ارزیابی شیوع کریپتوسپوریدوزیس انسانی در منطقه ورامین با استفاده ازواکنش زنجیره‌ای پلیمراز درسال‌های ۹۲-۱۳۹۱

- **سیدموسی‌الرضا محمدی*:** گروه پرستاری، دانشکده پرستاری ومامایی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین، ایران
- **علی کاظمی:** گروه پرستاری، دانشکده پرستاری ومامایی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹٦ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹٦

چکیده

کریپتوسپوریدیوزیس یکی از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده اسهال در انسان و بسیاری از پستانداران می‌باشد که در اثر آن سلول‌های پوششی روده توسط تک یاخته کریپتوسپوریدیوم آلوده می‌شوند. این مطالعه به‌منظور ارزیابی شیوع اپیدمیولوژیکی کریپتوسپوریدیوزیس انسانی در منطقه ورامین انجام شد. مطالعه به‌صورت مقطعی در سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ انجام شد که افراد تحت مطالعه ۹۳۰ نفر شامل۵۳۰ مرد و ٤۰۰ زن مبتلا به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان مفتح ورامین در محدوده سنی ٦۰-۱ سال (با میانگین سنی ۲±۲۷) بودند. نمونه مدفوع انسانی جمع‌آوری و همراه با محلول دی‌کرومات پتاسیم ۲/۵درصد در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. اووسیست‌های کریپتوسپوریدیوم به‌روش تغلیظی فرمالین دترجنت و رنگ‌آمیزی به شیوه اسید فست اصلاح شده زیرمیکروسکوپ نوری مورد شناسایی قرار گرفت. هم‌چنین استخراج DNA از نمونه‌ها انجام و با پرایمرهای اختصاصی وروش PCR تایید شدند. میزان آلودگی در گروه‌های سنی ۱۰-۱ سال ۱۲مورد (۵/۱۷ درصد)، ۱۱-۲۰ سال ۷ مورد (۳/۷٤ درصد)، ۲۱-۳۰ سال ۸ مورد (٤/۱٤ درصد)، ۳۱-٤۰ سال ٤ مورد (۳/٤۱درصد)، ٤۱-۵۰ سال ۳ مورد (۲/٤۳ درصد) و ٦۰-۵۱ سال ۱ مورد (۱/۲۸ درصد) بودکه ارتباط معنی‌داری ازلحاظ آماری بین عفونت کریپتوسپوریدیال با سن ابتلا مشاهده شد (P<۰/۰۵). باندهای DNA در محدوده ۵۵۵ جفت بازی بود. ارتباط مستقیم یا غیرمستقیم انسان با دام می‌تواند نقش مهمی در انتقال کریپتوسپوریدیوزیس به انسان ایفا کند، لذا رعایت مسایل ایمنی و بهداشتی ضروری می‌باشد.

کلمات کلیدی: کریپتوسپوریدیوزیس، اسهال انسانی، نقص سیستم ایمنی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: R.Mohammadi888@yahoo.com

مقدمه

بیماری کریپتوسپوریدیوزیس آلودگی انگلی ناشی از تک یاخته کریپتوسپوریدیوم‌است. انگل کریپتوسپوریدیوم از شاخه اپی کمپلکسا، رده اسپوروزوآ و زیر رده کوکسیدیا می‌باشد که طیف گسترده‌ای از مهره‌داران شامل پستانداران، ماهی‌ها، خزندگان و پرندگان را مبتلا می‌کند. فقدان میزبان اختصاصی و داشتن میزبانان متعدداز خصوصیات زیستی انگل برای حفظ بقا و تکامل در طبیعت است. ژنونوز بودن این تک یاخته باعث شده که در مطالعات علوم پزشکی جایگاه ویژه‌ای را به‌خوداختصاص دهد(Collinet-Adlerو Ward، ۲۰۱۰).ازبین گونه‌های انگل، گونه کریپتوسپوریدیوم پاروم به‌علت ماهیت ژنوتیک به‌عنوان یک انتروپاتوژن مهم انسانی و دامی از اهمیت بهداشتی و اقتصادی فراوانی برخوردار است و در مقایسه با سایر گونه‌ها مهم‌تر می‌باشد (Xiao و Feng، ۲۰۰۸). این گونه دارای دو ژنوتیپ ۱و۲ می‌باشد. ژنوتیپ ۲ دارای مخزن حیوانی می‌باشد اما ژنوتیپ ۱، از طریق سیکل انسانی (انتقال ازطریق آب یا غذای آلوده به اووسیست) انتقال می‌یابد. امروزه در اغلب کشورهای دنیا گاستروآنتریت و اسهال‌های حاد از عوامل مهم مراجعه‌پزشکی محسوب می‌شود که کریپتوسپوریدیوزیس یکی از عوامل ایجادکننده اسهال شدید در جهان، بین اطفال و بالغین است و شیوع آن در کودکان بیش از بزرگسالان است. این انگل موجب اسهال‌شدید شبیه اسهال وبائی در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی، هایپوگاماگلبولینمی و در بیماران دارای ایدز باعث لارنژیت، سینوزیت، نارسائی ریوی و مشکلات صفراوی می‌گردد به‌طوری‌که علت ۷ درصد مرگ و میر در مبتلایان به ایدز را این بیماری ذکر کرده‌اند (Alshamiri و Alzubari، ۲۰۱۰). علائم گاستروآنتریت و اسهال در تمامی میزبانان مشترک است اما در کودکان و بیماران مبتلا به نقص ایمنی به‌خصوص در افرادی که تعداد سلول‌های ایمنی CD۴ آن‌ها کاهش‌یافته بیماری شدید بوده و یا ممکن است‌همراه باسایر عفونت‌ها ظاهر شود. به‌دلیل عدم شناخت درمان موثر برای مقابله با کریپتو سپوریدیوزیس، هم‌چنین به‌علت کوچک بودن اووسیست‌های انگلی و مقاومت زیاد آن‌ها برابر عوامل فیزیکی و شیمیائی مبارزه با آن دشوار است (Kia و همکاران، ۲۰۰۸). این انگل داخل سلولی علاوه بر میکرو ویلی‌های دستگاه گوارش، در سلول‌های اپیتلیال ریه، کیسه صفرا، عقده‌های لنفاوی، مجاری لوزالمعده، دستگاه تنفس و مثانه نیز دیده می‌شود. مطالعات پایشی، افزایش میزان عفونت را از سال ۲۰۰۴ به بعد در دنیا نشان می‌دهد به‌طوری‌که شیوع بیماری در تابستان به‌ویژه در میان اطفال بیش‌تر است. عوامل خطرآفرین شامل آب آشامیدنی آلوده، مواجهه با حیوانات مبتلا به عفونت، داشتن تماس نزدیک با افراد مبتلا، مسافرت به مکان‌های آندمیک عفونت و مصرف غذاهای رستورانی می‌باشد.مخزن بیماری حیوانات بالغی هستند که بدون وجود هیچ علامتی حاملین انگل هستندکه روزانه هزاران اووسیست دفع می‌کنند و موجب آلودگی آب، مواد غذایی، سبزیجات، گیاهان و خاک می‌گردند (Huang و White، ۲۰۰۶). با توجه به موارد فوق، آگاهی از درصد شیوع بیماری در هر منطقه و رعایت مسایل بهداشتی جهت پیشگیری و کنترل بیماری امری ضروری می‌باشد. با اجرای برنامه‌های کنترلی و بهداشتی توسط مسؤلین بخش بهداشت و سازمان دامپزشکی می‌توان انتقال بیماری در بین انسان و دام را به‌حداقل رساند. منطقه ورامین از دیرباز کانون دامپروری و کشاورزی در ایران به‌شمار می‌آمده است. این منطقه درجنوب‌شرقی استان تهران با آب و هوای‌نسبتاً گرم و خشک می‌باشد که دارای جمعیت دامی قابل ملاحظه‌ای است. از این‌رو، این مطالعه به‌منظور ارزیابی شیوع کریپتوسپوریدوزیس انسانی در منطقه ورامین در سال ۱۳۹۲ انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: این مطالعه مقطعی در سال ۱۳۹۲ روی ۹۳۰ نمونه (۵۳۰ مرد، ۴۰۰ زن) بود. مدفوع اسهالی جمع‌آوری شده از پنج آزمایشگاه تشخیص طبی شهرستان ورامین طی ۱۲ ماه انجام شد. محدوده سنی بیماران ۱ تا ۶۰ سال (میانگین سنی ۲±۲۷ سال) بود. نمونه‌ها در ظروف استریل مخصوص نمونه‌گیری حاوی دی‌کرومات پتاسیم ۲/۵درصد جمع‌آوری و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

آماده‌سازی‌نمونه‌ها: آماده‌سازی به‌موازات نمونه‌گیری با استفاده از لوله‌های پارازیت تست و روش فرمالین دترجنت که حاوی فرمالین ۱۰٪ و ۱٪ دترجنت بود انجام شدو از نمونه‌ها رسوب به‌دست آمد. گسترش روی لام از رسوب حاصل تهیه و با رنگ‌آمیزی زیل‌نلسون اصلاح شده، رنگ‌آمیزی گردید. گسترش‌های تهیه شده ابتدا در متانول مطلق فیکس و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با رنگ فوشین بازی حرارت داده شد تا رنگ شروع به تبخیر کند. سپس لام‌ها با آب معمولی شسته و بسته به ضخامت گسترش روی لام، حداقل ۳۰ ثانیه در ماده رنگ بر اسید الکل (حاوی ۳ حجم اسیدکلریدریک غلیظ و۹۷ حجم اتانول)، رنگ‌بری و با آب شستشو شد. لام‌ها با رنگ آبی متیلن ۰/۳ درصد حدود ۱ دقیقه به‌عنوان رنگ متضاد رنگ‌آمیزی شده پس از شستشو با آب و خشک‌کردن، لام‌ها با استفاده از میکروسکوپ معمولی و لنز ۴۰ و۱۰۰ مطالعه شدند.

استخراج DNA ژنومی: جهت‌استخراج DNAژنومی‌ازنمونه‌های مورد نظر، کیت (شرکت سیناژن، ایران) حاوی بافر، کلرید منیزیوم، تگ پلیمراز، آب مقطر خریداری و طبق دستورالعمل آن انجام شد.

ابتدا اووسیست‌ها به‌مدت ۲ دقیقه در مجاورت هیپوکلریت سدیم ۲۸ درصد تحت شرایط لرزش قرارگرفتند. سپس به‌منظور شکسته شدن دیواره اووسیست رسوب حاصل پس از دو بار شستشو با آب مقطر تحت شرایط برودت با دستگاه سونیکیتور (آمپیلیتود ۲۰ درصد) قرار گرفت. با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز به‌مدت یک ساعت و اضافه کردن ۲۵۰ میکرولیتر اتانول ۹۶ درصد و سانتریفیوژ در دور ۸۰۰۰ به‌مدت یک دقیقه، DNA استخراج شد.

مراحل انجام PCR: نمونه استخراج شده در دستگاه ترموسایکلر با برنامه‌ریزی تکثیر مکرر DNA قرار گرفت. پرایمر طراحی‌شده بخشی از ژن پروتئین‌دیواره اووسیست که دارای accession no=AB089292 که توالی پرایمر به‌قرار ذیل بود:

Forward: TCG TAG ATA ATG GAA GAG ATT GTG TT
Reverse: GGA CTG AAA TAC AGG CAT TAT CTT GG

به رقت‌های ۱، ۰/۱، ۰/۰۰۱ از DNA میزان ۱۰ میکرولیتر بافر، ۳ میکرولیتر کلرید منیزیم، ۲ میکرولیتر از هر پرایمر، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم تگ‌پلیمراز و تا حجم ۱۰۰میکرولیتر آب استریل دو بار تقطیر اضافه شد و برنامه‌ریزی تکثیر مکرر DNA شامل ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (Denaturation)، ۴۰ ثانیه دردمای ۶۱ درجه سانتی‌گراد شامل اتصال پرایمر به مکمل (Annealing)، ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (مرحله طویل شدن آغازگرها) و در نهایت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد طویل شدن نهایی صورت گرفت. سپس محصول روی ژل آگارز ۲٪ (محتوی ۱۰۸گرم = Tris-base، EDTA نیم مولار با pH =۸ ۴۰ میلی‌لیتر، اسیدبوریک ۵۵ گرم و آب تا یک لیتر) جداسازی و با اتیدیوم بروماید و اشعه UV آشکار شد. مارکر استفاده شده در الکتروفورز مربوط به شرکت سیناژن بود. تمامی اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۲ و آزمون کای‌دو تحلیل و (P<۰/۰۵) به‌عنوان معنی‌دار درنظر گرفته شد.

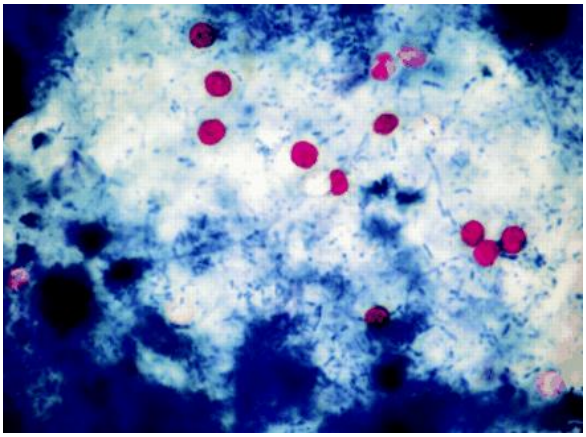
نتایج

از مجموع ۹۳۰ نمونه تحت مطالعه ۲۳۲ نمونه مربوط به گروه سنی ۱ الی ۱۰ سال، ۱۸۷ نمونه مربوط به گروه ۱۱ الی ۲۰ سال، ۱۹۳ نمونه مربوط به گروه سنی ۲۱ الی ۳۰ سال، ۱۱۷ نمونه مربوط به گروه ۳۱ الی ۴۰ سال، ۱۲۳ نمونه مربوط به گروه ۴۱ الی ۵۰ سال و ۷۸ مورد مربوط به گروه ۵۱ الی ۶۰ سال بود که تعداد موارد مثبت و درصد آلودگی در این گروه‌های سنی به‌ترتیب ۱۲ (۵/۱۷ درصد)، ۷ (۳/۷۴ درصد)، ۸(۴/۱۴ درصد)، ۴(۳/۴۱ درصد)، ۳ (۲/۴۳ درصد)، ۱ (۱/۲۸درصد) بودند. در نهایت از مجموع ۹۳۰ مورد، ۳۵ مورد مثبت با درصد آلودگی ۳/۷۶ درصد گزارش شد(جدول ۱). ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری بین عفونت کریپتوسپوریدیال با سن ابتلا مشاهده شد (P<۰/۰۵). نمونه‌های مثبت شامل اووسیست‌های انگل کریپتوسپوریدیوم به‌رنگ قرمز به اندازه ۶-۳ میکرون و مشتمل بر ۴ اسپوروزوایت داخلی که در یک زمینه آبی رنگ مشخص بود (شکل ۱).

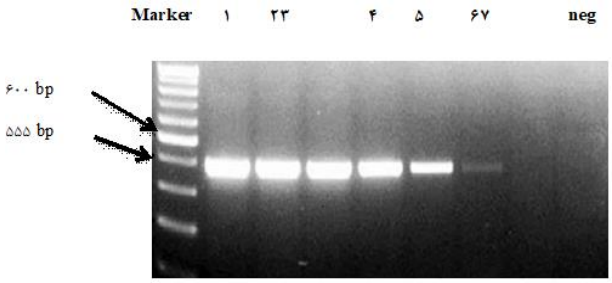
باندهای DNA نمایان شده بر روی ژل آگارز ۲ درصد، در محدوده ۵۵۵ جفت بازی بود که موید انگل کریپتوسپوریدیوم بود. در این مطالعه میزان حساسیت و ویژگی روش میکروسکوپی به‌ترتیب ۸۰ و ۹۸ درصد و حساسیت و ویژگی روش PCR به‌ترتیب ۹۲ و ۹۹/۵ درصد بود.

جدول ۱: درصد و شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در افراد مبتلا به اسهال برحسب رده سنی

گروه سنی (سال)	تعدادنمونه	فراوانی نسبی موارد مثبت هرده سنی (درصد)	درصد فراوانی نسبی کل	مقدار p
۱۰-۱	۲۳۲	۱۲ (۵/۱۷ درصد)	۱/۲۹	۰/۰۲
۲۰-۱۱	۱۸۷	۷ (۳/۷۴ درصد)	۰/۷۵	۰/۰۳
۳۰-۲۱	۱۹۳	۸ (۴/۱۴ درصد)	۰/۸۶	۰/۰۳
۴۰-۳۱	۱۱۷	۴ (۳/۴۱ درصد)	۰/۴۴	۰/۰۴
۵۰-۴۱	۱۲۳	۳ (۲/۴۳ درصد)	۰/۳۲	۰/۰۴
۶۰-۵۱	۷۸	۱ (۱/۲۸ درصد)	۰/۱	۰/۰۶
مجموع	۹۳۰	۳۵ (۳/۷۶ درصد)	۳/۷۶	



شکل ۱: اووسیست کریپتوسپوریدیوم در گسترش مدفوع



شکل ۲: بررسی کیفیت محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۲ ٪

چاهک شماره ۱: نمونه ۱، چاهک شماره ۲: نمونه ۲، چاهک شماره ۳: نمونه ۳، چاهک شماره ۴: نمونه ۴، چاهک شماره ۵: نمونه ۵، چاهک شماره ۶: نمونه ۶، چاهک شماره ۷: نمونهDNA منفی، چاهک neg: کنترل منفی

بحث

تاکنون بیش از ۲۰ گونه مختلف از انگل کریپتوسپوریدیوم در انواع مختلف پستانداران شناسایی شده است . انتقال این تک یاخته از راه‌های مختلف امکان‌پذیر است ولی مهم‌ترین راه انتقال که می‌تواند موجب بروز اپیدمی‌های بزرگ شود انتقال آن توسط آب آشامیدنی آلوده است. انتقال آلودگی توسط آب از سراسر دنیا گزارش شده و یکی از مشکلات بهداشتی محسوب می‌گردد. گزارشات حاکی از شیوع عفونت کریپتوسپوریدیایی در اکثر کشورهای جهان می‌باشد، شیوع انسانی این عفونت در کشورهای صنعتی از ۰/۶ تا ۲۰ درصد و در کشورهای در حال توسعه از ۴ تا ۳۰ درصد گزارش شده است (Huang و White، ۲۰۰۶). در این مطالعه، بیش‌ترین درصد آلودگی مربوط به پایین‌ترین گروه سنی یعنی گروه ۱ تا ۱۰ سال بود که به مرور با افزایش سن و تکامل سیستم ایمنی، از شدت آلودگی کاسته شده به‌طوری‌که درصد آلودگی از ۵/۱۷ درصد در رده سنی ۱ تا ۱۰ سال به ۱/۲۸ درصد در گروه ۵۱ تا ۶۰ سال تنزل یافت. میزان آلودگی به کریپتوسپوریدیوم درگروه سنی زیر ۵ سال در فیلیپین ۸/۵ درصد، کانادا ۴/۱ درصد، بنگلادش ۶/۱ درصد و استرالیا ۴/۱ درصد گزارش شده است که نتایج این مطالعه تقریباً با میزان آلودگی در کشورهای استرالیا و کانادا هم‌خوانی داشت (Abdel Messih و همکاران، ۲۰۰۵).

اگر گروه‌های سنی تحت مطالعه، به دو بخش ۱ الی ۳۰ سال و ۳۱ الی ۶۰ سال تقسیم شود، آلودگی در گروه ۱ الی ۳۰ سال معادل ۴/۴۱درصد و در گروه سنی ۳۱الی ۶۰ سال‌معادل ۵۱/.درصد می‌باشد.

در مطالعه پیرستانی وهمکاران (۱۳۸۸) شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در منطقه شهریار ۲/۷۶ درصد بود که از مطالعه حاضر کم‌تر بود، این مطالعه نیز شیوع بیماری را در گروه سنی ۱ الی ۷ سال بیش‌تر از سایر گروه‌های سنی عنوان کرده که با مطالعه اخیر هم‌خوانی داشت. در بررسی نهروانیان و همکاران (۱۳۹۰) در غرب استان مازندران، شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان مبتلا به اسهال صفر درصد بود و عواملی هم‌چون *ژیاردیا* و *انتاموبا کلی* منجر به بروز اسهال‌های انگلی در این استان می‌شدند که می‌تواند به‌علت افزایش رطوبت هوا و بالا بودن سطح آب زیرزمینی و وجود برکه‌های دارای آب راکد می‌تواند باعث اسهال‌های ناشی از *ژیاردیا* و *انتاموبا کلی* باشد.

دربررسی دبیرزاده وهمکاران (۱۳۸۲) شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در بین کودکان مبتلا به اسهال شهرستان زاهدان ۴/۷ درصد گزارش شد. هم‌چنین آلودگی در پسرها بسیار بیش‌تر از دخترها گزارش شد که شیوع بیماری در آن مطالعه بیش‌تر از مطالعه حاضر بود که شاید علت آن عدم رعایت مسایل بهداشتی در افراد آن منطقه و هم‌چنین پرورش گاو به‌صورت سنتی باشد. در مطالعه Hamedi و همکاران (۲۰۰۵) که روی کودکان بندرعباس انجام گرفت شیوع بیماری ۷ درصد بود که بیش‌تر از مطالعه حاضر است، هم‌چنین در آن مطالعه ارتباط بین شغل والدین و میزان عفونت ارزیابی شد که ارتباط معنی داری نشان نداد.

در مطالعه Sazmand و همکاران (۲۰۱۲) به‌منظور ارزیابی کریپتوسپوریدیوزیس در استان یزد در شتر و ارتباط آن با افرادی که با آن سروکار دارند شیوع ۲۴ درصد در افراد مرتبط با حیوان گزارش شد که بسیار بالا بود. در مطالعه Balouty Dehkordy و همکاران (۲۰۱۰) به‌طورکلی شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان دارای نقص سیستم ایمنی در شهر اهواز را ۵/۱ درصد عنوان کردندکه بیش‌تر از نتایج این مطالعه بود. این محققان به تفکیک شیوع بیماری را در بیماران دارای ایدز و سرطان به‌ترتیب ۹/۱ درصد و ۴ درصد گزارش کردند. در مطالعه Fallah و Haghighi (۱۹۹۶) در کودکان شهر همدان انجام گرفت، میزان آلودگی ۵/۵درصد بود که نزدیک‌ترین آمار به‌دست آمده در مقایسه با مطالعه حاضر است، البته با توجه به

نزدیکی فاصله جغرافیایی این شهرستان با تهران امری بدیهی بود.

در مطالعه اعظمی و درستکارمقدم (۱۳۸۷) در شهرستان اصفهان شیوع بیماری را در بین کودکان مبتلا به نقص ایمنی ۴/۶ درصد نشان داد که پایین‌تر از نتایج این مطالعه بود. در بررسی Jonathan و همکاران (۲۰۱۰) در آمریکا بیش‌ترین شیوع کریپتوسپور یدیوزیس ۵/۱۷درصد در گروه سنی ۱ تا ۱۰ سال بود که با این مطالعه هم‌خوانی داشت. در بررسی Hwan و همکاران (۲۰۰۶) در کشور کره، بیش‌ترین شیوع کریپتوسپوریدیوزیس را در گروه سنی بالای ۵۰ سال نشان دادند که عکس نتایج این مطالعه و هم‌چنین سایر مطالعات بود. در مطالعه دیگری که توسط Ribes و همکاران (۲۰۰۴) در کشور آمریکا به انجام رسید، بیش‌ترین شیوع مربوط به مناطق روستایی بوده و میزان آلودگی در کل افراد تحت مطالعه ۸٪درصد گزارش شد که بیش‌تر از نتایج این مطالعه بود که می‌تواند به‌علت ارتباط مستقیم با دام باشد.

هم‌چنین طبق مطالعه Houpt و همکاران (۲۰۰۵) در تانزانیا شیوع آلودگی کریپتوسپوریدیوزیس در بین بیماران دارای نقص سیستم ایمنی برآورد شد که بیماری کاملاً بدون نشانه بود و نتایج حاضر بیش‌ترین موارد ابتلا مربوط به گروه سنی ۱ الی ۱۰ سال بود. در مطالعه ابراهیم‌زاده و همکاران (۱۳۸۸) در شناسایی کریپتوسپوریدیوم پاروووم به‌روش PCR درنمونه‌های اسهالی گوساله از ژن ۱۸srRNA استفاده شد اما در این مطالعه از ژن پروتئین دیواره اووسیست (COWP) استفاده شد.

با توجه به علائم و عوارض بالینی در مبتلایان به نقص ایمنی، بیماری‌زایی شدید عمده در کودکان رخ می‌دهد. شیوع ۵/۱۷ درصدی انگل در بین کودکان ۱ تا ۱۰ سال ضرورت توجه پزشکان محترم به درخواست این آزمایش به‌خصوص با روش PCR در بین مبتلایان به اسهال احساس می‌شود، هم‌چنین با تأثیرگذاری بیماری بر بهداشت عمومی جامعه، امید است مسئولین امر با الزام اجرای دقیق موازین بهداشت به‌ویژه بهداشت آب و کنترل تماس کودکان با حیوانات آلوده، شاهد کاهش موارد ابتلای کریپتوسپوریدیوزیس انسانی بود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات آقای دکتر رزاقی عضوهیات‌علمی دانشگاه و آقای احسان سودمند کارشناس آزمایشگاه نهایت امتنان به‌عمل می‌آید.

منابع

۱. **اعظمی، م. و درستکارمقدم، د.، ۱۳۸۷.** بررسی شیوع عفونت کریپتوسپوریدیوم در کودکان زیر ۵ سال، بیماران مبتلا به ضعف سیستم ایمنی و افراد در معرض خطر در استان اصفهان. مجله طب جنوب. سال ۱۱، شماره ۱، صفحات ۴۷ تا ۵۴.

۲. **ابراهیم‌زاده، ا.؛ شایان، پ.؛ نبیان، ص.؛ رهبری، ص. و مخبر دزفولی، م.، ۱۳۸۸.** شناسایی کریپتوسپوریدیوم پاروووم با روش PCR و تعیین الگوی پروتئینی و آنتی‌ژن‌های ایمونوژنیک آن. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۶۴، شماره ۱، صفحات ۱۵ تا ۲۱.

۳. **پیرستانی، م.؛ صدرایی، ج. و دلیمی‌اصل، ع.، ۱۳۸۸.** بررسی میزان شیوع عفونت کریپتوسپوریدیایی در گاوداری‌های شهرستان شهریار، استان تهران و اهمیت بهداشتی آن در انسان. مجله پژوهش و سازندگی. دوره ۲۲، شماره ۴، صفحات ۴۴ تا ۵۳.

۴. **نهروانیان، ح.؛ آذرینوش، آ.؛ اسفندیار، ب.؛ امیرخانی، ع.؛ ضیاءپور، ض. و شادی‌فر، م.، ۱۳۹۰.** کریپتوسپوریدیوزیس در مبتلایان به گاستروآنتریت در شهرستان‌های غرب استان مازندران (۸۷-۱۳۸۶). مجله دانشگاه علوم پزشکی قزوین. دوره ۱۵، شماره ۱، صفحات ۸۶ تا ۷۸.

۵. **دبیرزاده، م.؛ بقایی، م.؛ بکائیان، م. وگودرزی، م.ر.، ۱۳۸۲.** شیوع کریپتوسپوریدیوم در کودکان زیر پنج سال مبتلا به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان تخصصی اطفال حضرت علی اصغر (ع) شهر زاهدان در طی سال‌های ۷۷-۱۳۷۶. مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان. سال ۵، شماره ۱۱، صفحات ۵۴ تا ۵۹.

۶. **Abdel Messih, I.A.; Wierzba, T.F.; Abu Elyazeed, R.; Ibrahim, A.F.; Ahmed, S.F. and Kamal, K., 2005.** Diarrhea associated with *Cryptosporidium parvum* among young children of the Nile River Delta in Egypt. J. Trop. Pediatr. Vol. 51, pp: 154-159.

۷. **Alshamiri, B. and Alzubari, M., 2010.** The prevalence of Cryptosporidium spp in children Tiaz district Yemen. Iran. Parasitol. Vol. 5, pp: 26-32.

۸. **Balouty Dehkordy, A.; Rafiei, A.; Alavi, S. and Latifi, S., 2010.** Prevalence of Cryptosporidium infection in immunocompromised patients, in south west of Iran, 2009-10. Iran. J. Parasitol. Vol. 5, pp: 42-47.

۹. **Collinet Adler, S. and Ward, H., 2010.** Cryptosporidiosis: environmental, therapeutic, and preventive challenges. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Vol. 29, pp: 927-935.

۱۰. **Fallah, M. and Haghighi, A., 1996.** Cryptosporidiosis in children with diarrhea admitted to health centers in the west of Iran (Hamadan). Med. J. Islam. Repub. Iran. Vol. 9, pp: 315-317.

۱۱. **Hamedi, Y.; Safa, O. and Haidari, M., 2005.** *Cryptosporidium* infection in diarrheic children in southeastern Iran. Pediatr. Infect. Dis. J. Vol. 24, pp: 86-88.

۱۲. **Houpt, E.; Bushen, O.Y.; Sam, N.E.; Kohli, A.; Asgharpour, A. and Ng, C.T., 2005.** Short report: asymptomatic *Cryptosporidium hominis* infection among

human immunodeficiency virus-infected patients in Tanzania. Am. J. Trop. Med. Hyg. Vol. 73, pp: 520-522.

۱۳. **Huang, D.B. and White, A.C., 2006.** An updated review on Cryptosporidium and Giardia. Gastroenterol. Clin. North. Am. Vol. 35, pp: 291-314.

۱۴. **Hwan, P.; Jin, K. and Sang, G., 2006.** A survey of Cryptosporidiosis among 2541 residents of 25 coastal Island in Jeollanam Republic of Korea. Korean. J. Parasitol. Vol. 44, No. 4, pp: 367-372.

۱۵. **Jonathans, Y., 2010.** Cryptosporidium surveillance and risk factors in the United States. Experi. Parasitol. Vol. 124, No. 1, pp: 31-39.

۱۶. **Kia, E.; Hosseini, M.; Nilforoushan, M.; Meamar, A. and Rezaeian, M., 2008.** Study of intestinal protozoan parasites in rural inhabitants of Mazandaran province, Northern Iran. Iran. J. Parasitol. Vol. 3, pp: 21-25.

۱۷. **Ribes, J.A.; Seabolt, J.P. and Overman, S.B., 2004.** Point prevalence of Cryptosporidium, cyclospora and isospora infection in patient being evaluated for diarrhea. AM. J. Clin. Pathol. Vol. 122, pp: 28-32.

۱۸. **Sazmand, A.; Rasooli, A.; Nouri, M.; Hamidinejat, H. and Hekmati moghaddam, S., 2012.** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. in camels and involved people in Yazd Province, Iran. Iran. J. Parasitol. Vol. 1, pp: 80-84.

۱۹. **Xiao, L. and Feng, Y., 2008.** Zoonotic cryptosporidiosis. FEMS. Immunol. Med. Microbiol. Vol. 52, No. 3, pp: 309-323.