● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره دهم، شمارهٔ ۲، خرداد – تیر ۱۳۸۷، صفحه ٦١-٥٦

# فراوانی کریپتوسپوریدیوزیس، ایزوسپوریازیس و سایر انگلهای پاتوژن در مبتلایان به گاستروانتریت (بابل و بابلسر، ۵-۱۳۸۴)

**اعظم قربان نیا دلاور[*1]، حسین نهروانیان[2]، مهدی آسمار[3]، عارف امیرخانی[4]، بهزاد اسفندیاری[5]**

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد آیت اله آملی۲- استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی انستیتو پاستور ایران
۳- استاد گروه انگل شناسی و قارچ شناسی انستیتو پاستور ایران ۴- دانشیار گروه اپیدمیولوژی انستیتو پاستور ایران ۵- دامپزشک

**سابقه و هدف:** کریپتوسپوریدیوم و ایزوسپورا جزء انگل‌های فرصت‌طلب می‌باشند که در افراد با ایمنی کامل ایجاد گاستروانتریت خود محدود شونده و مزمن و در افراد با نقص ایمنی ایجاد گاستروانتریت حاد می‌کنند که می‌تواند منجر به مرگ شود. این مطالعه جهت تعیین فراوانی این ۲ انگل و سایر انگل‌های پاتوژن در بیماران گاستروانتریت در شهرستان‌های بابل و بابلسر انجام شد.

**مواد و روشها:** این مطالعه توصیفی مقطعی از تیر ۱۳۸٤ تا تیر ۱۳۸۵ روی ۸۰۲ نمونه مدفوع از بیماران مبتلا به گاستروانتریت از میان کل نمونه‌های مدفوع موجود در ۷ مرکز درمانی و بهداشتی در ۲ شهرستان بابل و بابلسر با نمونه برداری خوشه‌ای- تصادفی انجام شد. نمونه‌های مدفوع در بافرگلیسرین تثبیت و پس از تغلیظ با ۳ روش مستقیم، ذیل نلسون اصلاح شده، اورامین فنل فلورسانس بررسی شد.

**یافته‌ها:** میزان شیوع کل آلودگی‌های انگلی ۳/٤٪ در این ۲ شهرستان بوده که بیشترین موارد انگلی مربوط به انگل ژیاردیا (۲/۷٪) و پس از آن انگل‌های آنتامباکلی (۰/٤٪) و آسکاریس (۰/۱۲٪) بوده است. میزان شیوع کریپتوسپوریدیوزیس و ایزوسپوریازیس در نمونه‌های فوق به ترتیب ۰/۱۲٪ و صفر بود.

**نتیجه‌گیری:** به علت عدم انجام روش‌های تشخیصی برای اسیست‌های دو تک یاخته فوق‌الذکر در آزمایشات روتین مدفوع در آزمایشگاههای مراکز بهداشتی و عدم درخواست آزمایشات فوق توسط پزشکان و کشنده بودن آلودگی به کریپتوسپوریدیوم در مبتلایان به نقص ایمنی اهمیت تشخیص بهنگام کریپتوسپوریدیوز و رعایت بهداشت فردی و غذایی در این گروه مورد تأکید قرار می‌گیرد.

**واژه های کلیدی:** *کریپتوسپوریدیوم، ایزوسپورا، گاستروانتریت، بابل، بابلسر.*

**دریافت: ۸۵/۷/۱، ارسال جهت اصلاح: ۸۵/۱۰/۶، پذیرش: ۸۷/۴/۱۹**

## مقدمه

کریپتوسپوریدیم و ایزوسپورا جزء تک یاخته‌های فرصت‌طلب و زئونوز با انتشار جهانی محسوب می‌گردند که در حاشیه میکروویلی‌های روده ساکن شده و باعث ایجاد گاستروانتریت خود محدود شونده و مزمن در افراد با ایمنی کامل و اسهال حاد آبکی در افراد با نقص سیستم ایمنی شده که می‌تواند منجر به مرگ شود. علائم بالینی بیماری علاوه بر اسهال عبارتنداز: تهوع، استفراغ، کرامپ‌های شکمی و تب (۳-۱). در افراد با ایمنی کامل این گاستروانتریت در طول ۱۴-۱ روز بهبود پیدا می‌کند و اسهالی شبیه به اسهال وبایی ولی با شدت کمتر ایجاد می‌کند. در افراد با نقص ایمنی از دست دادن آب بدن بسیار شدید بوده وگاهی تا ۱۷ لیتر در روز گزارش شده است و همین امر ممکن است موجب مرگ بیمار شود (۵و۴). عفونت در انسانها به عنوان یک بیماری قابل انتقال از حیوان به انسان مطرح است که اغلب در نتیجه تماس با حیوانات میزبانی که اسیتها را دارند منتقل می‌شود. با این حال امروزه روشهای انتقال دیگری مثل تماس شخص با شخص و از طریق آب و غذای آلوده هم مطرح است (۵و۴). یکی از حیوانات مهم در انتقال

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.2.8.8 ]

کریپتوسپوریدیوم گوساله‌ها می‌باشد که می‌تواند کیست این انگل را به انسان منتقل کند (۸-۶). فراوانی کریپتوسپوریدیوم در دنیا بین ۳-۱٪، در کشورهای پیشرفته و آمریکای شمالی ۱٪، در آسیا حدود ۵٪ و در آفریقا ۱۰٪ تخمین زده می‌شود. همچنین عامل بروز اسهال در ۲۰-۱۰ درصد مبتلایان به ایدز در کشورهای صنعتی می‌باشد (۱۱و۱۰). استان مازندران به دلیل رطوبت بالا، شرایط اقلیمی، فراوانی آبهای سطحی، دارا بودن دامپروری‌های آزاد و صنعتی و بارندگی زیاد توانایی بالقوه در ابتلا به بیماریهای زئونوز و انگل‌های پاتوژن را دارا می‌باشد (۱۰). با توجه به افزایش بیماریهای نقص ایمنی چه بصورت آشکار و چه غیرآشکار، انجام چنین مطالعاتی با رویکرد اپیدمیولوژیک یک ضرورت است.

## مواد و روشها

این مطالعه توصیفی مقطعی بر روی ۸۰۲ نفر از بیماران مبتلا به گاستروانتریت که در طول یکسال (تیر ۸۴ تا تیر ۸۵) به ۷ مرکز درمانی و بهداشتی شهرستانهای بابل و بابلسر مراجعه داشته‌اند انجام شده است. ابتدا بیمارانی را که با تشخیص پزشک معالجشان دارای گاستروانتریت بوده انتخاب و پس از پر کردن پرسشنامه، نمونهٔ مدفوع در بخش انگل‌شناسی پژوهشکده منطقه شمال کشور با استفاده از فیکساتور (بافرگلیسرین =۸/۵ سی‌سی PBS در ۱۰۰۰ سی سی آب‌مقطر که به ازای هر ۱۰۰ سی سی، ۲ سی‌سی فرمل تجارتی و ۱۰ سی‌سی گلیسرین به آن افزوده شد) تثبیت گردید که بعدا درون پاراسب ریخته و پاراسب‌ها سانتریفوژ شد. از رسوب ۳ گسترش تهیه شد که یکی به صورت مستقیم برای دیدن انگل‌های پاتوژن در زیر میکروسکوپ و دو گسترش دیگر با متانول ۹۶٪ فیکس شد. با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی ذیل‌نلسون اصلاح شده و اورامین فنل‌فلورسانس مطالعه ۲ انگل کریپتوسپوریدیوم و ایزوسپورا صورت گرفت.

**روش رنگ‌آمیزی ذیل‌نلسون Ziehl Nelson Modified یا اسید فاست (Acid fast staining (AFS):**

برای این روش رنگ‌آمیزی از گسترشهای فیکس شدهٔ قبلی با متانول ۹۶ درصد استفاده شد. سپس کاغذ صافی به اندازهٔ گسترش بریده و روی گسترش در لام قرار داده شد. سپس رنگ کربول فوشین را روی آن ریخته و لام را با استفاده از پنس روی شعله ملایم نگه داشته تا با استفاده از حرارت رنگ بخار شود (۲ تا ۵ دقیقه). مرحلهٔ بعد شستشو با آب و رنگبری با اسید الکل ۳٪ تا ناپدید شدن رنگ قرمز فوشین بود. سپس لام را با آب شسته و بمدت ۵ دقیقه برای رنگ آمیزی زمینه مالاشیت گرین ۵٪ روی آن ریخته شد. پس از شستشو با آب شیر و خشک کردن لامها در حرارت آزمایشگاه، لامها در زیر میکروسکوپ نوری با استفاده از لنز ۱۰۰ مطالعه گردید (۱۳و۱۲و۶و۵).

**روش اورامین فنل فلوئورسانس:**

Auramin Phenol Fluorescence (APF):

برای این روش رنگ‌آمیزی هم از گسترشهای فیکس شدهٔ قبلی با متانول ۹۶ درصد استفاده شد. سپس سطح لام بمدت ۱۵ دقیقه با رنگ اورامین O پوشانده و پس از رنگ‌آمیزی و بعد از شستشوی لام با آب، با استفاده از اسید الکل ۳٪ عمل رنگبری لام تا ناپدیدشدن رنگ زرد اورامین ادامه یافت. سپس بعد از شستشو با آب، سطح لام به مدت ۱ تا ۳ دقیقه با پرمنگنات پتاسیم ۰/۵٪ برای انجام رنگ‌آمیزی زمینه پوشانده شد. پس از این مدت لام با آب شسته و در حرارت آزمایشگاه خشک گردید. بعد روی لام ۱ قطره بافر گلیسیرین ریخته تا لامها مونت شود و روی آن لامل گذاشته شد. روی لامل هم یک قطره، آب مقطر ریخته و بعد لامها در زیر میکروسکوپ فلوئورسانس مشاهده گردید (۱۵و۱۴و۱۲و۶). کارهای آماری این مطالعه را با استفاده از نرم افزار Epi info و به کمک آزمون های نسبت انجام شد.

## یافته‌ها

از ۸۰۲ نفر بیمار مبتلا به گاستروانتریت، ۴۵۶ نفر (۵۶/۸٪) مذکر و ۳۴۶ نفر (۴۳/۲٪) مؤنث بودند. بیشترین مراجعات مربوط به بیمارستان امیرکلا بابل (۲۸/۸٪) و کمترین مربوط به بیمارستان یحیی نژاد (۹٪) بود. از طرف دیگر ۶۶۴ نفر (۸۲/۸٪) از مراجعین مربوط به شهرستان بابل و ۱۳۸ نفر (۱۷/۲٪) مربوط به شهرستان بابلسر بوده است. کسانی که علائم بالینی گاستروانتریت را داشتند آلودگی انگلی بیشتری نسبت به افرادی که فاقد آن علائم بودند داشتند ($p<0/05$). از طرف دیگر بیشترین شیوع آلودگی برحسب انواع علائم بالینی درکسانی بوده که دارای اسهال مزمن بوده‌اند که ۵۱/۸٪ موارد مثبت را شامل شده است و سپس بیمارانی که در وضعیت اسهال حاد به سر می بردند و با علائم دل‌پیچه و شکم درد به مراکز درمانی مراجعه داشتند. در بین موارد مثبت انگلی هیچگونه

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.2.8.8 ]

موردی با علائم بالینی خون و بلغم مشاهده نشد. در بیماران این مطالعه کریپتوسپوریدیوم ۰/۱۲٪، ژیاردیالامبلیا ۲/۷٪، آنتامبا کلی ۰/۴٪ و آسکاریس ۰/۱۲٪ بود. مذکرها نسبت به جنس مؤنث دارای آلودگی انگلی بیشتری بوده‌اند. ضمنا رده سنی (۱۰-۰) سال بیشترین موارد آلودگی انگلی را داشتند. از نظر آب آشامیدنی، ۸۸/۹٪ موارد مثبت آلودگی انگلی مربوط به کسانی بوده که از آب تصفیه شده استفاده می‌کردند و بقیه موارد (۱۱/۱٪) از آب غیرتصفیه شده استفاده می‌کردند. به لحاظ فصول سال علی رغم اینکه بیشترین موارد نمونه‌ها مربوط به تابستان بوده، اما بیشترین میزان شیوع آلودگی انگلی مربوط به فصل بهار (۷/۲٪) بود. همچنین افراد مبتلا، بیشترین تماس را با مرغ و خروس داشته و تماس با گاو و گوساله در جامعه مورد بررسی بسیار پایین بوده است.

## بحث و نتیجه‌گیری

فراوانی کریپتوسپوریدیم و ایزوسپوریازیس در این مطالعه به ترتیب ۰/۱۲٪ و صفر می باشد. میزان شیوع دو انگل کریپتوسپوریدیم و ایزوسپورا نسبت به سایر انگل ها در جامعه نرمال پایین است و فقط در جوامعی که موارد ابتلا به نقص ایمنی در آن بالا باشد شیوع بالاست. بطوریکه کریپتوسپوریدیوم عامل بروز اسهال در ۱۰ تا ۲۰ درصد مبتلایان به ایدز در کشورهای صنعتی می‌باشد (۱۲).

مصرف آب آلوده به کیست انگل یکی از فاکتورهای بسیار مهم در انتقال بیماری کریپتوسپوریدیوزیس می‌باشد. بطوریکه در سال ۱۹۹۳ یک اپیدمی وسیع کریپتوسپوریدیوزیس بدلیل مصرف آب آلوده به کیست انگل کریپتوسپوریدیم رخ داد. در مطالعه حاضر یکی از دلایل پایین بودن آلودگی به این انگل‌ها، مصرف آب تصفیه شده در بیشتر نقاط می‌باشد، بطوریکه تعداد بسیار کمی از آب غیر تصفیهٔ استفاده می‌کردند که آنها هم بیشترشان آب را بصورت جوشیده مصرف می‌کردند. یکی دیگر از موارد مهم آلودگی به کریپتوسپوریدیوم تماس با گاو و گوساله و همچنین گوسفند است که جزء ناقلین مهم منتقل کنندهٔ بیماری کریپتوسپوریدیوزیس می‌باشند. بطوریکه ۱۵٪ تا ۵۶٪ از گوساله‌ها کریپتوسپوریدیوم را از مدفوع خود خارج می‌کنند (۱۲و۷و۴). در بچه‌های یک مدرسه روستایی در آمریکا بخاطر تماس مستقیم یا غیرمستقیم با گوساله‌ها، کریپتوسپوریدیوم پاروووم شیوع پیدا کرده بود (۶).

نوری و همکاران میزان شیوع کریپتوسپوریدیوزیس را در بین چوپانان ۱۳٪ اعلام داشتند و علت را تماس با گاو و گوسفند آلوده اعلام کردند (۱۲). در پاکستان شیوع کریپتوسپوریدیوم ۱۰/۴٪ گزارش شد که بعلت تماس با گوساله‌ها و خاک آلوده بود. در جمعیت تحت بررسی بیشترین تماس با مرغ و خروس بوده و تماس با گاو و گوساله بسیار پایین و چند مورد بیشتر نبوده است. در این مطالعه، برخلاف انتظار، میزان شیوع آلودگی انگلی در ۲ شهرستان بابل و بابلسر بسیار پایین (۳/۴٪) بوده که در مقایسه با سایر کشورهای در حال توسعه مثل کشور کویت با شیوع ۶۷٪ و شیانگ می کشور تایلند با شیوع ۴۸/۷٪ مطابقت ندارد.

همچنین در گزارشی که در سال ۱۳۷۸ در ۶۲۵۲ نفر از دانش‌آموزان ابتدایی استان مازندران انجام گرفته میزان شیوع آلودگی انگلی را در استان مازندران ۵۷/۱٪ بیان کرده است. عدم رعایت بهداشت فردی و گروهی و مصرف آب غیرتصفیه و غذای آلوده از علل مهم در این زمینه می باشند (۹). البته با توجه به اینکه نمونه‌های جمعیت مورد بررسی ما محدود به گاستروانتریت افراد بوده، افراد با گاستروانتریت انگلی نسبت به گاستروانتریت باکتریایی و ویروسی کمتر برای تشخیص و درمان به پزشک مراجعه می‌کنند (۱۶).

همچنین چون هدف این مطالعه بیشتر تشخیص کریپتوسپوریدیوم و ایزوسپورا بوده است و از ۲ روش اورامین فنل فلورسانس و ذیل نلسون اصلاح شده برای تشخیص این ۲ انگل استفاده شده است و در کنار آن، انگل‌های دیگر فقط با روش عمومی Direct Method بررسی شدند، لذا شاید یکی دیگر از دلایل کم بودن میزان شیوع آلودگی انگلی در جمعیت مورد بررسی باشد. همچنین بالا رفتن سطح سواد و بهداشت جامعه، بهسازی شرایط زیست محیطی (دامپروری‌ها بیشتر بصورت مکانیزه و بهداشتی) و استفاده بیشتر آب تصفیه شده نسبت به گذشته هم جزء دلایل کم شدن میزان شیوع آلودگی انگلی می باشد.

گروه سنی ۰ تا ۱۰ سال بیشترین موارد آلودگیهای انگلی را داشتند و از آنجاییکه کودکان و خردسالان جزء گروه های پر خطر محسوب شده و از نظر فعالیت جسمانی، تحرک، تماس با محیط آلوده و افراد مبتلا، در معرض خطر بیشتری قرار دارند، لذا آلودگیهای انگلی عموماً در این گروه بیشتر دیده می شود. این یافته ها با نتایج سایر مطالعات انگل شناسی همسو بوده و نظر آنها

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.2.8.8 ]

را تأیید می کند (۱۷و۸). همچنین به علت عدم انجام روشهای تشخیصی برای السیستهای کریپتوسپوریدیوم و ایزوسپورا در آزمایشات روتین مدفوع در آزمایشگاههای مراکز درمانی و عدم درخواست آزمایشات فوق توسط پزشکان و کشنده بودن آلودگی به کریپتوسپوریدیم در مبتلایان به نقص ایمنی اهمیت تشخیص بهنگام کریپتوسپوریدیوز و رعایت بـهداشت فـردی و غـذایی در این گروه مورد تاکید است.

## تقدیر وتشکر

از ریاست، و پرسنل زحمتکش پژوهشکده منطقه شمال کشور بخصوص بخش انگلی‌شناسی پژوهشکده بویژه از خانمها، امیربزرگی و منصوری تشکر و قدردانی می‌گردد.

**********

## References

1. Clark P. New insights into human cryptosporidiosis. Clin Microbiol Rev 1999; 12(4): 554-63.

2. Deng M, Rutherford MS, Abrahamsen MS. Host intestinal epithelial response to cryptosporidium parvum. Adv Drug Deliv Rev 2004; 56(6): 869-84.

3. EI Mansoury ST, Abou EI Naga IF, Negm AY, Amer EE. Influence of temperature and salinity on the viability and infectivity of giardia lamblia and cryptosporidia parvum. J Egypt Soc Parasitol 2004; 34(1): 161-72.

4. Goh S, Reacher M, Casemore DP, et al. Sporadic cryptosporidiosis, North Cumbria, England 1996-2000. Emerg Infect Dis 2004; 10(6): 1007-15.

5. Brown NF. Basic clinical parasitology, 6th ed, Norwalk CT, Appleton & Lang 2000; pp: 232-4.

6. Joachim A. Is cryptosporidium a zoonotic agent? Wien Klin Wochenschr 2004; 116 (Supp14): 2-6.

7. Chermit KD, Bofaso M. Cryptosporidiosis is a world wide disease in animals and human: Translated by Baghbanzadeh Rasouli. Islamic Committee of Veterinary Science faculty, Tehran University of Medical Sciences 2000; pp: 54-83.

8. Sharol R. Risk factors for sporadic crypotsporidiosis among I mm persons in the United States. Clin Infect Dis 2005; 25 (4): 32-41.

9. Assmar M. Prevalence of intestinal parasitic in primary school students in Mazandaran province. J Infect Dis Trop Med 1999; 3(9): 53-9.

10. Tzipori S, Griffiths JK. Natural history and biology of crypotsporidium parvum. Adv Parasitol 1998; 40: 5-36.

11. Marquard T, Demaree C. Parasitology vector biology and Printer in the USA. Parasitol Res 2004; 42 (3): 157-62.

12. Nahrevanian H. Prevalence of cryptosporidiosis among HIV- Positive individuals in Tehran. Medical Parasitology M.S thesis, Tehran University 1993; pp: 2068.

13. Laupland KB, Church DL. Population-based laboratory surveillance for Giardia sp. and cryptosporidium sp. infections in a large Canadian health region. BMC Infect Dis 2005; 5: 72.

14. Saraf S. Prevalence of cryptosporidiosis among young children and HIV positive children, medical parasitolgy M.S thesis, Shahid Beheshty university 1992; 135.

15. Arjmandzadeh Kh. Comparison of 12 techniques for detection of cryptosporidium oocysts. Arch Inst RAZI 2002; 11(33): 31-40.

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.2.8.8 ]

16. Zali MR, Mehr AJ, Rezaian M, Meamar AR, Vaziri S, Mohraz M. Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV-positive individuals in Iran. Jpn J Infect Dis 2004; 57(6): 268-70.

17. Ribes JA, Seabolt JP, Overman SB. Point prevalence of cryptosporidium, cyclospora and Isospora infections in patients being evaluated for diarrhea. Am J Clin Pathol 2004; 122(1): 28-32.

*آدرس نویسنده مسئول: آمل، جاده قدیم آمل- بابل، دانشگاه آزاد اسلامی آیت اله آملی، تلفن: ۳-۲۵۵۲۱۵۰-۰۱۲۱ .

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.2.8.8 ]

# FREQUENCY OF CRYPTOSPORIDIOSIS AND ISOSPORIASIS AND OTHER ENTEROPATHOGENIC PARASITES IN GASTROENTERITIC PATIENTS (BABOL AND BABOLSAR; 2005-2006)

**A. Ghorbannia Delavar (MSc) [1*], H. Nahrevanian (PhD) [2], M. Assmar (PhD)[3], A. Amirkhany (PhD)[4], B. Esfandiary (PhD)[5]**

*1 [*]MSc in Microbiology, Azad University of Ayatolah Amoli, Amol, Iran, azam_delavar@yahoo.com, 2. Assistant Professor of Parasitology, Pasture Institute of Iran, Tehran, Iran, 3. Professor of Parasitology, Pasture Institute of Iran, Tehran, Iran, 4. Associate Professor of Epidemiology, Pasture Institute of Iran, Tehran, Iran, 5. Veterinarian*

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Cryptosporidium and isospora are opportunistic and zoonotic protozoan parasites and they can cause chronic and self-limiting gastroenteritis in immunocompetent individuals and acute gastroenteritis in immunocompromised patients. The aim of this study was to determine the frequency of cryptosporidium and isospora and other enteropathogenic parasites in patients with gastroenteritis in Babol and Babolsar, Mazandaran, Iran.

**METHODS:** This descriptive and cross sectional study was performed on 802 stool samples of gastroentritic patients with cluster random sampling in 7 health and treatment centers of Babol and Babolsar from June 2005 to June 2006. Stool samples were collected, fixed and examined by direct method (DM) for detecting pathogen parasites, acid- fast staing (AFS) and auramin phenol flourescence (APF) for detecting two cryptosporidium and isospora parasites.

**FINDINGS:** Prevalence rate of parasitic infections was 3.4%, and the most rates of parasitic infections were G. lamblia 2.7%, E. coli 0.4% and A. lumbricoides 0.12%, respectively. The prevalence rate of cryptosporidiosis and isosporiasis in above samples was 0.12% and 0, respectively.

**CONCLUSION:** Detection of cryptosporidium and isospora is uncommon in routine stool examinations in most laboratories and there is not also request to examine sporozoan parasites in stool. Due to cryptosporidiosis in immunocompromised patients, the need for establishment of diagnostic methods is emphasized.

**KEY WORDS:** *Cryptosporidium, Isospora, Gastroenteritis, Babol and Babolsar.*

***Journal of Babol University of Medical Sciences 2008; 10(2): 56-61***

*Received: September 23rd 2006, Revised: December 26th 2006, Accepted: July 9th 2008*

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.2.8.8 ]