمع‌آوری و جهت بررسی‌های ایمونولوژیکی و تعیین سطح سرمی IgG و IgA توتال و IgG₂، به آزمایشگاه گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران منتقل شدند.

با استفاده از روش نفولتری و کیت Minineph شرکت انگلیسی The Binding Site Ltd., Birmingham, UK،

ریبوزومی بلاستوسیسیتیس هومینیس، آن را به عنوان تنها عضو Stramenopiles [گروه متنوعی از یوکاریوت‌ها شامل کتانجک (kelp)، دیاتومه‌ها (diatoms) توری‌های لغزنده (slime nets) و کپک‌های آبی (water moulds)] طبقه‌بندی کرد. در بیشتر گزارش‌های به دست آمده از نمونه‌های حاصل از کشت، به ۳ فرم مورفولوژیکی: واکوئولار (vacuolar)، گرانولار (Granular) و آمیوئید (Amoeboid) اشاره شده است.

اما اخیراً، اشکال دیگری از جمله کیست (cyst)، بدون واکوئول (Avacuolar) و چند واکوئولی (Multivacuolar) نیز به آن نسبت داده شده است. چرخه زندگی پیشنهاد شده توسط Zierdt، که بر اساس مشاهدات وی به دست آمده، در بیشتر متون مربوط به این تک یاخته به چاپ رسیده است.^(۱) در یک مطالعه که در دانشگاه عین الشمس مصر صورت گرفت، میزان ایمونوگلوبولین‌های IgA ترشچی، IgA هومورال و IgG افراد آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس به ترتیب ۱۰۰٪، ۸۳/۳٪ و ۸۶/۶٪ با یک افزایش چشمگیر نسبت به افراد شاهد، گزارش شده است.^(۷)

با وجود مطالعات وسیع صورت گرفته در این رابطه، هنوز به طور قطع ثابت نشده است که آیا بلاستوسیسیتیس هومینیس یک انگل کومنسال (Commensal) است یا اینکه می‌تواند ایجاد بیماری نماید.^(۸)

در این زمینه در ایران مطالعات خاصی صورت نگرفته است. لذا، در این تحقیق جامعه‌ای از افرادی که منحصراً آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس بودند انتخاب و از نظر IgG و IgA توتال و IgG₂ مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج حاصل از آن با افراد سالم مقایسه شد؛ تا لاجرم به چگونگی نقش بیماری‌زایی مهم بلاستوسیسیتیس هومینیس، هر چند اندک، پی‌برده شود.

روش بررسی

این مطالعه به صورت مقطعی (cross-sectional) و مورد - شاهدهی (case-control) در سال ۸۵-۱۳۸۴ بر روی ۱۰۰ فرد بالغ آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس و ۱۰۰ فرد سالم

همچنین، از نتایج حاصل از آزمایش IgG₂ مشخص گردید که سطح این زیر کلاس از IgG در افراد آلوده به این انگل نسبت به افراد کنترل، بالاتر است ($t=4/28, P=0/002$).

جدول شماره ۱- میانگین، انحراف معیار شاخص‌های ایمنولوژیکی IgG و IgA توتال و IgG₂ در ۲ گروه مورد و شاهد و نتایج آزمون t در مقایسه میانگین‌ها

نتایج آزمون t	مورد		شاهد	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
IgG توتال	۱۲/۰۱	۲/۴۲	۱۱/۱۹	۱/۶۵
$t=2/83$ $P=0/005$				
IgG ₂	۵۲۵۴/۰۸	۱۲۹۷/۹۶	۴۳۲۶/۲۴	۸۸۵/۸۷
$t=4/28$ $P=0/002$				
IgA توتال	۲/۱۰۱۰	۰/۹۰۶۱۷	۲/۰۵۵۹	۰/۶۲۹۳۰
$t=4/09$ $P=0/683$				

بحث

در این مطالعه، ۱۰۰ نفر از افراد آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس که طبق تشخیص پزشک فاقد بیماریهای مداخله کننده در امر این پژوهش بودند و ۱۰۰ نفر سالم و در شرایط یکسان از نظر سن و جنس با افراد آلوده مورد بررسی قرار گرفتند. هدف از این مطالعه، بررسی ایمنوگلوبولین‌های IgG توتال، IgA توتال و IgG₂ در افراد آلوده به این انگل روده‌ای و مقایسه آن با افراد سالم بود. با توجه به جدول شماره ۱، میانگین IgA توتال در گروه مورد بالاتر از گروه شاهد بود اما اختلاف معنی‌داری را نشان نداد که با مطالعه صورت گرفته توسط Mahmoud, MS Saleh, W.A مطابقت نداشت ($t=409, P=0.683$).

ایمنوگلوبولین (IgA)، تقریباً ۱۰-۱۵٪ کل ایمنوگلوبولین‌های سرم را تشکیل می‌دهد که حدود ۱۰-۱۵٪ آن به صورت دایمر است. کمبود IgA، به خصوص نوع ترش‌خونی آن، موجب مستعد شدن فرد نسبت به عفونتهای روده‌ای از جمله ژیاوردیا لامبلیا (*Giardia lamblia*) و احتمالاً بلاستوسیسیتیس هومینیس، که از پاتوژن‌های همنشین ژیاوردیا حساب می‌آید، می‌شود.^(۹)

آزمایش‌های مربوطه بر اساس دستورالعمل زیربط، انجام گرفت. در پایان، داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از آزمون آماری Independent samples T Test و برنامه SPSS Version 12 آنالیز شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه، که به صورت مورد - شاهدی (case-control) و به مدت ۶ ماه صورت گرفت ۲۰۰ نفر از افراد بالغ مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های مراکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران و بیمارستان میلاد مورد بررسی قرار گرفتند.

از این تعداد، ۱۰۰ نفر آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس بودند که به عنوان گروه «مورد» و ۱۰۰ نفر دیگر که سالم بودند به عنوان گروه «کنترل» انتخاب شدند. افراد آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس، فاقد بیماریهای مداخله کننده در امر پژوهش بودند که صحت این امر توسط پزشکان مستقر در مراکز بهداشتی درمانی مورد نظر، مورد تأیید قرار گرفت. افراد شاهد، از نظر سن و جنس با گروه مورد در شرایط یکسانی انتخاب شدند.

از این تعداد بیمار مورد مطالعه، ۴۴٪ مرد و ۵۶٪ زن بودند که میانگین سنی آنها ۳۵/۶۷ سال با انحراف معیار ۱/۱۷۲ بود.

آزمایش‌های توتال IgG, توتال IgA و IgG₂ این افراد با استفاده از روش نفلومتری و کیت Minineph شرکت انگلیسی The Binding Site Ltd., Birmingham, UK انجام گرفت که در پایان نتایج حاصل از توتال IgA در افراد گروه case-control نشان داد که میانگین IgA در گروه مورد در مقایسه با گروه «شاهد» بالاتر است؛ اما اختلاف بین آنها از نظر آماری، رابطه معنی‌داری را نشان نداد ($t=4/09, P=0/683$). اما، بررسی توتال IgG در ۲ گروه مورد و شاهد نشان داد که سطح سرمی توتال IgG در افراد آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس در مقایسه با افراد سالم، بالاتر و تفاوت معنی‌دار است ($P=0/005, t=2/83$).

بیشتر ساخته می‌شود. آنتی بادی که بر ضد بعضی از قندها مثل دکستران سنتز می‌شود، IgG₂ است.^(۹) شاید یکی از دلایل افزایش IgG₂ در افراد آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس، تحریک سیستم ایمنی هومورال بر علیه آنتی ژن‌های کربوهیدراتی یا گلیکوژنی موجود در ساختمان واکوئل های مرکزی این ارگانسیم، در معیار انبوه می‌باشد.^(۱۰) مقدار IgG در دوران نقاهت بیماریها، فرم مزمن، التهابات، بیماریهای کبدی و همچنین در واکنشهای ایمنی بدن، بعد از Igm در سرم بالا می‌رود.^(۹)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که تجزیه احتمالی IgA ترشحی توسط آنزیم پروتئاز بلاستوسیسیتیس هومینیس، زمینه مناسبی جهت بقاء و ازدیاد این انگل در روده و التهاب روده‌ای ناشی از آن را مطرح می‌کند. این مسئله، منجر به فعال شدن سیستم ایمنی هومورال و افزایش عیار آنتی‌بادی‌های IgG توتال و IgG₂ در افراد آلوده می‌گردد که مسئله درمان افراد آلوده با بلاستوسیسیتیس هومینیس را ضروری می‌نماید. بدون شک، مطالعات تکمیلی بعدی می‌تواند راه گشای بیشتری در این مقوله باشد.

تقدیر و تشکر

در پایان از جناب آقای دکتر علیرضا سالک مقدم، مدیر محترم گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران که زمینه اجرای این پژوهش را در گروه خود فراهم نمودند، جناب آقای رضا فلک و سرکار خانم پریوش دانش، کارشناسان ارشد گروه ایمونولوژی که ما را در انجام این طرح یاری نمودند، از سرکار خانم دکتر مولانا، مسئول فنی آزمایشگاه بیمارستان میلاد و پرسنل گروه انگل شناسی این بیمارستان که در اجراء این پروژه متحمل زحمات شده‌اند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

فقدان یا کاهش انتخابی IgA (Selective IgA deficiency)، شایعترین نقص ایمونولوژیکی است که از هر ۸۸۰-۴۴۰ نفر، یک نفر نقص IgA دارد. ۵۰٪ این افراد ظاهراً سالم و فاقد علائم بالینی هستند، اما در بقیه افراد بیماریهای مختلفی از جمله آلودگی‌های انگلی روده‌ای دیده می‌شود.^(۱۰)

Puthia MK و همکارانش معتقدند که احتمالاً تجزیه IgA توسط آنزیم پروتئاز A مترشحه از بلاستوسیسیت، منجر به عدم افزایش چشمگیر این آنتی بادی در افراد آلوده به بلاستوسیسیتیس هومینیس و جایگزینی آن در مخاط روده می‌شود. آنزیم پروتئاز بلاستوسیسیتیس هومینیس، احتمالاً موجب تجزیه آنتی‌بادی IgA و امکان بقاء این انگل در روده می‌شود. آنزیم پروتئاز باعث تخریب IgA و ایجاد قطعات غیر فعال Fab و Fc می‌شوند.^(۱۱)

بدون احتساب IgA ترشحی از دستگاه گوارش، بینی، بزاق، اشک و شیر، IgA₁ حدود ۹۰٪ کل IgA سرم و ۷۰-۹۵٪ IgA ترشحی را تشکیل می‌دهد. ۶۰٪ کل IgA ترشحی دستگاه گوارش را IgA₂ تشکیل می‌دهد. IgA ترشحی، بالاترین مقدار ایمونوگلوبولین در ترشحات خارجی یا غیر سرمی است. نقش اساسی IgA ترشحی، ممانعت از هجوم میکروارگانسیم‌ها و عوامل خارجی از طریق مخاط به داخل بدن است که به این مکانیسم دفاعی دفع ایمنی گفته می‌شود (Immune exclusion).^(۱۲)

در این مطالعه، IgG توتال و IgG₂ نیز بررسی شدند که در دو گروه مورد و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (IgG: $t=2/83$, $P=0/005$ و IgG₂: $t=2/02$, $P=0/002$). مطالعه مشابهی که در دانشگاه عین الشمس مصر صورت گرفته است، موید یافته این مقاله است. ایمونوگلوبولین (IgG)G، ۷۵-۵۰٪ کل ایمونوگلوبولین‌های بدن را تشکیل می‌دهد که به ۴ زیر کلاس IgG₁، IgG₂، IgG₃ و IgG₄ تقسیم شده است که در این میان IgG₂، ۲۸-۱۴٪ کل IgG را تشکیل می‌دهد. تولید IgG برضد یک آنتی بادی، معمولاً از هر چهار زیر کلاس به نسبت طبیعی آنها می‌باشد. ولی گاهی اوقات در موارد پاتولوژیک یکی از این زیر کلاسها

فهرست منابع

1- Zierdt CH. Blastocystis hominis-Past and future. Clin Microbial Rev 1991. 4:15-17.

2- Boreham PFL, Stenzel DJ. Blastocystis in humans and animals: morphology, biology, and epizootiology. Adv parasitol 1993; 32:1-70

3- Chen TL, Chan CC, Chen HP, FungCP, Lin CP, Chan WL, et al. Clinical Characteristic and Endoscopic Findings associated with Blastocystis hominis in Healthy adults. Am j Trop Med Hyg 2003; 69(2): p: 213-216.

4- Zierdt CH, Donnelly CT, Muller J, Constantopoulos G. Blastocystis hominis: commensal or pathogen? Lancet 1991; 337:521-522.

5- Zierdt CH, Rude WS, Bull BS. Protozoan characteristic of Blastocystis hominis. Am J Clin Pathol 1967; 48:495-501.

6- Windsor JJ, Macfarlane L, Whiteside TM, Chalmers RM, Thomas AL, Joynson DH. Blastocystis hominis: A common yet neglected human parasite. British Journal of Biomedical science 2001; 58(2):129-30.

7- Mahmoud MS, Saleh WA. Secretary and humoral antibody responses to Blastocystis hominis in asymptomatic humans' infection. Journal of the Egyptian society of parasitology 2003; 33(1): 13-30.

8- Babb RR, Swaggerer. Blastocystis hominis –a potential intestinal pathogen. West j med 1989; 151: 518-519.

9- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Clinical chemistry and molecular diagnostics. 4 th edition. USA, Elsevier Saunders; 2006: P. 571.

۱۰- پاکزاد پرویز. اصول و تفسیر آزمایشهای سرولوژی بالینی، چاپ نهم تهران، انتشارات نوردانش، ۱۳۸۴، صفحات: ۴۵، ۴۶، ۵۲.

11- Puthia MK, Vaithilingam A, Lu J, Tan KS. Degradation of human Secretary immunoglobulin A By blastocystis. Parasitol Res. 2005; 97(5): 386-389.

۱۲- غضنفری هادی، موسوی سیدرضا. ایمونولوژی چهار استاد، چاپ اول، تهران، انتشارات میر، ۱۳۸۴، صفحات: ۹۵-۹۳.

Investigation of Total IgG and IgA and IgG₂ in Adult Subjects with Blastocystis Hominis

^I
*H. Oormazdi, PhD
^{IV}
M. Beirom Vand, MS

^{II}
L. Akhlaghi, PhD
^V
Sh. Sarvi, MS

^{III}
E. Razmjoo, PhD
^{IV}
M. Tavalla, MS

Abstract

Background & Aim: Blastocystis hominis is an intestinal parasite in humans and animals. Despite extensive studies, pathogenic role of this organism is controversial. Prevalence rate of contamination with this organism varies from 1.5% to 10% in developed countries and reaches up to 50% in developing countries. The purpose of this study was to investigate total IgG, total IgA and IgG₂ subclass in adults infected with Blastocystis hominis and compare them with healthy individuals.

Patients and Method: In this cross-sectional case-control study, we selected 100 adults infected with Blastocystis hominis and 100 healthy subjects referred to health service sectors of Iran University of Medical Sciences and Milad Hospital. Serum immunoglobulin examinations were performed by means of nephelometry and Minineph human Ig kit made by the Binding Site Ltd., Birmingham, UK. Data analysis was done by SPSS version 12 and independent t-test.

Results: According to the obtained results, there was no significant difference in the level of total IgA between the case and control groups ($t=4.09$, $P=0.683$), but the levels of total IgG and IgG₂ subclass showed a significant difference between the case and control groups (IgG: $t=2.83$, $P=0.005$; IgG₂: $t=2.02$, $P=0.002$).

Conclusion: The results showed that the immune system response to carbohydrate and glycogenic antigens of the central vacuole of this protozoon leads to an increase in the level of serum IgG especially IgG₂ subclass.

Key Words: 1) Blastocystis Hominis 2) Total IgG 3) Total IgA 4) IgG₂

^I) Professor of Parasitology and Mycology. Faculty of Medicine. Shahid Hemmat Expressway. Shahid Chamran Crossroad. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)

^{II}) Associate Professor of Parasitology and Mycology. Faculty of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^{III}) Assistant Professor of Parasitology and Mycology. Faculty of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^{IV}) PhD Student of Parasitology. Faculty of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^V) PhD Student of Parasitology. Faculty of Medicine. Tarbiat Modarres University. Tehran, Iran.