

تغییرات میزان روی، مس و ایمونوگلوبولین‌های IgE و IgA و ویتامین B12 و فولات در افراد آلوده به ژیا ردیا و افراد غیر آلوده

• دکتر ناهید عین‌اللهی

دکترای تخصصی بیوشیمی، گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده
پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

einolah@tums.ac.ir

• دکتر نسرين دشتی

دکترای تخصصی بیوشیمی، گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده
پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

• دکتر میترا زارع بوانی

دکترای تخصصی انگل‌شناسی پزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده
پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات زئونوزها

• دکتر مهدی محبعلی

دکترای تخصصی انگل‌شناسی پزشکی، گروه انگل‌شناسی و
قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

• دکتر مصطفی رضائیان

دکترای تخصصی انگل‌شناسی پزشکی، گروه انگل‌شناسی و
قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

• دلارام درگاهی

کارشناس ارشد انگل‌شناسی پزشکی، گروه انگل‌شناسی و
قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

ژیا ردیا لامبلیا یکی از مهم‌ترین انگل‌های تک‌یاخته روده‌ای می‌باشد. هدف از این مطالعه اندازه‌گیری سطح مس، «روی»، ایمونوگلوبولین‌های A، E، ویتامین B₁₂ و فولات در بیماران مبتلا به ژیا ردیا و مقایسه آن‌ها با افراد سالم می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه روی ۴۹ نفر مبتلا به ژیا ردیا لامبلیا و ۳۹ نفر سالم انجام گرفت. نمونه‌های مدفوع به دو روش گسترش مرطوب و تغلیظی فرمل - اتر جهت تشخیص ژیا ردیا آزمایش شدند. سپس از این افراد خون گرفته و سرم آن جدا شد. بررسی ایمونوگلوبولین A و ایمونوگلوبولین E به ترتیب به روش SRID و الیزا، مس و «روی» به روش اسپکتروفتومتری، فولات و ویتامین B₁₂ به روش رادیوایمونوآسی انجام گرفت. تمام نتایج به وسیله نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج: تفاوت قابل ملاحظه‌ای در نتایج به دست آمده از

ایمونوگلوبولین‌های A، E، «روی» و مس در بین افراد مبتلا به ژیا ردیا و افراد سالم مشاهده شد ($P < 0.05$). اما تفاوت معنی‌داری در نتایج به دست آمده در میزان ویتامین B₁₂ و فولات در بین دو گروه مشاهده نشد. در افراد سرم مثبت و منفی به ترتیب متوسط میزان ایمونوگلوبولین A: $309/26 \text{ mg/dl}$ و $216/89 \text{ mg/dl}$ ، متوسط میزان ایمونوگلوبولین E: $167/34 \text{ IU/ml}$ و $35/49 \text{ IU/ml}$ ، متوسط میزان مس: $309/74 \text{ mg/dl}$ و $64/41 \text{ } \mu\text{g/dl}$ و متوسط میزان «روی»: $253/61 \text{ } \mu\text{g/dl}$ و $144/75 \text{ } \mu\text{g/dl}$ به دست آمد.

بحث: نتایج نشان داد که میزان ایمونوگلوبولین A و E و مس در افراد مبتلا به ژیا ردیا نسبت به افراد سالم افزایش داشته و میزان روی در افراد مبتلا به ژیا ردیا نسبت به افراد سالم کاهش داشته است. میزان ویتامین B₁₂ و فولات در بین دو گروه تفاوت معنی‌داری نشان ندادند.

کلمات کلیدی: ژیا ردیا، ایمونوگلوبولین A، E، مس، روی، ویتامین B₁₂ و فولات



مقدمه

تشکیل هموگلوبین، جذب آهن و فعالیت انواع آنزیم ها به کار می رود (۱۱ و ۸).

کمبود ویتامین B_{12} و فولات منجر به بروز آنمی می گردد. همچنین ویتامین B_{12} در سنتز DNA نقش دارد (۱۲). ژيارديا لامبليا در پروکسیمال روده کوچک که محل جذب این دو ویتامین می باشد تجمع می یابد و در نتیجه می تواند باعث کمبود این دو ویتامین گردد (۱۳). هدف از این مطالعه بررسی میزان ایمونوگلوبولین های A, E, ویتامین B_{12} , فولات، مس و روی در سرم افراد آلوده به ژيارديا و مقایسه آن با افراد سالم می باشد.

روش بررسی

این مطالعه بر روی افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه انگل شناسی فرمانفرمائیان و مرکز طبی کودکان تهران وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران در طی اردیبهشت ۱۳۸۹ تا اردیبهشت ۱۳۹۰ انجام شد. پرسشنامه ای تهیه و به این افراد داده شد. نمونه های مدفوع این افراد در ظروف استریل جمع آوری گردید و آزمایش مدفوع به دو روش تهیه گسترش مرطوب و تغلیظی فرمل - اتر جهت بررسی وجود کیست و تروفوزوئیت ژيارديا لامبليا انجام شد. از بین افراد مراجعه کننده تعداد ۴۹ نفر آلوده به این انگل بودند که گروه مثبت نامیده شدند. تعداد ۳۹ نفر هم به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند که از نظر سن و جنس به گروه مثبت نزدیک بوده و از نظر آلودگی به ژيارديا لامبليا منفی بودند. سرم هر دو گروه گرفته شد و جهت آزمایش های ایمونولوژی و بیوشیمی در فریزر 70°C - نگهداری شد. میزان ایمونوگلوبولین A به روش Single Radial Immune Diffusion (SRID) سنجیده شد. میزان ایمونوگلوبولین E به روش

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

در طول موج 450nm و به وسیله دستگاه الیزا مدل (ELX800 BIOTEK, USA) اندازه گیری شد. میزان «روی» و مس به وسیله کیت های زیست شیمی به شماره های (REF 10-517,5-Br-PAPS, REF10-546,3,5-DiBr-PAESA) به روش رنگ سنجی به وسیله اسپکتروفوتومتر مدل (PD-303 APEL, Japan) در طول موج های 546nm و 578nm سنجیده شدند. میزان ویتامین B_{12} و فولات نیز به

ژيارديا لامبليا یکی از مهم ترین انگل های روده ای است که عامل اسهال حاد و مزمن در انسان می باشد. (۱) علائم ژياردیازیس شامل دل درد، تهوع، استفراغ و کاهش وزن می باشد (۲). ژيارديا لامبليا تک یاخته تاژکداری است که از نظر مرفولوژی دارای دو شکل کیست و تروفوزوئیت می باشد. عفونت ناشی از ژيارديا به دنبال خوردن کیست ها به همراه آب و مواد غذایی آلوده و یا انتقال از شخص آلوده به فرد سالم می باشد. تروفوزوئیت ها در لومن روده باریک تجمع کرده، اما به سلول های اپی تلیال و لایه های عمیق تر مخاط صدمه ای وارد نمی کنند (۳). عفونت با ژيارديا معمولاً در افراد با سیستم ایمنی سالم، خود محدود شونده بوده که نشان دهنده حضور دفاع موثر در بدن میزبان می باشد. دفاع مخاطی بر علیه ژيارديا در روده کوچک عمل می کند. آنتی بادی های ترشحی نیز در از بین بردن ژيارديا دارای یک نقش مرکزی می باشند. لذا در بیماران با نقص ایمنی در تولید ایمونوگلوبولین A علائم شدیدتری بروز می کند (۳). پاسخ های ایمنی به همراه طیف گسترده ای از واکنش های التهابی بر علیه ژيارديا لامبليا در مخاط روده باریک انجام می شود (۴-۲). هنگامی که این واکنش ها به درستی تشکیل شود، عفونت های ناشی از آلودگی های کرمی همراه با واکنش های ازدیاد حساسیت و افزایش اتوزینوفیل ها خواهد بود که منجر به ساخته شدن ایمونوگلوبولین های E می گردد. گزارشاتی مبنی بر وجود علائم آلرژیک در افراد مبتلا به ژياردیازیس وجود دارد. همچنین افزایش سطح ایمونوگلوبولین E و اتوزینوفیلی نیز در این افراد گزارش شده است (۵). بنابراین اندازه گیری آنتی بادی ها در این زمینه می تواند مفید واقع شود.

عناصر معدنی کلید تنظیم مسیرهای متابولیسم، عامل حیاتی برای سیستم ایمنی بدن و سرکوب کننده شیوع انواع بیماری ها می باشند (۶ و ۷). مهم ترین این عناصر آهن، «روی» و مس هستند. «روی» برای اعمال سیستم ایمنی ضروری می باشد. کمبود «روی» به همراه کاهش لنفوسیت ها منجر به اسهال مزمن می شود (۸ و ۹). همچنین «روی» در تولید آنتی بادی ها و فعال کردن سلول های T و سایر سلول های بدن نقش دارد (۱۰ و ۹). مس نیز برای تولید گلوبول های قرمز،

وسيله کيت تشخيصی DRG به شماره REF RIA-1990 توليد کشور آلمان به روش Enzyme Immunoassay سنجيده شدند. نتايج به وسيله نرم افزار SPSS مورد تجزيه و تحليل قرار گرفتند.

نتايج

نتايج اين مطالعه در جدول شماره ۱، ۲، ۳ خلاصه شده است. در جدول شماره ۱ مقادير متوسط ايمونوگلوبولين ها

و فاکتورهای بيوشيمي در بين دو گروه مبتلا به ژيارديا و گروه کنترل مقايسه شده است. تفاوت قابل ملاحظه ای در ميزان ايمونوگلوبولين های A، E در سرم افراد دو گروه ملاحظه شد ($p=0.001$). ميزان متوسط سطح «روى» در سرم افراد مبتلا به ژيارديا نسبت به گروه کنترل کمتر می باشد ($p=0.001$) همچنين اختلاف معنی داری در ميزان متوسط مس سرم در بين دو گروه مشاهده گرديد. ($p=0.003$) مقادير نرمال ايمونوگلوبولين ها، مس، «روى»، فولات و ويتامين B_{12} و پراکندگی افراد ژيارديا مثبت و ژيارديا منفي در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. طبقه بندی نتايج بر طبق هر کدام از پارامترها و ميزان طبيعي آن ها معرفي شده است. (۸-۱۴)

جدول شماره ۱: مقادير نرمال سطح سرمی فاکتورهای بيوشيميایی و ايمونولوژیکی در بين دو گروه ژيارديا مثبت و گروه کنترل يا ژيارديا منفي

Parameters	Giardia Positive (GP)	Giardia Negative (GN)	P values
Serum zinc ($\mu\text{g} / \text{dl}$)	69.41 $\pm$ 5.61	144.75 $\pm$ 10.71	0.001
Serum cu ($\mu\text{g} / \text{dl}$)	309.74 $\pm$ 59.12	253.61 $\pm$ 20.77	0.03
Serum IgA (mg / dl)	309.26 $\pm$ 17.51	216.89 $\pm$ 23.74	0.001
Serum IgE (IU)	167.34 $\pm$ 31.99	35.49 $\pm$ 6.53	0.001
Serum B_{12}	340.28 $\pm$ 41.20	341.10 $\pm$ 46.85	0.301
Serum folic	7.09 $\pm$ 0.28	8.77 $\pm$ 1.34	0.150

جدول شماره ۲: مقادير نرمال ايمونوگلوبولين ها، مس، «روى»، فولات و ويتامين B_{12} و پراکندگی افراد ژيارديا مثبت و ژيارديا منفي

Parameters	IgA	IgE	Cu	Zn	B12	Folate
Normal ranges	$\leq 230 \text{ mg} / \text{dl}$	11–188 IU / ml	70–155 $\mu\text{g} / \text{dl}$	63.8–114 $\mu\text{g} / \text{dl}$	160–970 pg / dl	1.5–17 g / ml
Patient No.	GP GN	GP GN	GP GN	GP GN	GP GN	GP GN
	n=49 n=38	n=51 n=39	n=44 n=39	n=48 n=39	n=20 n=10	n=20 n=10

جدول شماره ۳: فراوانی ايمونوگلوبولين ها، مس، «روى»، ويتامين B_{12} و فولات در بين گروه ژيارديا مثبت و گروه کنترل بر طبق مقادير نرمال بين المللی

Parameters	IgA		IgE		CuD		Zn		B12		Folate	
	GP	GN	GP	GN	GP	GN	GP	GN	GP	GN	GP	GN
Decreased	-	-	-	-	n=4	n=0	n=4	n=0	n=4	n=0	n=4	n=0
					9.1%	0.0%	50%	0.0%	10%	0.0%	0.0%	0.0%
Normal	n=12	n=26	n=36	n=38	n=14	n=7	n=18	n=17	n=18	n=10	n=20	n=9
	24.5%	68.4%	70.6%	97.4%	31.8%	17.9%	37.59 %	43.6%	90%	100%	100%	90%
Increased	n=37	n=12	n=15	n=1	n=26	n=32	n=6	n=22	n=0	n=0	n=0	n=1
	75.5%	31.6%	29.4%	3.6%	59.1%	82.1%	12.5%	56.4%	0.0%	0.0%	0.0%	10%

مقادير ايمونوگلوبولين ها، مس، «روى»، ويتامين B_{12} و فولات در بين دو گروه ژيارديا مثبت و گروه کنترل به سه دسته کاهش، نرمال و افزايش تقسيم شده است. نتايج نشان می دهد که ميزان ايمونوگلوبولين A در ۲۴/۵٪ افراد ژيارديا مثبت، طبيعي و در ۷۵/۵٪ آن ها افزايش دارد. در ۶۸/۴٪ گروه کنترل، طبيعي و در ۳۱/۶٪ آن ها افزايش دارد. ميزان ايمونوگلوبولين E در ۷۰/۶٪ افراد ژيارديا مثبت دارای ميزان طبيعي و در ۲۹/۴٪ آن ها افزايش دارد. همچنين در ۹۷/۴٪ افراد گروه کنترل طبيعي و در ۳/۶٪ آن ها افزايش دارد. برای مس نيز در گروه ژيارديا مثبت ۹/۱٪ کاهش، ۳۱/۸٪ طبيعي و ۵۹/۱٪ افزايش و در گروه کنترل ۱۷/۹٪ طبيعي و ۸۲/۱٪ افزايش، مشاهده کرديم. به عبارتی ميزان مس در ۲۸٪ افراد ژيارديا مثبت بالاتر از مقدار طبيعي ($300 \mu\text{g} / \text{dl}$) و ۱۵/۲۸٪ افراد در گروه

کنترل بالاتر از مقدار طبيعي بود. نتايج به دست آمده در مورد «روى» نشان داد که در گروه ژيارديا مثبت و گروه کنترل به ترتيب ۱۲/۵٪ و ۵۶/۴٪ افزايش، ۳۷/۵٪ و ۴۳/۶٪ طبيعي و ۵۰٪ کاهش داشتيم و در گروه کنترل کاهشی مشاهده نشد. ميزان

ويتامين B_{12} در ۱۰٪ افراد گروه ژيارديا مثبت کاهش و در ۹۰٪ آن ها طبيعي بود. در حالی که ۱۰۰٪ افراد گروه کنترل دارای مقدار طبيعي بودند. نتايج برای فولات نشان داد که

در گروه ژيارديا مثبت ۱۰۰٪ افراد طبيعي و در گروه کنترل ۹۰٪ افراد طبيعي و ۱۰٪ هم افزايش داشتند.



بحث

هنوز آلودگی به انگلی های روده ای از جمله ژیا ردیا لامبلیا از مهم ترین مشکلات مردم جهان به شمار می رود. این آلودگی ها بیشتر وابسته به شرایط اجتماعی و اقتصادی و مناطق خاص جغرافیایی می باشد (۱۳). ایمونوگلوبولین A ترشحی از مهم ترین سیستم دفاعی بر علیه ژیا ردیا لامبلیا به شمار می رود زیرا به مقدار بالایی در لومن روده ترشح می شود (۲). مطالعات بیان می دارند که ایمونوگلوبولین A ممکن است اثر سیتوتوکسیک بر علیه ژیا ردیا لامبلیا اعمال نماید (۱۵). در مطالعات گذشته به افزایش ایمونوگلوبولین A در شرایطی که سایر آنتی بادی ها افزایشی نداشته اند، اشاره شده است (۱۸-۱۵). چند مطالعات کمی روی این موضوع صورت گرفته است.

ایمونوگلوبولین E آنتی بادی است که نقش مهمی در ایجاد آلرژی و واکنش ازدیاد حساسیت نوع ۱ دارد (۱۹) و در ایجاد پاسخ های ایمنی به انواع عفونت های کرمی نیز شریک می باشد (۲۰). همچنین ممکن است نقش مهمی در دفاع ایمنی بر علیه عفونت های ناشی از تک یاخته ها داشته باشد (۲۱). اثر متقابل بین واکنش سلول های ماست سل وابسته به ایمونوگلوبولین E منجر به تجمع ائوزینوفیل ها در نزدیکی انگل ها و بالا بردن اثر آنتی بادی بر علیه تک یاخته می شود (۲۲-۲۳). در آلودگی به ژیا ردیا لامبلیا نیز افزایش سطح ایمونوگلوبولین E به چشم می خورد (۲۴-۲۵). سطح ایمونوگلوبولین E نسبت به سن، جنس، نژاد، اعتیاد به سیگار و شرایط اجتماعی و اقتصادی متفاوت است و حتی ممکن است از کشوری به کشور دیگر نیز متغیر باشد (۲۶-۲۲). مطالعات متعددی به افزایش سطح ایمونوگلوبولین E در عفونت های کرمی و ناشی از تک یاخته اشاره کرده است (۲۲، ۲۴، ۲۵، ۳۱، ۳۲). بررسی های متعدد حاکی از افزایش ایمونوگلوبولین E در عفونت های انگلی می باشند که نسبت آن در عفونت های کرمی از عفونت های ناشی از تک یاخته ها بالاتر نشان داده شده است (۲۴، ۲۲). در بررسی دیگری مشخص گردیده که در بیمار مبتلا به ژیا ردیازیس افزایش قابل ملاحظه ایمونوگلوبولین E مشاهده گردیده که پس از درمان از میزان آن کاسته شده است (۲۵). به علاوه برخی مطالعات به افزایش سطح سرمی ایمونوگلوبولین E در

عفونت های کرمی نسبت به عفونت های ناشی از تک یاخته اشاره کرده است (۳۳). هر چند در مطالعات پیشینه تر هیچ گونه افزایش سطح ایمونوگلوبولین E در عفونت های انگلی روده ای نشان داده نشده است (۳۴).

در این مطالعه ایمونوگلوبولین A در گروه ژیا ردیا مثبت ۷۵/۵٪ و در گروه کنترل ۳۱/۶٪ افزایش داشت. این موضوع اهمیت ایمونوگلوبولین A را در بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس نشان می دهد. به نظر می رسد که افزایش ایمونوگلوبولین E در مشخص کردن ژیا ردیازیس مفیدتر می باشد. (۲۹/۴٪ افزایش در گروه ژیا ردیا مثبت و ۲/۶٪ در گروه کنترل) عناصری نظیر «روی» و مس برای رشد، تکثیر و تکامل ضروری هستند (۳۵). این عناصر، تشکیل دهنده ساختمان آنزیم های سلولی هستند و در برخی مراحل سیستم ایمنی، نقش مهمی در مقاومت نسبت به آسیب رادیکال های آزاد با تثبیت دیواره سلولی دارند (۶). کاهش «روی» و مس در سرم باعث تخریب در عملکرد آنزیم ها و سلول ها می شود (۳۵). «روی» عنصری است که در بدن ذخیره نمی شود و در نتیجه میزان آن در عفونت ها کاهش می یابد. سطح سرمی «روی» در عفونت های ناشی از تک یاخته ها نیز کاهش می یابد و بر عکس سطح سرمی مس در بیشتر بیماری های حاد و مزمن انگلی بالا می رود (۸). در برخی از مطالعات هم به کاهش «روی» و افزایش مس در ژیا ردیازیس اشاره کرده است (۳۶-۳۹). در گزارش های کمی هم به عدم اختلاف معنی دار در «روی» و مس سرم در بین دو گروه اشاره شده است (۴۱-۳۹). در این مطالعه در ۵۰٪ افراد ژیا ردیا مثبت کاهش «روی» و در ۵۹/۱٪ آن ها افزایش مس مشاهده شد. نتایج مشاهده شده در مطالعه ما مشابه با سایر مطالعات محققین دیگر می باشد. همانطور که قبلا هم ذکر شد «روی» در بدن ذخیره نمی شود و میزان آن در سرم کاهش می یابد. اما ۹۰٪ مس سرم با پیوند با سرولوپلاسمین در بدن ذخیره می شود. افزایش مس سرم در بیشتر عفونت های در ارتباط با نوسان سرولوپلاسمین هم مشاهده می شود.

ویتامین B₁₂ در ساخت ترانس میترازهای بیوشیمیایی در مغز و سیستم عصبی شرکت می کند. این ویتامین در سنتز DNA و رشد و تکثیر سلول های بدن (۴۲) همچنین در انتقال و ذخیره فولات در سلول های بدن نقش مهمی دارد

نتایج مطالعه مورد بررسی نشان داد که میزان ایمونوگلوبولین A در مقایسه با ایمونوگلوبولین E ارتباط بیشتری با ژiardیازیس دارد. ژiardیازیس باعث افزایش میزان مس سرم و کاهش میزان روی در سرم می شود. همچنین در این مطالعه میزان ویتامین B₁₂ و فولات هم در بین دو گروه آلوده به ژiardیا لامبلیا و منفی از نظر آلودگی به این انگل تفاوت معنی داری مشاهده نگردید.

تشکر و قدردانی

مجریان این مطالعه لازم می دانند از خانم ها لیلا کاشی و اکرم ملکی و آقای دکتر نیک منش صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی نمایند.

(۴۳). فولات نقش مهمی در تقسیم سلولی و سنتز DNA دارد. فولات باید به وسیله شیره پانکراس در دئودنوم، جایی که ژiardیا لامبلیا تجمع می یابد، هضم شود (۴۴،۴۵). آسیب به سلول های اپیتلیال روده با چسبیدن تروفوزوئیت های ژiardیا لامبلیا به آن ها اتفاق می افتد. این امر یک عامل مهم در بیماری زایی عفونت به شمار می رود (۴۶). ژiardیازیس باعث کمبود ویتامین B₁₂ و مداخله در جذب فولات می شود (۴۷،۴۸-۴۹). مطالعات کمی نشان داده که کمبود فولات و ویتامین B₁₂ منجر به ژiardیازیس می شود (۴۹،۵۰). برخی گزارش ها هم به جذب طبیعی فولات در طی عفونت با ژiardیا لامبلیا اشاره کرده است (۵۰،۵۱). در مطالعه ما هیچ اختلاف معنی داری بین دو گروه ژiardیا مثبت و گروه کنترل مشاهده نگردید.

نتیجه

References

- 1- Zarebavani M, Mirhadi F, Rezaeian M. Detection of the "Tim" gene of sheep using "Tim" Gene primers of Giardia of with human origin. *Int J Vet Res.* 2010;4(2):69-72.
- 2- Eckmann L. Mucosal defences against Giardia. *Parasite Immunol.* 2003;25:259-70. [PubMed]
- 3- Langford TD, Housley MP, Boes M, Chen J, Kagnoff MF, Gillin FD, et al. Central Importance of Immunoglobulin A in host Defense against Giardia spp. *Infect Immun.* 2002;70(1):11-18. [PMC free article] [PubMed]
- 4- Muller N, Von Allmen N. Recent insights into the mucosal reactions associated with Giardia lamblia infections. *Int J Parasitol.* 2005;35(13):1339-47. [PubMed]
- 5- Ertan Kara P, Yereli K, Kasirga E, Kurt O, Sanlidag T, Onag A, et al. The Examination of Link Between Blood Levels of IgA, IgE, IgG, IgM, CRP and giardiasis in children. *Ege Tip Dergisi.* 2004;43(2):91-94.
- 6- Olivares JL, Fernández R, Fleita J, Rodríguez G, Clavel A. Serum Mineral Levels in Children with Intestinal Parasitic Infection. *Dig Dis.* 2003;21(3):258-61. [PubMed]
- 7- Milner JA. Trace minerals in the nutrition of children. *J Pediatr.* 1990;117(2):147-55. [PubMed]
- 8- Culha G, Sangun MK. Serum levels of zinc, copper, iron, cobalt, magnesium and selenium elements in children diagnosed with Giardia intestinalis and Enterobiosis vermicularis in Hatay, Turkey. *Biol Trace Elem Res.* 2007;118(1):21-26. [PubMed]
- 9- Kilic E, Yazar S, Saraymen R. Responsiveness of total content changes of magnesium and zinc status in patients infected with Giardia intestinalis. *Biol Trace Elem Res.* 2003;(1-3):96. 153-58. [PubMed]
- 10- Jendrezko A, Sadowska H. Zinc deficiency in children infected with Giardia lamblia. *Wiad Lek.* 1993;(1-2):46. 32-35. [PubMed]
- 11- Celiksoz A, Acigöz M, Degerli S, Alim A, Aygan C. Egg positive rate of Enterobius vermicularis and Taeniaspp. By cellophane tape method in primary school children in Sivas, Turkey. *The Korean J Parasitol.* 2005;43(2):61-64. [PMC free article] [PubMed]





- 12- Oh R, Brown DL. Vitamin B₁₂ deficiency. *Am Fam Physician*. 2003;67(5):979–86. [PubMed]
- 13- Olivers JL, Fernandez R, Fleta J, Ruiz MY, Clavel A. Vitamin B₁₂ and folic acid in children with intestinal parasitic infection. *J Am Coll Nutr*. 2002;21(2):109–13. [PubMed]
- 14- Burtis CA, Ashwood RA, Bruns E. *Tietz fundamentals of clinical chemistry*. 6th ed. Saunders, Elsevier; 2008. pp. 840–49.
- 15- Stager S, Gottstein B, Sager H, Jungi TW, Muller N. Influence of antibodies in mother's milk on antigenic variation of *Giardia lamblia* in the murine mother-offspring model of infection. *Infect Immun*. 1998;66(4):1287–92. [PMC free article] [PubMed]
- 16- Lai Ping, So A, Mayer L. Gastro intestinal manifestations of primary immunodeficiency disorders. *Semin Gastro intest Dis*. 1997;8(1):22–32. [PubMed]
- 17- Strober W, Sneller MC. IgA deficiency. *Ann Allergy*. 1991;66:363–75. [PubMed]
- 18- Soliman MM, Taghi-kilani R, Abo-Shady AF, et al. Comparison of serum antibody responses to *Giardia lamblia* of symptomatic and asymptomatic patients. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;58(2):232–39. [PubMed]
- 19- Gould H, Sutton BJ, Beavil AJ, Beavil RL, McCloskey N, Coker HA, et al. The biology of IgE and the basis of allergic disease. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:579–628. [PubMed]
- 20- Erb KJ. Helminthes, allergic disorders and IgE-mediated immune responses: where do we stand? *Eur J Immunol*. 2007;37(5):1170–73. [PubMed]
- 21- Duarte J, Deshpande P, Guiyedi V, Mécheri S, Fesel C, Cazenave P, et al. Total and functional parasite specific IgE responses in *Plasmodium falciparum*-infected patients exhibiting different clinical status. *Malar J*. 2007;6(1):1–13. [PMC free article] [PubMed]
- 22- Hagel I, Lynch NR, Di Prisco MC. Allergic reactivity of children of different socioeconomic levels in tropical populations. *Int Arch Allergy Immunol*. 1993;101(2):209–14. [PubMed]
- 23- Roitt IM, Brostoff J, Male DK. *Medical Immunology*. Gower Medical Publishing; London: 1996. pp. 181–91.
- 24- Di Prisco MC, Hagel I, Lynch NR. Possible relationship between allergic disease and infection by *Giardia lamblia*. *Ann Allergy*. 1993;70(3):210–13. [PubMed]
- 25- Perez O, Lastre M, Bandera F. Evaluation of the immune response in symptomatic and asymptomatic human giardiasis. *Arch Med Res*. 1994;25(2):171–77. [PubMed]
- 26- White PJ, Potter PC, Malherbe D. A multi-allergen screening test for suspected allergic disease in colored children. *S Afr Med J*. 1989;76(11):597–98. [PubMed]
- 27- Witting HJ, Belloit J, De Fillipi L. Age related serum immunoglobulin E levels in healthy subjects and in patients with allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 1980;66(4):305–13. [PubMed]
- 28- Barbee RA, Halonen M, Lebowitz M. Distribution of IgE in a community population sample: correlation with age, sex and allergen skin test reactivity. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68(2):106–11. [PubMed]
- 29- Lynch NR, Lopez RL, Di Prisco MC. Allergic reactivity and socioeconomic level in a tropical environment. *Clin Allergy*. 1987;17(3):199–207. [PubMed]
- 30- Wilhelm D, Klauche M, Görg S. Expression of sCD₂₃ in atopic and non-atopic blood donors: correlation with age, total serum IgE, and allergic symptoms. *Allergy*. 1994;49(7):521–25. [PubMed]
- 31- Nielsen BW, Lind P, Hansen B. Immune responses to nematode exo antigens: sensitizing antibodies and basophilic histamine release. *Allergy (Denmark)* 1994;49(6):427–35. [PubMed]
- 32- Buijs J, Egbers MW, Lokhorst WH. Toxocara-induced eosinophilic inflammation. Airway function and effect of anti-IL-5. *Am J Respir Crit Care Med (United States)* 1995;151(3):873–78. [PubMed]
- 33- Köse S, Özbel Y, Kokuludag A. Barsak parazitleri ile serum IgE seviyeleri ve allerjik deri testleri arasındaki ilikininin celenmesi. *T Parazit Derg*. 1995;19(3):397–401.
- 34- Yenigun A, Suren T, Tanac R. Intestinal parazitlerin total serum IgE düzeyine etkisi. *Ege Tıp Derg*. 1990;29(3):678–80.



- 35- Ertan P, Ysereli K, Kurt O, Balcioglu IC, Onag A. Serological levels of zinc, copper and iron elements among *Giardia lamblia* infected children in Turkey. *Pediatr Int*. 2002;44(3):286–88. [PubMed]
- 36- Tanyuksel M, Sayal A, Aydin A. Trace element levels in some parasitic disease. *Acta Parasitol Turcica*. 1995;19:315–21.
- 37- Kilic E, Yazar S, Saraymen R. Serum zinc and magnesium levels in patients with blastocystis. *Biol Trace Elem Res*. 2004;98(1):21–26. [PubMed]
- 38- El Gohari Y, Galal SH, Boulos LM, Moustafa S, Amin SM, et al. Trace element levels in some parasitic diseases. *J Egypt Soc Parasitol*. 1984;14(1):179–87. [PubMed]
- 39- Demirci M, Delibas N, Altuntas I, Oktem F, Yonden Z. Serum iron, zinc and copper levels and lipid peroxidation in children with chronic giardiasis. *TJ Health Popul Nutr Mar*. 2003;21(1):72–75. [PubMed]
- 40- Karakas Z, demirel N, Tarakcioglu M, Mete N. Serum zinc and copper levels in southeastern Turkish children with giardiasis or amebiasis. *Biol Trace Elem Res*. 2001;84(1–3):11–18. [PubMed]
- 41- Devlin TM. *Text Book of Biochemistry with clinical correlations*. 7th ed. New York: Willey-Liss; 2009. pp. 723–27.
- 42- Cathy Breedon. *Guide to nutrition: Vitamin B₁₂*. Merit Care Health System. 2009. Available from: www.google.com.
- 43- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 24th ed. Appleton & Lange; UK: 1996. pp. 320–21.
- 44- Khademi R, Ghaffarifar F, Dalimi Asl H. In Vitro Effect of Folic Acid and Cobalamin (Vitamin B₁₂) on Adhesion and Growth of *Giardia lamblia*. *Iranian J Parasitol*. 2006;1(1):47–52.
- 45- Sousa MC, Goncalves CA, Bairos VA, Poiars-Da-Silva J. Adherence of *Giardia lamblia* trophozoites to int-407 human intestinal cells. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001;8(2):258–65. [PMC free article] [PubMed]
- 46- Tycker KL, Rich S, Rosenberg I, Jacques P. Plasma vitamin B₁₂ concentrations relate to intake source in the Framingham offspring study. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(2):514–22. [PubMed]
- 47- Inge PMG, Edson CM, Farthing MJG. Attachment of *G. lamblia* to rat intestinal epithelial cells. *Gut*. 1998;29(6):795–801. [PMC free article] [PubMed]
- 48- Gault MJ, Gillin FD. *Giardia lamblia*: stimulation of growth by human intestinal mucus and epithelial cells in serum free medium. *Exp Parasitol*. 1987;64(1):29–37. [PubMed]
- 49- Ambrose NS, Hutchinson S, Tejan J. Folate deficiency due to giardiasis. *J R Soc Med*. 1989;82(1):48–49. [PMC free article] [PubMed]
- 50- Askari F, Ghaffarifar F, Dalimi Asl H, Haghi Ashtiani Mt, Delavari M. Study on variation of the sera folic acid, vitamin B₁₂ and iron level in the 6–12 years old patients infected with *Giardia lamblia* in south Tehran Iran. *J Pediatr*. 2007;17(2):149–54.
- 51- Hjelt K, Krasilnikoff PA. The impact of gluten on the haematological status, dietary intakes of haematopoietic nutrients and vitamin B₁₂ and folic acid absorption in children with coeliac disease. *Acta Paediatr Scand*. 1990;79(10):911–19. [PubMed]

