

## بررسی شیوع کریبتوسپوریديوم در بیماران پیوند کلیه بیمارستان امام و بخش همودیالیز بیمارستان طالقانی ارومیه ۱۳۷۹-۱۳۷۸

دکتر خسرو حضرتی تپه<sup>۱</sup>، دکتر خدیجه مخدومی<sup>۲</sup>، دکتر محمد رهبر<sup>۳</sup>، دکتر علی تقی زاده افشاری<sup>۴</sup>

### چکیده

پیش زمینه و هدف: برخی از انواع عفونت‌های روده ای به‌طور فراوان در بیماران پیوند کلیه و همودیالیز دیده می‌شود. از آن جمله، گونه‌های کریبتوسپوریديوم را می‌توان نام برد که سبب اسهال حاد و انتریت خودبه خود شفا یابنده در افراد سالم می‌گردند. این عفونت‌ها در بیمارانی که دچار اختلالات سیستم ایمنی هستند موجب گاستروانتریت شدید و مزمن شده و حیات بیماران را به مخاطره می‌اندازد.

مواد و روش: در این بررسی تعیین شیوع عفونت کریبتوسپوریديوم در سه گروه، مورد مطالعه قرار گرفت. گروه اول شامل ۸۷ نفر بیمار پیوند کلیه، گروه دوم شامل ۱۰۳ بیمار همودیالیزی و گروه سوم به عنوان گروه شاهد شامل ۶۰ نفر بودند که هیچگونه بیماری شناخته شده نداشتند. از هر سه گروه دو نمونه مدفوع دریافت و پس از انتقال به آزمایشگاه انگل شناسی نمونه‌ها با روش تغلیظ فرمالین - اثر تغلیظ و از هر نمونه تغلیظ شده دو تا اسمیر تهیه و بعد از رنگ آمیزی با روش اسید - فسف اصلاح شده گرم در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰۰× لام‌ها بررسی گردیدند.

یافته‌ها: فراوانی عفونت کریبتوسپوریديوم در بیماران پیوند کلیه و همودیالیز به ترتیب ۱۰ مورد (۱۱/۵٪) و ۴ مورد (۳/۸۸٪) بوده در گروه شاهد نتایج همه منفی بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: از نظر آنالیزهای آماری، بین بیماران پیوند کلیه و گروه کنترل اختلاف معنی‌دار بود (p.value= ۰/۰۲) ولی در بین بیماران همودیالیز و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری دیده نشد (p.value= ۰/۲) شیوع عفونت کریبتوسپوریديوم در بین بیماران پیوند کلیه در مقایسه با بیماران همودیالیز خیلی بیشتر بود که می‌توان چنین نتیجه گرفت که بیماران پیوند کلیه نسبت به عفونت کریبتوسپوریديوم بیشتر مستعد هستند، زیرا سیستم ایمنی آنها در اثر مصرف داروهای سرکوب ایمنی تضعیف می‌شود.

کل واژگان: کریبتوسپوریديوم، پیوند کلیه، همودیالیز، تک یاخته

مجله پزشکی ارومیه، سال چهاردهم، شماره اول، ص ۸ - ۱۲، بهار ۱۳۸۲

آدرس مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دکتر خسرو حضرتی تپه

۱- استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۲- استادیار گروه داخلی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۳- استادیار گروه میکروبی شناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۴- دانشیار گروه اورولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

## مقدمه

ذکر است که آلودگی انسان به این انگل در مناطقی که ارتباط تنگاتنگ بین انسان و دام وجود دارد بیشتر گزارش شده است. با توجه به عوامل فوق بر آن شدیم که شیوع کریتوسپوریدیوم را در این دو گروه بررسی کنیم.

## مواد و روش

کلیه بیماران پیوند کلیه که در فاصله سالهای ۱۳۷۶ تا زمان تحقیق یعنی پاییز ۱۳۷۸ در بخش پیوند بیمارستان امام ارومیه کلیه دریافت نموده بودند وارد تحقیق شدند، در مجموع از ۱۷۰ بیمار پیوند شده، ۱۵ نفر فوت نموده ۱۴ نفر به علت رد پیوند تحت دیالیز بوده و ۱۶ نفر نیز به دلایل مختلف به درمانگاه پیوند کلیه مراجعه نمی کردند. جمعاً از ۱۲۵ بیمار باقیمانده ۳۸ نفر دیگر نیز به دلیل عدم همکاری از مطالعه حذف شدند. و در مجموع ۸۷ بیمار تحت بررسی قرار گرفتند، همچنین یک گروه ۳۰ نفری نیز از بیماران بستری سایر بخش ها بدون مشکل ایمنی به عنوان گروه شاهد انتخاب و تحت بررسی قرار گرفتند.

در سال ۱۳۷۹ در مرکز آموزشی درمانی طالقانی ارومیه جمعاً ۱۲۸ نفر دیالیز شدند از این تعداد، ۱۰۳ نفر در طرح شرکت کردند. تعداد نمونه های جمع آوری شده ۱۷۸ عدد بود ۷۵ نفر دو نمونه مدفوع آورده بودند و بقیه ۲۸ نفر به علت عدم همکاری مناسب یک نمونه مدفوع آوردند. گروه کنترل بیماران دیالیزی هم ۳۰ نفر انتخاب شدند که از این تعداد ۱۵ نفر مرد، ۱۵ نفر زن بودند. که ۲۰ نفر از آنها شهری و ۱۰ نفر روستایی بودند.

مشخصات افراد از قبیل سن، جنس، تاریخ پیوند، مدت دیالیز، ارتباط با حیوانات داشتن اسهال و یا عدم اسهال از طریق پرسشنامه اخذ گردید. به هر بیمار در حین مراجعه به درمانگاه پیوند کلیه و بخش دیالیز و گروه شاهد دو عدد ظرف نمونه مدفوع داده شد و از همه موارد به فاصله کمتر از یک هفته دو نمونه مدفوع گرفته شد. تمام نمونه ها به روش فرمالین - اتر تعلیق گردیده و سپس از رسوب ته لوله یک قطره روی لام

کریتوسپوریدیوم تک یاخته ای، از رده کوکسیدی های روده ای است که امروزه در میان انگل های پاتوژن جایگاه ویژه ای یافته است. اولین بار در سال ۱۸۹۵ توسط کلارک، شناسایی و بر روی سلول های اپیتلیال معده موش به صورت مجموعه های اسپور تعریف شد (۷). تقریباً ۱۲ سال بعد در سال ۱۹۰۷ توسط تایزر از مخاط معده موش های بدون علائم بالینی جدا گردید. در سال ۱۹۷۶ اولین موارد انسانی آن گزارش شده است. (۸، ۹، ۱۱).

امروزه اپیدمیولوژی کریتوسپوریدیوم را مشابه زیاردیازیس می دانند با این حال کریتوسپوریدیوم از عوامل اسهال های شبه وبائی طولانی، شدید، ناتوان کننده و رو به مرگ به خصوص در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی، ایدز و اطفال در سراسر جهان است. (۱۲). در گذشته کریتوسپوریدیوم تنها به عنوان یک عامل گاسترو آنتریت در دام های جوان (گوساله و بره) مورد توجه بوده است، اما امروزه با شناسائی نقش بیماریزائی این انگل در انسان آن را یکی از عوامل مهم بیماری های گوارشی (اسهال) مشترک بین انسان و دام می دانند (۱).

عفونت کریتوسپوریدیوزیس می تواند مدت زمان طولانی ادامه داشته و خطر حیاتی در بیماران مبتلا به ایدز، بیماران پیوند عضو و بیماران سرطانی که تحت درمان داروهای سرکوب کننده ایمنی هستند ایجاد کند (۲، ۴). در حالی که در میزبانانی که دارای سیستم ایمنی کامل می باشند، عفونت خود محدود شونده است. یک ارتباط معکوس بین مدت عفونت و تعداد CD4 گزارش شده است (۷، ۸، ۱۳).

با توجه به اینکه تا کنون هیچگونه مطالعه ای در این مورد در شهرستان ارومیه صورت نگرفته است لذا انجام چنین مطالعه ای از جهت اینکه مرکز پیوند کلیه ارومیه یکی از مراکز مهم پیوند کلیه در ایران و از طرفی شهرستان ارومیه یکی از مناطق پرورش دام می باشد، ضروری به نظر می رسد. شایان

پیوند کلیه از نظر آلودگی به انگل کریتوسپوریدیوم مثبت بودند. که نشان دهنده شیوع کریتوسپوریدیوم در بیماران پیوند کلیه شده مورد مطالعه می باشد. در گروه کنترل هیچ مورد مثبتی مشاهده نگردیده و در مقایسه گروه پیوند با گروه کنترل فراوانی بالا در گروه پیوند از نظر آماری با  $p.value = 0.02$  معنی دار بوده است.

از ۱۰۳ بیمار همودیالیزی که نمونه مدفوع داده بودند، ۵۵ نفر مرد و ۴۸ نفر زن بودند. تعداد نمونه های جمع آوری شده ۱۷۸ عدد بود، که ۷۵ نفر دو نمونه مدفوع آورده بودند، ۲۸ نفر از بیماران به علت عدم همکاری مناسب یک عدد نمونه آورده بودند. میانگین سنی افراد تحت دیالیز ۵۰ سال و متوسط مدت زمان دیالیز ۳ سال بود. هیچکدام از افراد گروه کنترل آلودگی به کریتوسپوریدیوم نداشتند. از ۱۰۳ بیمار همودیالیزی تحت مطالعه ۴ نفر (۳/۸۸٪) به انگل کریتوسپوریدیوم مبتلا بودند. در مقایسه گروه بیماران همودیالیز با گروه کنترل از نظر آماری با  $p.value = 0.02$  رابطه معنی داری نداشت در گروه شاهد هم هیچ مورد مثبت دیده نشده است. (طبق جدول شماره ۱)

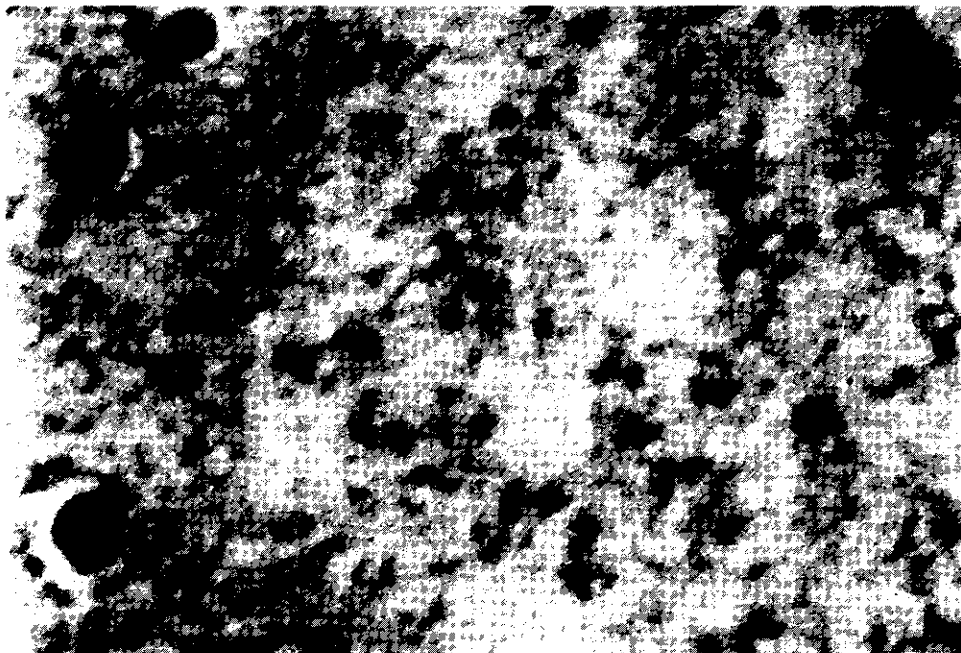
گذاشته و اسمیر تهیه گردید و با روش رنگ آمیزی اسید-فست اصلاح شده گرم تمام لامها رنگ آمیزی شدند. در این روش رنگ-آمیزی اووسیست های کریتوسپوریدیوم به رنگ قرمز در زمینه آبی کاملاً واضح دیده می شوند و اندازه اووسیست ها تقریباً ۳-۶ میکرومتر می باشد (شکل شماره ۱). تمام لامها با میکروسکوپ نوری با بزرگنمای  $\times 1000$  بررسی گردیدند. برای بررسی رابطه آلودگی به کریتوسپوریدیوم در گروه پیوند کلیه با گروه شاهد و همچنین رابطه آلودگی به کریتوسپوریدیوم در گروه همودیالیز با گروه شاهد از آزمون  $X^2$  استفاده شده است.

## نتایج

از بین ۸۷ مورد پیوند کلیه ۵۷ شهری (۳۲ نفر زن، ۲۵ نفر مرد) و ۳۰ نفر روستایی (۱۳ نفر زن، ۱۷ نفر مرد) بودند. در گروه کنترل ۲۰ نفر شهری (۹ نفر زن، ۱۱ نفر مرد) و ۱۰ نفر روستایی (۶ نفر زن، ۴ نفر مرد) شرکت داشتند. پس از طی مراحل پژوهش و بررسی لام های تهیه شده، جمعاً ۱۰ نفر (۱۱/۵٪) از گروه

جدول شماره ۱: فراوانی کریتوسپوریدیوم در بیماران پیوند کلیه، همودیالیز و گروه شاهد

P.value	درصد آلودگی %	فراوانی کریتوسپوریدیوم	تعداد	
$P = 0.02$	۱۱/۵	۱۰	۸۷	بیماران پیوند کلیه
$P = 0.02$	۳/۸۸	۴	۱۰۳	بیماران همودیالیز
-	-	-	۶۰	گروه شاهد



شکل شماره ۱: اووسیت کریبتوسپوریدیوم (رنگ آمیزی اسید فست اصلاح شده گرم، بزرگنمایی ۱۰۰۰x)

## بحث

در بررسی تحقیقات مختلف از بیماران نقص سیستم ایمنی، افراد اسهالی، بچه های زیر دو سال، افرادی که سو تغذیه دارند و آنهایی که در ارتباط با پرورش دام هستند، فراوانی کریبتوسپوریدیوم بالایی باشد (۷). در افرادی که نقص سیستم ایمنی دارند و یا داروهای سرکوب کننده ایمنی مصرف می کنند، دارای عفونت خود محدود شونده نمی باشد. از طرفی برای درمان عفونت، داروی اختصاصی هنوز شناسایی نشده و افرادی که علائم کلینیکی ندارند معمولاً تحت درمان قرار نمی گیرند.

در بررسی نتایج یک مطالعه که در سال ۱۹۹۷ در مجله نفرون به چاپ رسیده است، ۱۱۵ نمونه مدفوع از ۶۹ بیمار پیوند کلیه و هم چنین مدفوع ۴۲ نفر به عنوان گروه کنترل که میانگین سنی گروه بیمار و گروه کنترل ۲۴ سال بود به روشهای گسترش مرطوب، رنگ آمیزی تری کروم، اورامن و اسید - فست اصلاح شده رنگ آمیزی و مورد بررسی قرار داده اند در مدفوع ۱۳ (۸/۱۸) نفر اووسیت کریبتوسپوریدیوم دیده اند. ۸ نفر علائم بالینی مانند اسهال داشتند، از ۴۲ نفر گروه کنترل در نمونه

مدفوع ۳ (۱/۷) نفر اووسیت انگل را دیده بودند. گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل با  $p < 0.05$  از نظر آلودگی به کریبتوسپوریدیوم معنی دار بود (۱۰).

در مطالعه ما فراوانی کریبتوسپوریدیوزیس در بیماران پیوند کلیه نسبت به گروه کنترل از نظر آماری  $p.value = 0.02$  معنی دار می باشد. در مقایسه نسبت آلودگی بین افراد شهری و روستایی به رغم اختلاف فاحش از نظر آماری معنی دار نبود. در مقایسه آلودگی بین افرادی که در ۶ ماه اخیر پیوند کلیه دریافت کرده بودند با بقیه گروه که بیش از ۶ ماه از پیوندشان می گذشت فراوانی بیشتری در افرادی که بیش از ۶ ماه از پیوند کلیه آنها می گذشت دیده شد. از نظر آماری معنی دار بوده و به مفهوم فراوانی بیشتر آلودگی با انگل کریبتوسپوریدیوم در بیمارانی می باشد که مدت زمان بیشتری از سرکوب ایمنی آنها می گذرد در بیماران همودیالیز نسبت به گروه شاهد از نظر آماری با  $p.value = 0.02$  معنی دار نمی باشد از ۴ نفر بیمار آلوده یک نفر زن و ۳ نفر مرد که هیچکدام با دام ارتباط نداشتند و ۸۳ نفر کمتر از ۳ سال بود که دیالیز می شدند. هیچکدام آلوده به انگل نبودند. ۲۰ نفر در

راحتی قابل تشخیص بودن او اواسطها در لام که به رنگ قرمز در زمینه آبی دیده می‌شود. با توجه به موارد بالا روش رنگ آمیزی اسید-فست اصلاح شده برای تشخیص کریتوسپورییدیوزیس مفید می‌باشد.

تشخیص کریتوسپورییدیوم در تمام نمونه‌ها به صورت روتین در خواست نمی‌شود فقط بعضی از متخصصان توصیه می‌کنند افرادی که اسهال دارند، بیمارانی که نقص ایمنی دارند و گروه‌هایی که ریسک آلوده شدن آنها به انگل زیاد است از نظر کریتوسپورییدیوم مورد بررسی قرار گیرند. نتایج تحقیق بیانگر این است که بیماران پیوند کلیه به علت ضعیف شدن سیستم ایمنی به دلایل مختلف، در صد آلودگی به کریتوسپورییدیوم افزایش پیدا خواهد کرد. به این خاطر در این بیماران در صورت مشاهده ناراحتی‌های روده‌ای حتماً از نظر کریتوسپورییدیوم بررسی گردند.

بیماران بیش از ۳ سال بود که دیالیز می‌شدند که از این تعداد ۴ (۲۰٪) نفر آلوده به انگل کریتوسپورییدیوم بودند. در بررسی انجام شده اختلاف بین نسبت‌های آلودگی به انگل کریتوسپورییدیوم در گروه مورد مطالعه از نظر مدت زمان دیالیز با  $p.value = 0.001$  رابطه معنی دار دارد.

در تشخیص کریتوسپورییدیوزیس روش‌های تشخیص فراوانی تعریف شده است، جهت تشخیص همان‌طوری که از نمونه‌های تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد از نمونه‌های فیکس شده با فرمالین ۱۰٪ و یا سدیم استات به کار برده می‌شود. در تحقیق ما جهت کاهش ریسک آلودگی از نمونه‌های فیکس شده با فرمالین ۱۰٪ لام تهیه کرده و به روش اسید-فست اصلاح شده رنگ آمیزی شدند که به صورت روتین در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. مراحل رنگ آمیزی کم، روش رنگ آمیزی آسان، نبودن محدودیت زمانی برای بررسی لام‌ها، ارزان بودن مواد رنگ آمیزی و به‌خصوص به

## References

1. Ho M, Dummer JS: Risk factors and approaches to infections in transplant recipients: in Mandell GL, Douglas RG Jr, Bennett JE (eds): Principles and practice of Infectious Diseases. 3rd ed, New York, Churchill Livingstone, 1990: 2284 – 2291.
2. Conolly GM, Dryden MS, Shanson DC, Gazzars BG: Cryptosporidial diarrhoea in AIDS and its treatment. Gut, 1988, 29: 593 – 597.
3. Roncoroni AJ, Gomez MA, Mera, Cagnoni P, Michel MD: Cryptosporidium infection in renal transplant patients. J Infect Dis, 1989, 160: 559.
4. Lewis IS, Hart CA, Baxby D: Diarrhea due to Cryptosporidium in acute lymphoblastic leukemia. Arch Dis Child, 1985, 60:60- 62.
5. Current WL, Garcia LS: Cryptosporidiosis. Clin Microbiol Rev, 1991, 4:325-358.
6. Flanigan T, Whalen C, Turnerj, Soave R, Torner j, Havliir D, Kotler D: Cryptosporidium infection and CD4 counts. Ann Intern Med, 1992, 116:840-842.
7. Current W L, Garcia L.S: Cryptosporidiosis. Clin. Microbiol Rev, 1991, 4: 325- 358.
8. Meisel JL, Perera DR, Meligro C, Rubin CE: Overwhelming watery diarrhea associated with Cryptosporidium in an immunosuppressed patient. Gastroenterology, 1976, 70:1156- 1160.
9. Nime F A, Burek JD, Page DL, Holscher MA, Yardley JH: Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan cryptosporidium. gastroenterology, 1976, 70: 592-598.
10. OK U Z , Cirit M , Uner A , Ok E, Akcicek F , Basci A ,Ozcel M A: Cryptosporidiosis and Blastocystosis in Renal Transplant Recipients. Nephron, 1997, 75: 171-174. Markell E Kohn D Krotoski WA Cryptosporidium parvum: Medical Parasitology. 8th ed, WB Saunders Company, 1999: 78-82.
11. Mackenzie, WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair, KA, Peterson DE, kazmierczak JJ, Addiss DG, Fox KR, Rose, JB Davis JP: A massive outbreak in Milwaukee of Cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. N Engl J Med, 1994, 331: 161 – 167.
12. Benenson AS: Control of communicable Disease in Man. 16<sup>th</sup> ed, Washington, American public Health Association, 1995,