

بررسی شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در دانش‌آموزان مدارس ابتدایی منطقه غرب تهران

سال ۷۹-۱۳۷۸

چکیده

کریپتوسپوریدیوزیس یکی از علل اسهال‌های ناتوان‌کننده در جهان و در بین اطفال است و شیوع آن در کودکان بیش از بزرگسالان می‌باشد. این پژوهش در جهت بررسی شیوع این بیماری در کودکان دبستانی ۶-۱۲ ساله در غرب تهران و عوامل مؤثر بر آن انجام شد. در این مطالعه از ۳ نمونه مدفوع در فرمالین ۱۰٪ استفاده شد که بطور تصادفی از ۵۰۰ دانش‌آموز جمع‌آوری گردیده و به آزمایشگاه انتقال داده شده بود سپس با روش غلیظ کردن و رنگ‌آمیزی ذیل نلسون (کاینون) نمونه‌ها رنگ‌آمیزی شدند و بررسی میکروسکوپی از آنها به عمل آمد. نتایج نشان داد که شیوع ابتلا به کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان دبستانی ۱٪ می‌باشد. با توجه به یافته‌های به دست آمده مشاهده شد که بین جنس و میزان ابتلا رابطه معنی‌داری وجود ندارد اما سواد پدر و میزان ابتلا رابطه معنی‌داری با هم داشتند. با توجه به شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در بین اطفال دبستانی آگاهی در زمینه اقدامات بهداشتی و پیشگیرانه در سطح مدارس و شهر برای جلوگیری از بروز این بیماری ضروری به نظر می‌رسد.

*دکتر فاطمه ملکی I

صغورا صادق‌حسینی II

کلیدواژه‌ها: ۱- کریپتوسپوریدیوزیس ۲- کریپتوسپوریدیوم در کودکان ۳- انگل‌های روده‌ای

مقدمه

رابطه با اسهال در انسان محسوب می‌شود (۲). کریپتوسپوریدیوزیس به آلودگی انگلی ناشی از کوکسیدیاهایی از جنس کریپتوسپوریدیوم گفته می‌شود که در طیف گسترده‌ای از مهره‌داران شامل پستانداران، ماهیها، خزندگان و پرندگان رخ می‌دهد (۳).

کریپتوسپوریدیوزیس یک عفونت روده‌ای - معده‌ای ناشی از تک‌یاخته کریپتوسپوریدیوم است که همراه با اسهال می‌باشد و شیوع جهانی دارد اما میزان آن در اطفال زیر ۵ سال در کشورهای توسعه یافته بیشتر است.

این بیماری یک مشکل جدی در بهداشت عمومی بوده و در حال حاضر بطور گسترده به عنوان یکی از علل گاستروآنتریت عفونی حاد خودبخود محدود شونده در

امروزه در اغلب کشورهای دنیا گاستروآنتریت و اسهال‌های حاد یکی از علل مهم مراجعه پزشکی محسوب می‌شوند. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی طی یک سال ۴/۶۰۰/۰۰۰ تا ۶/۰۰۰/۰۰۰ مورد مرگ ناشی از اسهال در آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین رخ می‌دهد این میزان در آمریکا بیش از ۱۰/۰۰۰ مورد گزارش شده است (۱). در دو دهه اخیر چند جنس مختلف از تک‌یاخته‌های روده‌ای به عنوان پاتوژنهای جدید انسانی معرفی شده‌اند که علاوه بر افراد با نقص سیستم ایمنی، در افرادی که از نظر سیستم ایمنی طبیعی هستند نیز می‌توانند باعث بروز اسهال شوند. از جمله این پاتوژنهای جدید کریپتوسپوریدیوم پاروم است که در حال حاضر یکی از چهار پاتوژن مهم روده‌ای در

این پژوهش تحت حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران انجام شده است (شماره: ۳۱۶).

I) دانشیار گروه انگل‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، بزرگراه شهید همت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران (*مؤلف مسئول).

II) مربی گروه انگل‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران.

قرار گرفت. همچنین با هماهنگی مسئولان مدارس جلساتی با والدین دانش‌آموزان گذاشته شد که در این جلسات والدین با انگلهای روده‌ای از جمله کریپتوسپوریدیوم، علائم و پیشگیری از این آلودگی آشنا می‌شدند سپس روش جمع‌آوری نمونه برای والدین توضیح داده می‌شد. برای بررسی انگلهای روده‌ای ابتدا از تمام نمونه‌ها یک لام مستقیم با رنگ‌آمیزی موقت تهیه می‌شد. پس از غلیظ کردن نمونه‌ها با روش فرمالین اتیل استات، از رسوب فرمالین اتیل استات گسترش نازکی تهیه شده و رنگ‌آمیزی کاینیون اسید فاست صورت می‌گرفت.

روش انجام کار بدین ترتیب بود که در ابتدا پس از قرار دادن یک قطره مرتیولات روی لام و ۱ میلی‌گرم از نمونه مدفوع در داخل آن به صورت سوسپانسیون در آورده می‌شد سپس یک لام روی آن گذاشته شده و با عدسی ۱۰ و ۴۰ بررسی میکروسکوپی صورت می‌گرفت و در مرحله بعد نمونه‌ها غلیظ می‌شدند. بدین ترتیب که: (۱) ابتدا در داخل یک لیوان ۱ بار مصرف مقدار ۱۰ سی‌سی فرمالین قرار داده می‌شد و پس از وارد کردن ۱ گرم از نمونه به آن به صورت سوسپانسیون در آورده می‌شد. (۲) در داخل یک لوله مدرج سانتیفرژ ۷ سی‌سی از نمونه از یک گاز دو لایه عبور داده می‌شد و سپس ۳ سی‌سی اتیل استات به آن اضافه می‌گردید و پس از بستن درب لوله با یک چوب پنبه تکان داده می‌شد. (۳) نمونه با دور ۲۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتیفرژ و سپس مایع رویی آن خالی می‌شد. (۴) رسوب باقیمانده در ۸ سی‌سی فرمالین ۱۰٪ حل و خوب مخلوط شده و پس از عبور دادن از یک گاز دو لایه سانتیفرژ و مایع رویی آن خالی می‌شد سپس رسوب حاصل برای رنگ‌آمیزی مورد استفاده قرار می‌گرفت. (۵) از رسوب باقیمانده مقدار ۵۰ میکرولیتر روی لام تمیز پخش و یک گسترش نازک تهیه می‌گردید سپس با یک قلم الماس، شماره نمونه روی لام نوشته می‌شد. (۶) برای تأیید کیفیت روش فرمالین اتیل استات چون سرعت ته‌نشین شدن بلاستوسیستیس هومینیس با سرعت ته‌نشین شدن کریپتوسپوریدیوم یکسان است در تمام مراحل غلیظ کردن

افراد با سیستم ایمنی کامل و عفونت کشنده در افراد دارای نقص ایمنی محسوب می‌شود (۴). وسعت بیماری بیشتر به وضعیت ایمنی میزبان بستگی دارد بطوری که در اشخاص با ایمنی طبیعی ممکن است به صورت اسهال کوتاه مدت دیده شود که خودبخود بهبود می‌یابد و در بیماران با نقص ایمنی بخصوص افراد مبتلا به ایدز به صورت بیماری شبه وبایی طولانی مدت و تهدید کننده زندگی دیده می‌شود. انگل با مکانیسمهای مختلف موجب بیماری می‌گردد. اغلب مطالعات در مورد این بیماری روی افراد مبتلا به اسهال و مبتلایان به نقص سیستم ایمنی انجام شده است اما در این مطالعه بررسی روی افراد بدون علامت و سالم صورت گرفت.

با توجه به آنکه مطالعات انجام شده در ایران در زمینه شیوع این انگل در انسان اندک بوده و اغلب مطالعات در محدوده بیمارستانی یا روی افراد دچار نقص ایمنی یا مبتلایان به اسهال انجام شده است، این تحقیق صورت گرفت تا نتایج حاصل از آن در کنار مطالعات دیگر بتواند جهت برنامه‌ریزیهای آینده برای کنترل و پیشگیری این بیماری انگلی کمک کننده باشد.

روش بررسی

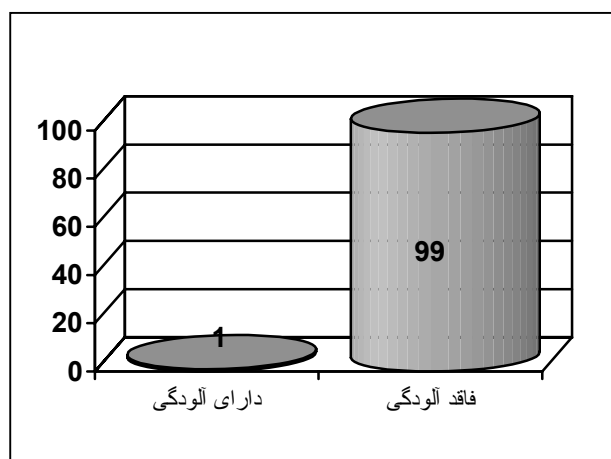
این تحقیق با روش بررسی مقطعی (Cross Sectional) روی دانش‌آموزان مدارس ابتدایی غرب تهران صورت گرفت که با هماهنگی مناطق آموزش و پرورش غرب تهران لیست مدارس تهیه شد سپس به صورت تصادفی تعدادی از مدارس برای نمونه‌گیری انتخاب گردیدند. این نکته حائز اهمیت است که جامعه مورد بررسی از پراکندگی جغرافیایی خوبی برخوردار بوده است (مناطق ۲، ۹ و ۵).

البته تعدادی نیز با این طرح همکاری نکردند که خودبخود از مطالعه حذف شدند. در این مطالعه تعداد ۵۰۰ دانش‌آموز شرکت کردند که از هر کدام ۳ نوبت نمونه مدفوع گرفته شد و از نظر آلودگی به انگل کریپتوسپوریدیوم به طریقه مستقیم و با رنگ‌آمیزی موقت و روش فرمالین اتیل استات و سپس با استفاده از رنگ‌آمیزی کاینیون مورد بررسی

جمع‌آوری مدفوع به همین منظور آماده شده و در اختیار والدین قرار داده شده بود، جمع‌آوری می‌گردید سپس این اطلاعات مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. روشهای تجزیه و تحلیل اطلاعات به صورت پرسش سؤالات (Asking Questions) و آزمون (Testing) انجام شد، اطلاعات به دست آمده از نمونه‌های آزمایش شده شامل پرسشنامه و نتایج حاصل از آزمایشهای مدفوع با روش SPSS گردآوری گردید.

نتایج

در این بررسی ۵۰۰ نمونه (۱۴۹ دختر و ۳۵۱ پسر) مورد بررسی قرار گرفتند که ۵ نمونه آلوده به کریپتوسپوریدیوم بودند میزان شیوع کریپتوسپوریدیوم در دانش‌آموزان ۱۲-۶ ساله با توجه به آزمایش مدفوع، ۱٪ با فاصله اطمینان ۹۵٪ تعیین گردید (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱- توزیع فراوانی افراد آلوده و غیرآلوده به

کریپتوسپوریدیوم در دانش‌آموزان مدارس ابتدایی غرب تهران سال ۷۹-۱۳۷۸ تعداد ۱۰۰ دانش‌آموز از منطقه ۲، ۲۱۵ دانش‌آموز از منطقه ۹ و ۱۸۵ دانش‌آموز از منطقه ۵ مورد بررسی قرار گرفتند و میزان آلودگی در هر یک از مناطق مذکور به ترتیب ۱٪، ۱/۴٪ و ۰/۶٪ به دست آمد. بطور کلی میزان آلودگی در کودکان ۱۲-۶ ساله مناطق غرب تهران ۱٪ بوده است برای جدول فوق آماره فی - دو برابر ۰/۷۳۴ با درجه آزادی ۲ و مقدار احتمال ۰/۶۹ به دست آمد که نشان می‌دهد میزان شیوع در این ۳ منطقه با فاصله اطمینان ۹۵٪

نمونه‌ها یک نمونه حاوی بلاستوسیستیس نیز با نمونه‌ها همراه می‌شد و در صورت دیده شدن بلاستوسیستیس در رسوب نمونه جوابها مورد اطمینان بوده و کار ادامه داده می‌شد برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها محلول رنگ‌آمیزی طبق دستور زیر تهیه می‌گردید: ۱) ۴ گرم فوشین بازیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل مطلق حل می‌شد. ۲) فنل جامد در دمای ۶۰ درجه ذوب می‌گردید. باید به این نکته توجه کرد که دمای بن ماری از ۶۰ درجه بیشتر نشود، چون باعث تخریب ساختمان فنل می‌گردد. ۳) ۸ میلی‌لیتر فنل ذوب شده به رنگ فوشین آهسته آهسته اضافه شده و همزمان رنگ بهم زده می‌شد. ۴) اسید الکل ۲٪ با افزودن ۳ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ به ۹۷ میلی‌لیتر الکل تهیه می‌گردید. ۵) ۵ گرم متیلن بلو به یک لیتر آب مقطر اضافه شده سپس نمونه‌ها به طریق زیر آماده و رنگ‌آمیزی انجام می‌شد: ۱) مقدار ۵۰ میکرولیتر از رسوب فرمالین اتیل استات روی لام پخش و یک گسترش نازک تهیه می‌شد. ۲) لامها به کمک حرارت یا با الکل مطلق فیکس می‌شدند. ۳) رنگ فوشین فنیکه به مدت ۱۵ دقیقه روی لام ریخته می‌شد. ۴) بعد از ۲ بار شستشوی لامها با آب به مدت ۱ دقیقه عمل رنگ بری با اسید الکل صورت می‌گرفت (در این مرحله ممکن است گسترشهای ضخیم‌تر نیاز به زمان بیشتری داشته باشد). ۵) بعد از شستشو با آب متیلن بلو به مدت ۱ دقیقه روی لامها ریخته می‌شد. ۶) پس از شستشو با بزرگنمایی ۱۰۰۰× بررسی میکروسکوپی انجام می‌گردید. در این رنگ‌آمیزی اووسیست‌ها به رنگ قرمز در زمینه آبی دیده می‌شوند. نمونه‌هایی که بیش از یک اووسیست رنگ گرفته داشتند به عنوان مثبت در نظر گرفته می‌شدند. جهت اطمینان از عدم وجود اجسام شبه کریپتوسپوریدیوم دوباره از رسوب فرمالین اتیل استات یک گسترش نازکتر تهیه و سپس بطور مجدد رنگ‌آمیزی انجام می‌گردید. اطلاعات مربوط به سن، جنس، سواد پدر، نوع آب مصرفی، نوع بیماری، وجود اسهال، وجود دامداری در محل سکونت از پرونده دانش‌آموزان در مدارس و از طریق پرسشنامه‌ای که در زمان نمونه‌گیری و دادن ظرفهای

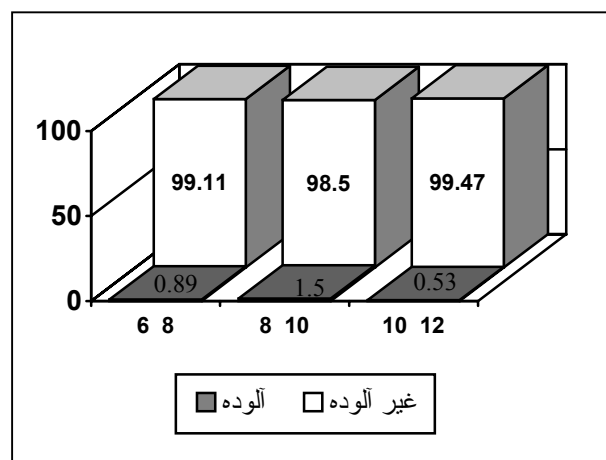
بحث

اغلب مطالعات انسانی برای بررسی میزان شیوع انگل در ایران در محدوده بیمارستانی و گروههای انتخابی صورت گرفته است و موارد بررسی شده، اغلب افراد دچار نقص سیستم ایمنی یا مبتلایان به اسهال بودند اما تحقیق در سطح جامعه و از افراد بدون علائم بالینی گاستروآنتریت کمتر صورت گرفته است. در این مطالعه شیوع و ابتلا به کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان دبستانی ۱٪ تعیین شد اما این میزان را نمی‌توان با مطالعاتی که روی این انگل در ایران و سایر کشورها انجام شده است مقایسه نمود زیرا این مطالعه در غرب تهران انجام شده است و جامعه کوچکی از کشور را نشان می‌دهد و یک مطالعه کشوری نمی‌باشد. با این حال این نوع مطالعات اطلاعات با ارزشی در مورد پراکندگی جهانی این تک یاخته ارائه می‌دهد. در مطالعات معدودی که در ایران انجام شده است میزان آلودگی از صفر درصد تا ۱۸/۵٪ (۶ و ۵) گزارش گردیده که این آمار فقط در مورد کودکان اسهالی است و اختلاف قابل توجه و واضح می‌باشد.

در اغلب مطالعاتی که در ایران روی مقدار کم نمونه صورت گرفته است میزان آلودگی در کودکان مبتلا به اسهال و محدوده بیمارستانی، ۷-۲٪ گزارش شده است (۷-۱۰). مطالعه ما به دلیل اینکه روی افراد بدون علائم بالینی انجام شده بود میزان شیوع با این گروهها تفاوت دارد. طی یک مطالعه در اصفهان (۸) میزان شیوع در کودکان اسهالی ۱۸/۵٪ برآورد شد که با سایر آمارها متفاوت است علت این امر می‌تواند وجود یک اپیدمی در زمان نمونه‌گیری یا دیدن اجسام شبه کریپتوسپوریدیوم در لامها و اشکال تکنیکی در تفسیر نتایج مثبت باشد. اکسیون در ترکیه طی یک سال (۱۹۹۸-۱۹۹۹) شیوع کریپتوسپوریدیوزیس و دیگر عفونت‌های انگلی روده را در کودکان مورد مطالعه قرار داد و میزان آن را ۷/۳٪ گزارش نمود که تفاوت جنسی در مبتلایان وجود نداشت (۱).

در سال ۲۰۰۰ شیوعی از کریپتوسپوریدیوزیس در شمال تایمز دیده شد که با بررسی مسئله و جدا کردن

تفاوت معنی‌داری ندارد. ۲۰٪ کودکان آلوده دختر و ۸۰٪ پسر بودند و آماره فی - دو برابر ۰/۹۴۶۵ با درجه آزادی ۱ و مقدار احتمال ۰/۳۳ محاسبه شد که نشان می‌دهد میزان شیوع در پسرها و دخترها تفاوت معنی‌داری ندارد. در این بررسی ۴۰٪ کودکان آلوده دارای پدر بی‌سواد و ۶۰٪ آنها دارای پدر در مقطع ابتدایی و راهنمایی بودند و در مقطع دبیرستان و تحصیلات عالی کودک آلوده دیده نشد و آماره فی - دو برابر با ۹/۵۷ با درجه آزادی ۴ و مقدار احتمال ۰/۰۴۹ به دست آمد بنابراین میزان تحصیلات عامل مؤثری بر میزان شیوع بیماری می‌باشد. دانش‌آموزان در ۳ گروه سنی ۶-۸ سال، ۸-۱۰ سال و ۱۰-۱۲ سال مورد آزمایش قرار گرفتند که در سن ۶-۸ سالگی از ۱۱۳ نفر یک نفر (۰/۸۹٪) در سن ۸-۱۰ سالگی از ۲۰۰ نفر ۳ نفر (۱/۵٪) و در سن ۱۰-۱۲ سالگی از ۱۸۷ نفر ۱ نفر (۰/۵۳٪) آلوده به انگل بودند و آماره فی - دو برابر ۲/۴۶ با درجه آزادی ۲ و مقدار احتمال ۰/۲۹۲ محاسبه شد که نشان می‌دهد سن بر میزان شیوع تأثیری ندارد (نمودار شماره ۲). همه افراد مورد بررسی از آب شهری استفاده می‌کردند و هیچ موردی از اسهال یا بیماری خاص دیگر مشاهده نگردید. سابقه تماس با دام نیز در افراد وجود نداشت. این مطالعه نشان می‌دهد که بین جنس و ابتلا به این انگل رابطه معنی‌داری وجود ندارد اما بین سواد پدر و میزان ابتلا رابطه معنی‌داری مشاهده شد.



نمودار شماره ۲- توزیع فراوانی افراد آلوده و غیرآلوده به کریپتوسپوریدیوم بر حسب سن دانش‌آموزان مدارس ابتدایی غرب تهران سال ۷۸-۷۹

۵- طوقی - ی، بررسی اشکال بدون علائم بالینی کریبتوسپورییدیوزیس در انسان و دام در ارومیه، پایان نامه دکتری دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، شماره ۱۵۹ (۱۳۷۹)، ص: ۸۰ و ۸۶.

6- Jayasri N., Characterization of an immunogenic glycoalyx on the surfaces of *Cryptosporidium parvum* oocysts and sporozoites, *Infection & Immunity*, 1999, Apr, 67(4): 2022-24.

۷- چنگیزی - ع، بررسی آلودگی کریبتوسپورییدیایی در کودکان مبتلا به اسهال، خلاصه مقاله دومین کنگره انگل شناسی، انتشارات دانشگاه تهران (۱۳۷۶)، ص: ۱۰۴.

۸- صراف - ف، تعیین میزان آلودگی با کریبتوسپورییدیوم در اطفال مبتلا به اسهال، پایان نامه دکتری علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه شهید بهشتی دانشکده قدس، شماره ۱۳۵، (۱۳۷۱)، ص: ۵۴ و ۵۶.

۹- حمزوی - ی، کریبتوسپورییدیوم در کودکان مبتلا به گاستروآنتریت پایان نامه فوق لیسانس، دانشگاه تهران شماره ۲۲۱۸، (۱۳۷۶)، ص: ۴۸.

۱۰- رسولی نژاد - م، کریبتوسپورییدیوزیس در بیماران ایدزی و افراد سالم خلاصه دومین مقاله کنگره انگل شناسی، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۶، ص: ۳۰.

11- Frost FY., Serological analysis of a cryptosporidiosis epidemic, *Int. J. Epidemiol*, 2000 Apr, 29(2): 376-9.

12- Cegielski JP., Ortega Y., *Cryptosporidium*, enterocytozoon and cyclospora infections in pediatric and adult patients with diarrhea in Tanzania, *Clin. Infect. Dis*, 1999 Feb, 28(2): 314-21.

13- Havelaar AH., Balancing the risks and benefits of drinking water disinfection: disability life years on the scale, *Environ. Health. Perspect*, 2000 Apr, 108(4): 315-21.

اوسیست از آب مشخص گردید که شیوع، مربوط به آب آشامیدنی لوله کشی است که از آب چاه منشا می گرفته است و بعد از گذراندن آب از صافی علائم از بین رفته بود (۱۱). در مطالعاتی که در تانزانیا انجام شد شیوع عفونت در بچه ها با فقر بهداشتی و پایین بودن سطح آگاهی و ازدیاد جمعیت رابطه داشت (۱۲).

بر اساس مطالعات انجام شده در آرژانتین کریبتوسپورییدیوم بیشتر در کودکان یا افرادی که نقص ایمنی دارند و در جوامعی که از شرایط اقتصادی و اجتماعی پایینی برخوردار هستند مشاهده می گردد (۱۳).

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می دانند از مؤسسات و افراد ذیل نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشند: معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران که این طرح تحقیقاتی با حمایت های مالی آن اداره محترم انجام گردید. کارشناسان محترم معاونت پژوهشی دانشگاه، مربیان بهداشت مدارس، تمام اولیای دانش آموزان و تکنسین آزمایشگاه انگل شناسی که در انجام این پروژه همکاری نموده اند.

منابع

1- Akyon Y., Erguven S., *Cryptosporidium* prevalence in a group of Turkish children, *Turk. J. Pediatr*, 1999, Apr-Jun, 41(2): 189-96.

2- Amenta M., Dalle Nogare ER., Intestinal protozoa in HIV-infected patients: effect of rifaximin in *Cryptosporidium parvum* and *Blastocystis hominis* infections, *J. Chemother*, 1999 Oct, 11(5): 391-5.

3- Andrew A., Evidence of thymus-independent local and systemic antibody responses to *Cryptosporidium parvum* infection in nude mice, *Infection & Immunity*, 1999 Aug, 67(8): 3947-51.

4- Campos M., Jouzdani E., Sclerosing cholangitis associated to cryptosporidiosis in liver transplanted children, *Eur. J. Pediatr*, 2000 Jan-Den, 159(1-2): 113-5.

