

Frequency of Cryptosporidiosis among Gastroenteritic Patients

Shirzad Gholami¹,
Aliasghar Hamzeh Ali¹,
Alireza Khalilian²,
Mahdi Fakhari¹,
Ahmad Daryani¹,
Mahdi Sharif¹,
Abbas Shahbazi³,
Shaban Gohardehi¹,
Ehsan Ahmadpour⁴

¹ Department of Parasitology and Mycology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Department of Statistics, Psychiatry & Behavioral Sciences Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Department of Parasitology and Mycology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴ Student of Parasitology and Mycology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 19, 2011 ; Accepted February 7, 2012)

Abstract

Background and purpose: Cryptosporidiosis is one of the opportunistic protozoan diseases and zoonosis in the world, leading to acute or chronic gastroenteritis caused by *Cryptosporidium* spp. Since Mazandaran province is a suitable region for parasites transmission this study aims at determining the frequency of cryptosporidiosis among gastroenteritic patients referred to hospitals and medical centers of Mazandaran University of Medical Sciences in 2010-2011.

Materials and methods: This cross-sectional study was done in hospitals and medical centers of Mazandaran University of Medical Sciences, in 2010-2011. Stool samples of 348 patients with gastroenteritic were collected using random cluster sampling. Specimens were prepared by formalin-Ether method and smears were stained by both acid-fast staining (AFS) and auramine phenol fluorescence (APF) to detect *Cryptosporidium* oocysts and then the data was analyzed using SPSS and Chi-square test.

Results: Among the patients, most cases were above 40 years of age (36.8%) and only 7.5% included those aged 10-20. Also, 53.2% of patients were male while 46.8% were female. We found that 59.5% of patients live in towns and 40.5% live in villages. *Cryptosporidium* was detected in 8 cases (2.3%). A statistically significant correlation was observed between *Cryptosporidium* and the age of patients and also between *Cryptosporidium* and the month of being annoyed by diarrhea ($P < 0.05$).

Conclusion: Low prevalence of cryptosporidiosis was found in this study compared with previous studies in Mazandaran province. However, it is important to accurately diagnose *Cryptosporidium* and other parasitic infections in stool samples of patients with diarrhea admitted to hospitals or reference labs through appropriate methods of parasitology.

Key words: *Cryptosporidium*, cryptosporidiosis, gastroenteritic patients

بررسی فراوانی کریپتوسپوریديوم در بیماران مبتلا به گاستروانتریت

شیرزاد غلامی^۱
 علی اصغر حمزه علی^۱
 علیرضا خلیلیان^۲
 مهدی فخار^۱
 عباس شهبازی^۳
 شعبان گوهردهی^۱
 احسان احمدپور^۴

چکیده

سابقه و هدف: کریپتوسپوریديوم از بیماری‌های تک یاخته‌ای فرصت طلب و زئونوز است که انتشار جهانی دارد. عامل بیماری گونه‌های کریپتوسپوریديوم است که منجر به اسهال و استفراغ حاد یا مزمن در مبتلایان می‌شود. با توجه به شرایط مناسب استان مازندران برای انتقال انگل، مطالعه حاضر جهت بررسی فراوانی کریپتوسپوریديوم در بیماران مبتلا به گاستروانتریت مراجعه کننده به بیمارستان‌ها و مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۱۳۹۰-۱۳۸۹ انجام شد.

مواد و روش‌ها: مطالعه به روش توصیفی- مقطعی با نمونه برداری از مبتلایان به اسهال از شهریور ۱۳۸۹ لغایت آخر اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ در مراکز بیمارستانی و درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام گرفت. در این بررسی تعداد ۳۴۸ نمونه مدفوع از بیماران مبتلا به گاستروانتریت با روش نمونه برداری خوشه‌ای- تصادفی جمع آوری شد. نمونه‌های مدفوع پس از نگهداری در فرمول ۱۰ درصد به آزمایشگاه گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی انتقال و با روش‌های رنگ آمیزی اسیدفاست اصلاح شده و اورامین- رودامین از نظر آلودگی به انگل مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات حاصل از مطالعه پس از ثبت، با نرم افزار آماری SPSS و آزمون آماری کای دو (Chi-square) و T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع ۳۴۸ نمونه مورد مطالعه بیشترین موارد نمونه‌های اسهالی آزمایش شده مربوط به گروه سنی بالای ۴۰ سال (۳۶/۸ درصد) و کمترین مربوط به گروه سنی ۲۰-۱۰ سال (۷/۵ درصد) بوده است. همچنین از کل تعداد افراد مورد مطالعه ۵۳/۲ درصد مرد و ۴۶/۸ درصد زن بودند. از این تعداد ۵۹/۵ درصد در شهر و ۴۰/۵ درصد در روستا سکونت داشته‌اند در بررسی آلودگی انگلی در کل بیماران مبتلا به گاستروانتریت میزان آلودگی به کریپتوسپوریديوم ۲/۳ درصد (۸ مورد) مشاهده شد. از نظر آماری ارتباط معنی دار بین آلودگی به کریپتوسپوریديوم با سن و ماه ابتلاء به اسهال مشاهده شد ($p < 0/05$).

استنتاج: هر چند در مطالعه حاضر شیوع کم کریپتوسپوریديوم، در مقایسه با مطالعات قبلی در استان مازندران مشخص شده است؛ اما لازم است کریپتوسپوریديوم و سایر عفونت‌های انگلی را در مدفوع بیماران مبتلا به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان یا آزمایشگاه‌های مرجع با روش‌های مناسب انگل شناسی به دقت تشخیص داده شود.

واژه‌های کلیدی: کریپتوسپوریديوم، کریپتوسپوریديوم، بیماران گاستروانتریت

مقدمه

در دهه‌های اخیر تک یاخته‌های فرصت طلب از جنس کریپتوسپوریديوم (Cryptosporidium)، سیکلوسپورا (Cyclospor)، زیاردیاس (Giardia)، توکسوپلازما (Toxoplasma) و تک یاخته پاتوژن بیماری‌زا

E-mail: sgholami200@gmail.com

مؤلف مسئول: شیرزاد غلامی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات روان پزشکی و علوم رفتاری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۴. دانشجوی انگل شناسی و قارچ شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۰/۱۰/۱۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۰/۱۱/۱۸

روده‌ای مانند آتامبا هیستولیتیکا (*Entamoeba histolytica*) بیشترین نگرانی را در آلودگی فرآورده‌های غذایی و ایجاد بیماری در انسان و حیوانات در سراسر جهان به عنوان بیماری‌های منتقله از مواد غذایی ایجاد کرده‌اند (۱،۲). تک‌یاخته‌های جنس کریپتوسپوریديوم انگل‌های کوكسیدیای كوچكى هستند كه سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه گوارش و تنفس مهره داران را آلوده می‌کنند (۲). این تک‌یاخته انگل داخل سلولی و خارج سیتوپلاسمی است که چرخه زندگی تک‌میزبانه (Monoxen) دارد کریپتوسپوریديوم به عنوان یکی از مهم‌ترین و جدی‌ترین عوامل بیماری‌زای منطقه از طریق آب می‌باشد که تاکنون شناخته شده است (۳،۴). از اواخر قرن بیستم کریپتوسپوریديوم به عنوان عامل مهم اسهال آندمیک و اپیدمیک در سراسر دنیا شناخته شده است که اغلب کودکان و بیماران دچار نقص سیستم ایمنی را مبتلا می‌کند (۴-۶) در میان گونه‌های کریپتوسپوریديوم؛ کریپتوسپوریديوم پاروم و کریپتوسپوریديوم هومینیس شایع‌ترین گونه‌هایی هستند که انسان را آلوده می‌کنند و انتقال آن‌ها بیشتر از طریق انتقال مدفوعی دهانی مدفوعی - دهانی و یا از طریق مصرف آب آشامیدنی آلوده است. کریپتوسپوریديوم به عنوان یک عفونت روده‌ای معده‌ای می‌باشد که همراه با اسهال است و شیوع جهانی دارد و میزان آن در اطفال زیر ۶ سال در کشورهای توسعه یافته بیشتر است (۷،۶).

از طرفی کریپتوسپوریديوم به عنوان یکی از عوامل بیماری‌زای جدید در دهه اخیر در انسان معرفی شده است که علاوه بر افراد سالم با سیستم ایمنی طبیعی در افرادی که دارای نقص سیستم ایمنی هستند می‌تواند باعث بروز اسهال شود لذا مطالعه این انگل در مناطق مختلف و شناسایی گونه آن به‌ویژه در بیماران مبتلا به گاستروآنتریت، کودکان و افراد دارای نقص ایمنی و درمان آن‌ها نقش مؤثری در حفظ سلامت جامعه دارد (۹،۸). در سال‌های اخیر نتایج مطالعات در ایران و سایر کشورها نشان می‌دهد که تک‌یاخته روده‌ای از

جنس کریپتوسپوریديوم در ایجاد اسهال در انسان دخالت دارند (۱۱،۱۰،۲). شیوع کریپتوسپوریديوزیس در مبتلایان به اسهال بیش از شیوع آن در کل جامعه است و کریپتوسپوریديوم پاروم به عنوان سومین یا چهارمین عامل شناخته شده مولد اسهال در انسان مطرح است (۱۲،۸،۳) که در کودکان باعث بروز اسهال طولانی مدت و کاهش رشد و وزن می‌شود (۱۰،۷) در افراد مبتلا به ایدز کریپتوسپوریديوزیس یکی از مهم‌ترین و جدی‌ترین عفونت‌های فرصت طلب است (۱۳،۵) میزان شیوع این انگل در مطالعات مختلف در سال‌های اخیر در ایران در بیماران مبتلا به گاستروآنتریت مبتلایان به ایدز، کودکان مدارس از ۰/۱ درصد تا ۷/۷ درصد متفاوت گزارش شده است. فراوانی انگل در بیماران گاستروآنتریت متفاوت از ۰/۱ تا ۱/۴ درصد در استان مازندران گزارش شده است (۱۵،۱۴). اما توسط نهروانیان و همکاران در سال‌های ۸۷-۱۳۸۶ آلودگی به تک‌یاخته در غرب استان مازندران در مبتلایان به گاستروآنتریت مشاهده نشده است (۱۰).

با توجه به شرایط مناسب استان مازندران و بررسی‌های محدودی که تاکنون در زمینه شیوع واقعی این بیماری‌ها از جمله کریپتوسپوریديوزیس و ایزوسپوریازیس با رویکرد اپیدمیولوژیک در این استان انجام شده است (۱۷،۱۶،۱۰). با توجه به اهمیت این تک‌یاخته‌های روده‌ای در سال‌های اخیر، تشخیص آن‌ها به عنوان یکی از اولویت‌های تحقیقاتی به‌ویژه در بیمارستان‌ها و بخش‌های درمانی استان مازندران که دارای آزمایشگاه‌های تشخیصی و آموزشی مانند بیمارستان امام خمینی (ره) ساری و رازی قائم‌شهر می‌باشند بر اساس روش‌های علمی، انگل‌شناسی به‌خصوص در بیماران مبتلا به اسهال مانند کودکان، افراد دارای ضعف سیستم ایمنی و مبتلا به ایدز ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به مطالعات محدود انجام شده در استان مازندران در زمینه شیوع کریپتوسپوریديوم و شناسایی گونه‌های آن در انسان به‌ویژه در بیماران مبتلا به گاستروآنتریت مراجعه‌کننده به بیمارستان‌ها و مراکز

درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران مطالعه حاضر جهت بررسی فراوانی کریپتوسپورییدیوم در بیماران مبتلا به گاستروآنتریت مراجعه کننده به بیمارستان ها و مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران با استفاده از دو روش تشخیصی اسید- فاست و اورامین- رودامین انجام شد تا نتایج حاصل از آن بتواند جهت تشخیص، درمان و برنامه ریزی برای کنترل و پیشگیری این بیماری انگلی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها

مطالعه به روش توصیفی- مقطعی به صورت نمونه برداری خوشه‌ای- تصادفی از بیماران گاستروآنتریت مراجعه کننده به مراکز درمانی تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی در شهر ساری و قائم شهر در استان مازندران انجام شد. بدین نحو که در طی مطالعه از شهریور ۱۳۸۹ لغایت اردیبهشت ۱۳۹۰ نمونه مدفوع ۳۴۸ نفر از بیماران گاستروآنتریت مراجعه کننده به بیمارستان های امام خمینی (ره) ساری (۱۰۶ نمونه)، بوعلی سینا ساری (۶۲ نمونه)، مجتمع تخصصی و فوق تخصصی طبوبی تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی (۸۲ نمونه) و بیمارستان رازی قائم شهر (۹۷ نمونه) که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند جمع آوری شد. سپس نمونه‌ها در فرمول ۱۰ درصد نگهداری و به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی انتقال یافت. نمونه‌های در آزمایشگاه پس از آماده سازی به روش های انگل شناسی، با استفاده از روش تغلیظ و با میکروسکوپ نوری (بزرگ نمایی ۱۰x و ۴۰x) از نظر وجود کیست، تروفوزوئیت و اووسیست انگل‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۱۷،۱۰). در این تحقیق پس از پر کردن پرسشنامه از بیماران مبتلا به گاستروآنتریت نمونه‌های مدفوعی در بخش گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی ساری از لحاظ وضعیت فیزیکی و قوام مدفوع مورد بررسی و مشخصات آن ثبت شد. سپس ۵ تا ۱۰ گرم از مدفوع را در لوله‌های حاوی ۳/۵^{cc} محلول کیت تجاری

پارازیت تست (شرکت کار و طب) ریخته و سوسپانسیون حاصل با دور ۲۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی را دور ریخته سپس از رسوب حاصله لام، گسترش تهیه شد. پس از تهیه نمونه های لازم باقی مانده رسوب را داخل لوله اپندورف جهت استفاده‌های بعدی در یخچال در دمای ۴°C ذخیره شد. برای تمام نمونه‌ها گسترش تهیه شد و در حرارت آزمایشگاه خوب خشک گردید سپس با ریختن چند قطره متانول ۹۶ درصد بر روی آن‌ها، نمونه بر روی لام‌ها ثابت شد. از لام‌هایی که در مراحل اولیه مثبت تشخیص داده شد و یا مشکوک بودند مجدداً گسترش تهیه شد. سپس گسترش‌های تهیه شده به روش های اسید- فاست (Acid-fast stain) و فنل- اورامین فلوروسانس (Auramine-phenol fluorescence) رنگ آمیزی شد (۲،۷،۱۰). سپس لام‌ها با میکروسکوپ نوری از لحاظ آلودگی به انگل به روش های اسید- فاست (AFS) و اورامین فنل فلوروسانس (APF) مورد بررسی قرار گرفت. به روش های اسید- فاست لام‌ها نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری (با عدسی های ۴۰x و ۱۰۰x) از لحاظ آلودگی به کریپتوسپورییدیوم مورد بررسی قرار می‌گیرد. در این روش رنگ آمیزی اووسیست‌های کریپتوسپورییدیوم به صورت اجسام گرد و به رنگ صورتی- قرمز در یک زمینه سبز کم رنگ دیده می‌شوند. رنگ پذیری درون کیست‌ها بسته به سن و وضعیت کیست‌ها متغیر است (۱۸،۱۷،۱۰). لام‌های مثبت و مشکوک تشخیص داده با روش اسید فاست پس از رنگ آمیزی به روش فنل- اورامین با میکروسکوپ فلوروسنت با نور آبی (با عدسی های ۴۰ و ۱۰۰) از نظر آلودگی به تک یاخته کریپتوسپورییدیوم مورد بررسی قرار گرفت با این روش اووسیست‌ها دارای یک مرکز روشن و اجسام باقی مانده یک هاله کم رنگ هستند با این روش اووسیست‌ها بهتر مشاهده می‌شوند و این روش دارای مثبت کاذب کمتری است (۱۰،۸،۲).

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها:

یافته‌های حاصل از این مطالعه پس از استخراج از

کشاورز، ۹/۲ درصد بازنشسته، ۷/۵ درصد کارمند و ۱۶/۴ درصد در حال تحصیل بودند.

در این بررسی از کل تعداد افراد مبتلا به اسهال بر حسب تأهل ۳۹/۷ درصد مجرد و ۶۰/۳ درصد متأهل بودند. همچنین ۶۳/۲ درصد بی سواد و ۳۶/۸ درصد با سواد بودند. از نظر طول دوره ابتلاء به اسهال از مجموع کل (۳۴۸ نفر)، ۵۶/۹ درصد از یک روز تا یک هفته مبتلا به اسهال، ۳۸/۸ درصد از یک هفته تا دو هفته مبتلا به اسهال، ۴ درصد از دو هفته تا سه هفته اسهال داشته اند و ۰/۳ درصد بیشتر از سه هفته مبتلا به اسهال بودند. از مجموع ۳۴۸ نفر از افراد مورد مطالعه در این تحقیق از نظر مصرف داروی تضعیف کننده سیستم ایمنی ۵/۷ درصد از این دارو مصرف نمودند و ۹۴/۳ درصد از این داروها استفاده نکرده اند. موارد ابتلاء به کریپتوسپوریوم در بین کسانی که دارو تضعیف کننده سیستم ایمنی مصرف نکرده بوده اند، مشاهده شد. از نظر علایم بالینی، سؤالاتی که از افراد بیمار مبتلا به گاستروانتریت در پرسشنامه پرسیده شده بود بیشترین مورد علایم بالینی بعد از اسهال شامل تهوع (۱۹/۸ درصد) و دهیدراتاسیون (۱۹/۳ درصد) و تب ۱۹ درصد بود و کمترین مورد علایم بالینی و دل پیچه (۱۳/۸ درصد) مشاهده شد.

در بررسی آلودگی انگلی در کل بیماران مبتلا به گاستروانتریت میزان آلودگی به کریپتوسپوریوم ۲/۳ درصد (۸ مورد) با روش های تشخیصی اسید- فاست و فنل - اورامین مشاهده شد. بررسی میزان آلودگی به انگل کریپتوسپوریوم در مبتلایان به اسهال بر حسب سن نشان دهنده تفاوت میزان آلودگی در سنین مختلف در این مطالعه می باشد. آلودگی به کریپتوسپوریوم در سنین ۱۹-۱۰ سال و ۲۹-۲۰ سال و بالای ۴۰ سال به ترتیب ۰/۹ درصد، ۰/۶ درصد و ۰/۹ درصد مشاهده شد. از نظر آماری ارتباط معنی دار بین میزان آلودگی به کریپتوسپوریوم و سن وجود دارد (جدول شماره ۲) ($p < 0.05$). میزان آلودگی به انگل کریپتوسپوریوم در مبتلایان به اسهال بر حسب جنس به ترتیب در مردان

پرسشنامه ها در برنامه کامپیوتری Excel و SPSS ثبت و سپس با آزمون آماری مجذور کای دو (Chi-square) با حدود اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت ($p < 0.05$).

یافته ها

در این مطالعه که در طی ۸ ماه از شهریور ۱۳۸۹ لغایت اردیبهشت ۱۳۹۰ انجام شد، مجموعاً ۳۴۸ نمونه مدفوع اسهالی از بیماران مبتلا به گاستروانتریت مراجعه کننده، به بیمارستان های امام خمینی ساری (۳۰/۵ درصد)، بوعلی سینا ساری (۱۷/۸ درصد)، رازی قائم شهر (۲۷/۹ درصد) و مرکز آموزشی- درمانی طبوبی (۲۳/۸ درصد) دانشگاه علوم پزشکی مازندران از لحاظ آلودگی به تک یاخته کریپتوسپوریوم مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۳۴۸ نمونه مورد مطالعه بیشترین موارد نمونه های اسهالی آزمایش شده مربوط به گروه سنی بالای ۴۰ سال (۳۶/۸ درصد) و کم ترین مربوط به گروه سنی ۲۰-۱۰ سال (۷/۵ درصد) بوده است (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی بیماران مبتلا به اسهال بر حسب گروه های سنی مراجعه کننده به مراکز بیمارستانی و درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۱۳۸۹-۹۰

سن بیماران	تعداد (درصد)
کمتر از ۵ سال	۵۷ (۱۶/۴)
۵-۱۰	۳۱ (۸/۹)
۱۰-۲۰	۲۶ (۷/۵)
۲۰-۳۰	۴۲ (۱۲/۱)
۳۰-۴۰	۶۴ (۱۸/۴)
>۴۰	۱۲۸ (۳۶/۸)
کل	۳۴۸ (۱۰۰)

همچنین از کل تعداد افراد مورد مطالعه ۵۳/۲ درصد مرد و ۴۶/۸ درصد زن بودند. از این تعداد ۵۹/۵ درصد در شهر و ۴۰/۵ درصد در روستا سکونت داشته اند در این مطالعه از کل تعداد افراد مبتلا به اسهال بر حسب شغل مجموعاً ۲۰/۷ درصد خانه دار، ۱۹/۸ درصد کودک، ۱۸/۱ درصد دارای شغل آزاد، ۸/۳ درصد

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی آلودگی به کریپتوسپورییدیوم در بیماران مبتلا به گاستروآنتریت بر حسب سن مراجعه کننده به مراکز بیمارستانی و درمانی-آموزشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۹۰-۱۳۸۹

سن	<۵	۵-۹	۱۰-۱۹	۲۰-۲۹	۳۰-۳۹	>۴۰	جمع
آلودگی به انگل	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
دارای آلودگی	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۰/۹)	۲ (۰/۶)	۰ (۰)	۳ (۰/۹)	۸ (۲/۳)
فاقد آلودگی	۵۷ (۱۶/۴)	۳۱ (۸/۹)	۲۳ (۶/۶)	۴۰ (۱۱/۵)	۶۴ (۱۸/۴)	۱۲۵ (۳۵/۹)	۳۴۰ (۹۷/۷)
جمع	۵۷ (۱۶/۴)	۳۱ (۸/۹)	۲۶ (۷/۵)	۴۲ (۱۲/۱)	۶۴ (۱۸/۴)	۱۲۸ (۳۶/۸)	۳۴۸ (۱۰۰)

معنی دار بین میزان آلودگی به کریپتوسپورییدیوم و سطح سواد مشاهده نمی شود ($p > 0/05$). همچنین از نظر آماری ارتباط معنی داری بین میزان آلودگی به انگل کریپتوسپورییدیوم در بیمارانی که داروی تضعیف کننده ایمنی استفاده می کردند مشاهده نشد ($p > 0/05$).

بحث

با توجه به اهمیت بیماری‌های اسهالی، کریپتوسپورییدیوم یک تک یاخته روده‌ای است که عامل بیماری اسهالی خود محدود شونده است که می تواند در مبتلایان به ایدز یا سایر اشکال نقص ایمنی، بیماری شدیدی ایجاد کند (۴،۳). این تک یاخته با انتشار جهانی عامل بیماری کریپتوسپورییدیوزیس است که یکی از بیماری‌های مشترک انسان و دام می باشد. این بیماری با دو چهره کلینیکی ظاهر می شود یکی گاستروآنتریت حاد خود محدود شونده، در افراد دارای ایمنی توانمند و دیگری اسهال خطرناک و مزمن در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی، راه اصلی آلودگی از راه دهان است. انتقال انگل ممکن است به صورت مستقیم و به وسیله تماس با یک انسان آلوده یا غیر مستقیم از یک محیط آلوده چون آب و مواد غذایی باشد (۳،۱). در این بررسی در ۳۴۸ نمونه به دست آمده از مبتلایان به گاستروآنتریت در مراکز بیمارستانی و آموزشی-درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران میزان شیوع آلودگی انگل کریپتوسپورییدیوم ۲/۳ درصد می باشد. میزان شیوع این انگل در مطالعات مختلف در سال‌های اخیر در ایران در بیماران گاستروآنتریت، مبتلایان به ایدز، کودکان مدارس از

۱/۷ درصد و در زنان ۰/۶ درصد می باشد. از نظر آماری ارتباط معنی دار بین میزان آلودگی به کریپتوسپورییدیوم و جنس وجود ندارد ($p > 0/05$). همچنین بررسی ارتباط میزان آلودگی به کریپتوسپورییدیوم و محل سکونت در بیماران مبتلا به گاستروآنتریت ۱/۴ درصد در شهر و ۰/۹ درصد در روستا را نشان می دهد. از نظر آماری ارتباط معنی دار بین میزان آلودگی به کریپتوسپورییدیوم و محل سکونت (شهر-روستا) وجود ندارد (جدول شماره ۳) ($p > 0/05$).

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی آلودگی به کریپتوسپورییدیوم در مبتلایان به گاستروآنتریت بر حسب محل سکونت در مراجعه کنندگان به مراکز بیمارستانی و درمانی-آموزشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۹۰-۱۳۸۹

محل سکونت	شهر	روستا	کل
آلودگی به انگل	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)
دارای آلودگی	۵ (۱/۴)	۳ (۰/۹)	۸ (۲/۳)
فاقد آلودگی	۲۰۲ (۵۸)	۱۳۸ (۳۹/۷)	۳۴۰ (۹۷/۷)
جمع	۲۰۷ (۵۹/۵)	۱۴۱ (۴۰/۵)	۳۴۸ (۱۰۰)

نتایج حاصل از بررسی ارتباط کریپتوسپورییدیوم و ماه ابتلاء به اسهال از بیماران مبتلا به گاستروآنتریت نشان دهنده میزان آلودگی به این تک یاخته روده‌ای در دی ماه ۱۳۸۹ (۰/۹ درصد) و بهمن ۱۳۸۹ (۰/۶ درصد) و در سه ماه اول سال ۰/۹ درصد می باشد. از نظر آماری ارتباط معنی دار بین میزان آلودگی به کریپتوسپورییدیوم و ماه ابتلاء وجود دارد (جدول شماره ۴) ($p > 0/05$). و بررسی آلودگی به کریپتوسپورییدیوم با سطح سواد نشان دهنده میزان آلودگی به این انگل در بیسوادان ۱/۷ درصد و افراد باسواد ۰/۶ درصد می باشد. از نظر آماری ارتباط

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی آلودگی به کریپتوسپوریديوم در مبتلایان به گاستروآنتریت بر حسب ماه ابتلاء در مراجعه کننده به مراکز بیمارستانی و درمانی - آموزشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۹۰-۱۳۸۹

ماه	دی	بهمن	اسفند	فروردین	اردیبهشت	جمع
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
دارای آلودگی	۳ (۰/۹)	۲ (۰/۶)	۱ (۰/۳)	۱ (۰/۳)	۱ (۰/۳)	۸ (۲/۳)
فاقد آلودگی	۳۵ (۱۰/۱)	۳۰ (۸/۶)	۲۶ (۷/۵)	۱۴۴ (۴۱/۴)	۱۰۵ (۳۰/۲)	۳۴۰ (۹۷/۷)
جمع	۳۸ (۱۰/۹)	۳۲ (۹/۲)	۲۷ (۷/۸)	۱۴۵ (۴۱/۷)	۱۰۶ (۳۰/۵)	۳۴۸ (۱۰۰)

گرفت میزان این عفونت در کودکان مبتلا به گاستروآنتریت زیر ۵ سال و ۱۰-۵ سال به ترتیب ۱۰/۱۲ درصد و ۴/۶۵ درصد بود لذا آلودگی به این انگل را باید جدی گرفت (۱۴،۱۱).

استان مازندران به دلیل داشتن دامپروری های آزاد و صنعتی، همچنین شرایط اقلیمی و رطوبت بالا، فرهنگ غذایی و فراوانی آب های سطحی، توانایی بالقوه برای ابتلاء به بیماری های زئونوز را در سطح وسیع دارا می باشد و به نظر می رسد که انگل های زئونوز^۱ در این استان از شیوع قابل توجهی برخوردار می باشد (۲۱،۱۰). در نتیجه تشخیص کریپتوسپوریديوم در بیماران مبتلا به گاستروآنتریت در سطح مراکز بیمارستانی و مرکز تخصص و فوق تخصصی طبوبی که مراجعین به این مرکز از کل استان می باشند حائز اهمیت می باشد. هر چند مطالعات دیگری که در ایران صورت گرفته میزان شیوع را در نمونه های مدفوعی انسانی با درصدهای متفاوت گزارش نمودند که باید از نظر روش تشخیصی به ویژه استفاده از روش های انگل شناسی تکمیلی در آزمایشگاه های تشخیصی مورد توجه قرار گیرد (۲۲). نهرانیان و همکاران (۲۰۰۶) انگل کریپتوسپوریديوم را در ۲۱۴ نفر دارای نقص ایمنی در تهران ۱/۴ درصد و در مبتلایان به اسهال ۶/۳ درصد گزارش کردند (۱۹). هر چند خلیلی و همکاران در مطالعه ای در شهر کرد شیوع کریپتوسپوریديوم را در کودکان گاستروآنتریتی ۲ درصد و در کودکان بدون گاستروآنتریت صفر درصد گزارش نمودند (۲۲). همچنین شریف و همکاران شیوع

۰/۱ درصد تا ۷/۷ درصد متفاوت گزارش شده است. میزان شیوع انگل در بیماران گاستروآنتریت ۰/۱ درصد در شرق استان مازندران، توسط قربان نیا در بابل سر، ۰/۱۲ درصد در سال ۱۳۸۵ و در دانش آموزان مدارس ابتدایی ۱/۴ درصد توسط نهرانیان و همکاران در سال ۱۳۷۹ گزارش شده است (۱۹،۱۸). فراوانی کریپتوسپوریديوم بین ۳-۱ درصد در کشورهای اروپا و آمریکای شمالی، حدود ۵ درصد در آسیا و ۱۰ درصد در آفریقا تخمین زده می شود. همچنین تک یاخته عامل بروز اسهال در ۱۰ تا ۲۰ درصد مبتلایان به ایدز در کشورهای صنعتی می باشد که در کشورهای در حال توسعه این میزان تا ۵۰ درصد هم می رسد (۲۰،۹،۶).

فراوانی کریپتوسپوریديوم بین ۳-۱ درصد در کشورهای پیشرفته اروپا و آمریکای شمالی، حدود ۵ درصد در آسیا و ۱۰ درصد در آفریقا تخمین زده می شود. همچنین عامل بروز اسهال در ۱۰ تا ۲۰ درصد مبتلایان به ایدز در کشورهای صنعتی می باشد که در کشورهای در حال توسعه این میزان تا ۵۰ درصد هم می رسد (۱۶،۱۳،۱۱). از فراوانی این تک یاخته ها در ایران گزارشات متعددی در سال های اخیر وجود دارد. در یک بررسی که توسط محققین دانشگاه علوم پزشکی ایران در سال ۱۳۷۲ انجام شد میزان عفونت در مبتلایان به گاستروآنتریت، هوچکین، لوسمی لنفوبلاستیک و بیماران دیالیزی به ترتیب ۲/۹۷ درصد، ۱۲/۵ درصد و ۶/۷۵ درصد و ۴/۵ درصد بوده است (۱۴) در مطالعه دیگری که در سال ۱۳۷۱ در آذربایجان غربی انجام

1. Zoonosis

است (مردان ۱/۷ درصد و زنان ۰/۶ درصد) ولی ارتباط معنی داری بین آلودگی به کریپتوسپورییدیوم و جنسیت بیماران مبتلا به گاستروآنتریت مشاهده نشد. سایر بررسی‌های انجام شده نیز نتیجه تحقیق حاضر را تأیید می‌کند (۲۳، ۱۶، ۱۵، ۱۰).

نتایج حاصل از این بررسی نیز با اکثر نتایج مطالعات انجام شده مبنی بر وفور آلودگی در ماه‌های گرم و مرطوب سال مطابقت دارد. بنابراین موقعیت جغرافیایی هر منطقه، نحوه کشاورزی، پرورش دام و از همه مهم‌تر حرکت آب جویبارها از مناطق و بستر آلوده به دنبال باران‌های فصلی عوامل مؤثر در افزایش شیوع کریپتوسپورییدیوم و سایر انگل‌های روده‌ای در منطقه به شمار می‌آیند (۱۸، ۱۷، ۱۴). در نتیجه شناسایی گونه‌های انگل به روش‌های انگل شناسی و مولکولی در مطالعات بعدی در کلیه مراکز درمانی باید مورد توجه قرار گیرد. ضمناً پیشنهاد می‌گردد با شناساندن این انگل به پزشکان عمومی و متخصص، کادر آزمایشگاهی و برگزاری دوره بازآموزی و همچنین ترغیب آزمایشگاه‌های تشخیص طبی به استفاده از روش‌های رنگ آمیزی ذیل - نلسون اصلاح شده که روش سهل و بسیار آسانی است جهت شناسایی این عامل بیماریزا تلاش بیشتری صورت گیرد و پزشکان در آزمایشات درخواستی در رابطه با بیماران گاستروآنتریت تشخیص این انگل را نیز مورد توجه قرار دهند. از طرفی تک یاخته فرصت طلب روده‌ای کریپتوسپورییدیوم به عنوان عامل مهم ایجاد اسهال به ویژه در بیماران مبتلا به ایدز و ضعف سیستم ایمنی شناخته شده است هر چند درمان کاملاً مؤثری برای درمان بیماران مبتلا به انگل به‌ویژه مبتلایان به ایدز شناخته نشده است مرگ و میر ناشی از اسهال‌های کریپتوسپورییدیایی در بیماران نقص ایمنی به‌خصوص ایدز باید مورد مطالعه قرار گیرد. از آنجایی که بیماری کریپتوسپورییدیوز مشترک بین انسان و حیوان نیز است و درصد بالای آلودگی حیوانات به‌خصوص نشخوارکنندگان اهلی، در نتیجه کاهش رشد، ضعف

کریپتوسپورییدیوم را در مصرف کنندگان داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی در بیمارستان امیرکلاهی بابل ۵ درصد گزارش کردند (۱۷). همان‌طور که مشاهده می‌شود، نتایج این مطالعات هر چند در گروه‌های سنی خاصی به ویژه در کودکان است تا حدودی نزدیک به نتایج حاصل از مطالعه حاضر است. همچنین در بررسی دیگر نهروانیان و همکاران (۱۳۹۰) انگل کریپتوسپورییدیوم را در ۴۲۰ نفر از مبتلایان به گاستروآنتریت در شهرستان‌های غرب استان مازندران مشاهده نکردند (۱۰). بنابراین میزان شیوع کریپتوسپورییدیوم در کشور ما کمتر از ۵ درصد می‌باشد در مطالعه حاضر نیز شیوع کریپتوسپورییدیوم ۲/۳ درصد می‌باشد. از آنجایی که استان مازندران دارای آب و هوای معتدل و مناسب برای بقاء انگل می‌باشد، دلیل شیوع پایین را می‌توان به دلیل بهبود وضعیت بهداشتی، جمعیت مورد مطالعه، تعداد نمونه‌ها، تماس کمتر با حیوانات به‌خصوص حیوانات اهلی دانست. نتایج گزارش شده مطالعات در سایر مناطق دنیا نیز تفاوت در میزان شیوع را در ابتلاء به انگل کریپتوسپورییدیوم از ۳/۸ درصد تا ۱۷ درصد نشان می‌دهد (۲۷-۲۳).

مطالعات انجام گرفته در جهان برای بررسی میزان شیوع کریپتوسپورییدیوم تا حدودی بیشتر از مطالعات انجام شده در ایران می‌باشد. احتمالاً یکی از دلایل شیوع پایین کریپتوسپورییدیوم در جوامع انسانی مازندران، میزان پایین آلودگی در حیوانات باشد که متأسفانه مطالعات کافی در این زمینه انجام نشده است. همچنین بالا رفتن سطح سواد، بهداشت جامعه و استفاده بیشتر از آب تصفیه شده نسبت به گذشته و با توجه به این که سازمان بهداشت جهانی در سال‌های اخیر ایران را از نظر بهداشتی و اجرای طرح‌های وسیع مانند پزشک خانواده در سراسر کشور در سطح بالایی توصیف نموده است، را می‌توان از دلایل کم شدن میزان شیوع آلودگی‌های انگلی محسوب نمود. در مطالعه حاضر اگر چه میزان ابتلاء به کریپتوسپورییدیوم در دو جنس با هم متفاوت

مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، بیمارستان‌های امام، رازی، بوعلی و مرکز تخصصی طبوبی دانشگاه علوم پزشکی مازندران با ما همکاری نموده‌اند و همچنین از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و همکارانشان تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجویی آقای احسان احمدپور می‌باشد.

عمومی و لاغری حیوان منجر می‌شود که از نظر ضرر و زیان و اهمیت اقتصادی مورد توجه می‌باشد.

سپاسگزاری

از همه همکاران و افرادی که در انجام مراحل مختلف این تحقیق در دانشکده پزشکی در گروه انگل‌شناسی و

References

1. Dawsont D. Food borne protozoan parasites. International Journal of food Microbiology 2005; 103(2): 207-227.
2. Griffiths JK. Human cryptosporidiosis; epidemiology, transmission; clinical disease, treatment, and diagnosis. Adv Parasitol 1998; 40: 37-85.
3. Mosier DA, Oberst RD. Cryptosporidium a global challenge. Ann N Y Acadsci 2000; 916: 102-111
4. Current WL, Carcia IS. Cryptosporiosis. Clin Microbial Rev 1991; 4(3): 325-358.
5. Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. Microbes Infect 2002; 4(10): 1047-1058.
6. Feyer R. Cryptosporidium; A water-born zoonotic parasite. Vet Parasitol 2004; 126 (1-2): 37-56.
7. Xiaol L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, et al. Identification of 5 types of cryptosporidium parasites in children in Lima peru. J Infect Dis 2001; 183(3): 492-497.
8. Egyed Z, Sreter T, Varga I. Characterization of cryptosporidium spp-recent developments and future needs. Vet Parasitol 2003; 111 (2-3): 103-114.
9. Roy SL, DeLong SM, Stenzel SA, Shiferaw B, Roberts JM, Khalakdina A, et al. Risk factor for sporadic cryptosporidiosis among immunocompetent person in the United States. J Clin Microbial 2004; 42(7): 2944-2951.
10. Nahrevanian H, Azarinoosh SA, Esfandiari B, Amirkhani A, Ziapoor SP, Shadifar M. The frequency of cryptosporidiosis among gastroenteric patients in western cities of Mazandaran Province (2007-2009). J Qazvin Univ Med Sci 2011; 1(58): 78-86(Persian).
11. Keshavarz A, Athari A, Houghi A, Kazami B, Abadi A, Hoseini N, et al. Genetic characterization of cryptosporidium SPP. Among children with Diarrhea in Tehran and Qazvin province; Iran. Iran J Parasitol 2008; 3(3): 30-36.
12. MCManus DP, Bowels J. Molecular genetic approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematic. Int J Parasitol 1996; 26: 687-704.
13. Azami M, Dorostkar Moghaddam D, Salehi R, Salehi M. The identification of cryptosporidium species and genotypes in isfahan.Iran by PCR-RFLP analysis of the 18 s rRNA gene. Molecul Biol 2007; 41(5): 815-856.
14. Hamedi Y, Safa O, Haidari M. Cryptosporidium infection in diarrheic children in southeastern Iran. Pediatr Infect Dis J 2005; 24(4): 86-68.
15. Afshari Safavi E, Reza Mohammadi GH, Naghibi A, Rad M. Prevalence of Cryptosporidium spp. infection in some dairy

- Herds of Mashhad (Iran) and its association with diarrhea in newborn calves. *Comp Clin Pathol* 2011; 20: 103-107.
16. Fallah S, Mahdavi-poor B, Jamali R, Nahavidi KH, Asgharzadeh M. Molecular characterization of cryptosporidium isolates from cattle in a slaughterhouse in Tabriz, north western Iran. *Journal of Biological Sciences* 2008; 8(3): 639-643.
17. Sharif M, Ziaei H, Gholami Sh. Study on prevalence rate of Cryptosporidium in patients receiving immunosuppressive drugs. *Journal of Medical Faculty Guilan University of Medical Sciences* 2004; 13(51): 16-22 (Persian).
18. Ghorbannia Delavar A, Nahrevanian H, Assmar M, Amirkhany A, Esfandiary B. Frequency of Cryptosporidiosis, Isosporiasis and other enteropathogenic parasites in gastroenteric patients (Babol and Babolsar; 2005-2006). *J Babol Univ Med Sci* 2008; 10(2): 56-67 (Persian).
19. Nahrevanian H, Assmar M, Gorbani SM. A study on cryptosporidiosis among patient with acquired immunodeficiency in the Great Tehran. *J Sch Public Heath Inst Public Health Res* 2005; 3(2): 77-86 (Persian).
20. Fayer R, Unger BLP, Upton SJ. Epidemiology of cryptosporidium Transmission, detection and identification. *Int J Parasitol* 2000; 30(12-13): 1305-1322.
21. Gholami Sh, Sharif M, Mobedi I, Ziaei H, Kyanyan H. Intestinal Protozoan Infections in cattle breeders in rural regions of Mazandaran province in 2003. *J Mazand Univ Med Sci* 2005; 15(45): 53-60 (Persian).
22. Khalili B, Mardani M. Frequency of cryptosporidium. And risk factors related to cryptosporidiosis in under 5-year old hospitalized children due to diarrhea. *Iran J Clin Infect Dis* 2009; 4(3): 151-155.
23. Khalili B, Shahabi GH, Besharat M, Mardani M, Hart LA. Determining the prevalence of Cryptosporidium and measuring of micronutrients in Cryptosporidiosis among children under 5 years in shahrekord. *Journal of Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services* 2006; 3(30): 5 (Persian).
24. Lee MY, Cho EJ, Lee JH. A survey of cryptosporidium oocysts in water supplies during a lo-year period (2000-2009) in Seoul. *Korean Parasitol* 2010; 48(3): 219-224.
25. Banawat EB, Egah DZ, Audu ES, onile BA, Daton G PR. Cryptosporidium infection in undernourished children with HIV/AIDS in Dos, Nigeria. *Annal Africa Med* 2004; 3(2): 80-82.
26. Samie A, Bwssong PO, Obl CL, Sevilaja JEAD, Stroups S, Houpt E, et al. Cryptosporidium species: preliminary description of the prevalence and genotype distribution among school children and hospital patients in vendavegion limppopo provience south Africa. *Expr Parasitol* 2006; 114(4): 314-322.
27. Abdel-Messih IA, Wierzba TF, Abu-Elyazeed R, Ibrahim AF, Ahmad SF, Kamal K, et al. Diarrhea associated with cryptosporidium parvum among young children of the Nile River Delta in Egypt. *J Trop Pediatr* 2005; 51(3): 154-149.