

کریپتوسپوریدیوم، عامل اتیولوژیک انگلی در بروز علائم اسهالی در بیماران HIV مثبت با شمارش سلول CD4 کمتر از 200 cell/mm^3 در دهلی هند

نویسندگان: دکتر جاوید صدرائی*، دکتر مشاهد رضوی^۲، دکتر سقراط
فقیهزاده^۳ و دکتر یوشا باوهجا^۴

۱. استادیار گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲. استادیار گروه بیوسینس دانشگاه جامیا ملیا اسلامیا دهلی - هند
۳. استاد گروه آمار حیاتی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۴. رئیس گروه میکروبیولوژی و ایدز مرکز ملی بیماری‌های واگیردار دهلی - هند

Email: SADRAEIJ@yahoo.com

* نویسنده مسئول:

چکیده

مقدمه: بروز علائم بالینی اسهال مزمن از نشانه‌های اصلی در بیماران HIV مثبت بخصوص در افرادی است که دارای شمارش سلول CD4 پایین‌تر از ۲۰۰ هستند که این مسأله موجب بروز مشکلات عمده بهداشتی مثل کاهش وزن شدید در این بیماران می‌شود.

مواد و روش کار: این مطالعه به منظور تعیین رابطه بین انگل کریپتوسپوریدیوم و بروز علائم بالینی در افراد HIV مثبت با CD4 پایین‌تر از ۲۰۰ در کنار گروه شاهد فاقد HIV انجام شد. نمونه‌گیری از بیماران HIV مثبت و گروه شاهد، شامل نمونه‌های خون و مدفوع به عمل آمد. نمونه‌های خون از نظر وجود ویروس HIV توسط سه روش ELISA تأیید شدند و سپس شمارش CD4 انجام شد. نمونه‌های مدفوع پس از رنگ‌آمیزی با روش اسید فست اختصاصی مورد بررسی انگلی قرار گرفتند.

نتایج: از ۸۲ نفر بیمار HIV مثبت ۵۶/۱ درصد دارای علائم بالینی اسهال بودند. ۶۸/۴ درصد بیماران HIV مثبت آلوده به کریپتوسپوریدیوم و دارای علائم اسهال بودند که در مقایسه با گروه فاقد علائم اسهال با آزمون آماری کای دو اختلاف معناداری با $p < 0/05$ داشتند. بیش‌ترین توزیع فراوانی بیماران HIV مثبت با CD4 کمتر از ۲۰۰ در گروه سنی ۲۰-۴۰ سال بود. در بیماران گروه شاهد، افراد دارای آلودگی به کریپتوسپوریدیوم ۸۵ درصد دارای علائم اسهال بودند که در مقایسه با گروه فاقد اسهال، آزمون آماری کای دو دارای اختلاف معناداری را با $p < 0/05$ نشان داد. بروز اسهال مزمن از مشکلات عمده بهداشتی افراد ایدزی با CD4 کمتر از ۲۰۰ است. در این مطالعه ۵۶/۱ این بیماران دارای علائم بالینی اسهال و ۵۶/۵ درصد دارای آلودگی به کریپتوسپوریدیوم بودند. در گروه شاهد (۳۴ درصد) افراد دارای علائم بالینی اسهال، آلودگی به این انگل را داشتند که با آزمون یک طرفه دقیق فیشر با $p = 0/022$ اختلاف معناداری بین شیوع انگل در بیماران HIV مثبت با CD4 کمتر از ۲۰۰ نسبت به گروه شاهد ملاحظه شد.

بحث: به‌طور کلی، نتایج، نمایانگر تأثیر انگل کریپتوسپوریدیوم در بروز اسهال در هر دو گروه است و این تأثیر در افراد HIV مثبت با CD4 کمتر از ۲۰۰ به‌طور محسوس نمایان است.

واژه‌های کلیدی: کریپتوسپوریدیوم، HIV - CD4، اسهال

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال چهاردهم - شماره ۶۵
آبان ۱۳۸۵

تاریخ وصول: ۸۳/۱۰/۲۲
تاریخ پذیرش: ۸۴/۳/۴

مقدمه

یکی از نشانه‌های اصلی در بیماران HIV مثبت، بروز اسهال مزمن است که به‌عنوان یکی از یافته‌های اساسی در بیماران ایدزی محسوب می‌شود [۱]. در کشورهای در حال توسعه، مثل مکزیک، هائیتی و آفریقا، اسهال در بیش از ۴۰ درصد در بیماران ایدزی مشاهده می‌شود [۲]. مطالعه در هند به‌عنوان یکی از کشورهای در معرض خطر از نظر بیماری ایدز، نمایانگر وجود اسهال در یک سوم بیماران ایدزی است [۳]. شمارش سلول CD4 در بیماران ایدزی نشان داده که میزان CD4 در بیماران دارای اسهال کم‌تر از بیماران فاقد اسهال است ($p < 0.001$) و کریبتوسپوریدیوم به‌تنهایی در بیماران دارای اسهال با میزان CD4 پایین گزارش شده است [۴]. در بیماران با سیستم ایمنی سرکوب شده، انگل‌های فرصت‌طلب روده‌ای، بخصوص کریبتوسپوریدیوم، نقش عمده‌ای در بروز اسهال مزمن و کاهش وزن دارند [۵]. مطالعه‌ای در شمال هند، کریبتوسپوریدیوم را به‌عنوان شایع‌ترین انگل در مورد بروز اسهال معرفی می‌کند. نتایج نشان داده که ۷۵ درصد بیماران ایدزی که آزمایش انگل‌شناسی در آن‌ها انجام شده دارای علائم اسهالی هستند [۶]. به همین منظور و به‌دلیل اهمیت موضوع و نبود تحقیق مشابه در شهر دهلی و شهرهای اطراف، با همکاری مؤسسه ملی بیماری‌های واگیردار هند در شهر دهلی این تحقیق انجام شد.

مواد و روش کار

تحقیق حاضر یک مطالعه بر روی بیماران HIV مثبت با شمارش سلول CD4 و بررسی ایتولوژیک اسهال در آن‌ها بود. در این مطالعه، خون و نمونه‌های مدفوع بیماران از اوایل سال ۲۰۰۱ میلادی تا اواسط سال ۲۰۰۳ از بیماران HIV مثبت در انستیتو ملی بیماری‌های واگیردار (دهلی - هند) در بخش میکروبیولوژی و ایدز جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خون جهت تأیید آلودگی بیماران به HIV به‌وسیله سه روش متوالی الیزا

(ELISA/Simple/Rapid test) آزمایش شدند [۷]. شمارش سلول CD4 از بیماران تأیید شده به عمل آمد و بدین‌منظور از سیستم شمارش FACS استفاده گردید [۸]. نمونه‌های مدفوع جهت رنگ‌آمیزی اختصاصی اسید فست و تشخیص کریبتوسپوریدیوم در فرمالین سالین ۱۰ درصد نگهداری شدند [۹]. شرح حال بیمار از نظر داشتن علائم اسهال و مدت ابتلا به آن به‌وسیله پرسشنامه مورد بررسی قرار می‌گرفت.

جهت گروه کنترل، تعداد ۱۰۰ بیمار مراجعه‌کننده به بیمارستان برای آزمایش تشخیص انگلی انتخاب شدند که ۵۰ بیمار دارای علائم اسهال و ۵۰ بیمار فاقد این علائم بودند. گروه کنترل فاقد آلودگی به HIV بود و فقط از نظر اسهال و عوامل بروز آن مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های مدفوع این بیماران نیز در فرمالین سالین ۱۰ درصد نگهداری و در آزمایشگاه مرجع با روش رنگ‌آمیزی اختصاصی اسیدفست جهت تشخیص انگل کریبتوسپوریدیوم رنگ‌آمیزی شدند.

جهت آنالیز آماری اطلاعات از نرم‌افزار SPSS، آزمون آماری کای دو و آزمون یک طرفه دقیق فیشر استفاده شد.

نتایج

این مطالعه در دوره زمانی ۲/۵ سال (از اوایل سال ۲۰۰۱ تا اواسط سال ۲۰۰۳) بر روی ۸۲ بیمار HIV مثبت که دارای شمارش CD4 کم‌تر از ۲۰۰ بودند انجام شد و بیماران از نظر علائم بالینی اسهال مورد بررسی قرار گرفتند. تحقیق حاضر در انستیتو ملی بیماری‌های واگیردار شهر دهلی کشور هند که مرکز رسیدگی به بیماران ایدزی است به عمل آمد. جهت مقایسه تأثیر انگل، گروه دیگری از بیماران که HIV منفی بودند در دو گروه با علائم اسهالی و بدون علائم اسهال انتخاب شدند.

توزیع فراوانی بیماران HIV مثبت با CD4 کم‌تر از ۲۰۰ نشان داد که از افراد این گروه، تعداد ۴۶ نفر (۵۶/۱ درصد) دارای علائم بالینی اسهال بودند و ۳۶

که در مقایسه با گروه فاقد علائم بالینی اسهال (۱۵ درصد) آزمون آماری کای دو دارای اختلافی معنادار با $p < 0/05$ بود. در افراد فاقد آلودگی انگلی کریپتوسپوریدیوم ۷۰/۲ درصد افراد دارای اسهال و ۲۹/۸ درصد فاقد علائم بالینی اسهال بودند.

بروز اسهال مزمن از مشکلات عمده بهداشتی افراد ایدزی با CD۴ کم تر از ۲۰۰ است. در این مطالعه نیز ۵۶/۱ این بیماران دارای علائم بالینی اسهال بودند و ۵۶/۵ درصد این افراد به کریپتوسپوریدیوم آلودگی داشتند. در گروه شاهد (۳۴ درصد) افراد دارای علائم بالینی اسهال آلودگی به این انگل را داشتند که با آزمون یک طرفه دقیق فیشر با $p = 0/022$ اختلاف معناداری بین شیوع انگل در بیماران مثبت با CD۴ کم تر از ۲۰۰ نسبت به گروه شاهد وجود دارد (جدول ۵). به طور کلی نتایج نمایانگر تأثیر انگل کریپتوسپوریدیوم در بروز اسهال در هر دو گروه است و این تأثیر در افراد HIV مثبت با CD۴ کم تر از ۲۰۰ به طور محسوسی نمایان است.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که بین انگل کریپتوسپوریدیوم و ابتلا به اسهال در هر دو گروه، رابطه معناداری وجود دارد که مبین تأثیر انگل در بروز علائم اسهال است. نتایج این تحقیق در مورد اسهال در بیماران HIV مثبت با CD۴ کم تر از ۲۰۰ نتایج بررسی موهاندس (Mohandas) و همکارانش را در شهر چنددیگر (chandigarh) در شمال هند تأیید می‌کند [۶]. تحقیق مرچانت در هند هم مبین این است که یک سوم بیماران ایدزی دارای علائم بالینی اسهال هستند [۳]. بروز اسهال در این دسته از بیماران توسط اسمیت (Smith)، سانتز (Santaz) و برینک (Brink) از نقاط مختلف دنیا گزارش گردیده است [۴، ۲، ۱]. تحقیق نگارنده در بیماران HIV مثبت با CD۴های مختلف مبین این واقعیت بود که هرچه میزان شمارش سلول CD۴ بیماران کاهش می‌یابد بروز اسهال به صورت معنادار در

نفر (۴۳/۹ درصد) فاقد علائم اسهال بودند. با توجه به جدول ۱ تعداد ۳۷ نفر از ۴۶ نفر (۸۰/۴ درصد) بیماران دارای اسهال در گروه سنی ۲۰-۴۰ سال هستند. در گروه شاهد از ۵۰ بیمار دارای علائم اسهال، تعداد ۲۶ بیمار ۵۲ درصد کم تر از ۲۰ سال داشتند و در گروه ۲۰-۴۰ سال فقط ۳۲ درصد دارای اسهال بودند (جدول ۲). طبق جدول ۱ و ۲ کم ترین مورد علائم اسهال در هر دو گروه مورد و شاهد در افراد بیش تر از ۶۰ سال مشاهده شد که در افراد HIV مثبت ۲/۲ درصد و در افراد شاهد فقط ۲ درصد بود.

بیش ترین توزیع فراوانی بیماران با علائم بالینی اسهال و بدون اسهال در بیماران HIV مثبت در گروه سنی ۲۰-۴۰ به میزان ۷۴/۹ درصد مشاهده شد، ولی این فراوانی در بیماران شاهد که از عوارض و علائم اسهال شکایت داشتند در گروه سنی کم تر از ۲۰ سال به میزان ۵۴ درصد بود. در گروه سنی ۴۰-۶۰ سال بیماران HIV مثبت ۱۱ نفر (۱۳/۴ درصد) و بیماران شاهد ۱۱ نفر (۱۱ درصد) بودند. میزان بروز اسهال در این گروه ۸/۷ درصد در بیماران HIV مثبت و ۱۴ درصد در بیماران شاهد بود. با آزمون آماری کای دو، ارتباط معناداری بین سن و اسهال در گروه‌ها مشاهده نشد.

نتایج بیماران هر دو گروه از نظر آلودگی به انگل کریپتوسپوریدیوم و تأثیر این انگل بر بروز علائم بالینی اسهال در جدول ۳ و ۴ آمده است. در بیماران HIV مثبت با CD۴ کم تر از ۲۰۰ (۶۸/۴ درصد) افراد آلوده به کریپتوسپوریدیوم دارای علائم اسهال بودند و در مقایسه با گروه فاقد علائم اسهال با آزمون آماری کای دو این میزان دارای اختلاف معناداری با $p < 0/05$ است. افرادی که فاقد علائم اسهال، ولی آلوده به انگل بودند (۳۱/۶ درصد) از تعداد ۳۸ نفر بودند. در افراد فاقد آلودگی به کریپتوسپوریدیوم ۴۵/۵ درصد افراد دارای علائم اسهال و ۵۴/۵ درصد فاقد این علائم بودند.

در بیماران گروه شاهد، افراد دارای آلودگی به انگل کریپتوسپوریدیوم ۸۵ درصد دارای علائم اسهال بودند

به عنوان عامل اسهال است. انگل کریبتوسپوریدیوم در این بیماران در حد کم گزارش شده است [۱۶]. تحقیق موکوپادیا (Mukhopadya) از شهر ولور هم مبین حضور ایزوسپورابلی و باکتری‌ها به عنوان عامل پاتوزن در بروز اسهال در بیماران HIV مثبت است [۱۷]. پراساد (Prasad) از شهر لکنهو تأثیر ایزوسپورابلی و به دنبال آن کریبتوسپوریدیوم را در بروز اسهال در بیماران HIV مثبت می‌داند [۱۸].

بررسی گزارش‌های موجود پژوهشگران متعدد ذکر شده، نمایانگر تأثیر انگل کریبتوسپوریدیوم در بروز اسهال در بیماران HIV مثبت است. البته حضور ایزوسپورابلی هم در این گزارش‌ها می‌تواند تأییدکننده این مطلب باشد که ایزوسپورابلی نیز مانند کریبتوسپوریدیوم، جزء انگل‌های فرصت طلب است که بستگی به شرایط بیمار، محیط و عادات غذایی این بیماران فرصت بروز پیدا می‌کند.

حضور انگل کریبتوسپوریدیوم در بیماران اسهالی گروه شاهد می‌تواند احتمالاً نشانگر پایین بودن سطح بهداشتی افراد گروه شاهد باشد. باید توجه کرد که میزان آلودگی به این انگل عمدتاً در افراد کم‌تر از ۲۰ سال و بخصوص در بچه‌ها است. به نظر می‌رسد استفاده از آب آشامیدنی غیربهداشتی، و تماس با فضولات حیواناتی مثل گاو، سگ و خوک از منابع آلوده‌کننده این افراد باشد.

بین آن‌ها نمایان می‌شود [۱۰]. در خصوص علت بروز اسهال در بیماران با CD4 کم‌تر از ۲۰۰ مطالعه سال ۲۰۰۲ موهاندس (Mohandas) نشانگر این است که انگل کریبتوسپوریدیوم به عنوان عامل اصلی بروز اسهال در این بیماران است و تحقیق حاضر نیز یافته‌های ایشان را تأیید می‌کند [۶]. برینک (Brink) در سال ۲۰۰۰ نشان داد که کریبتوسپوریدیوم به تنهایی در بیماران دارای اسهال با CD4 پایین وجود دارد [۴]. در یک مطالعه توسط هامودا (Hammouda) در مصر در بیماران با ایمنی سرکوب شده غیرایدزی، حضور انگل‌های فرصت طلب بخصوص کریبتوسپوریدیوم به عنوان عامل اصلی بروز اسهال مزمن و کاهش وزن معرفی شده است [۵]. روسی (Rossi) از ایتالیا در تحقیقاتی که بر روی بیماران ایدزی داشته میزان تأثیر کریبتوسپوریدیوم بر بروز اسهال را بیش از انتظار داشته است [۱۱]. چاسین بونیللا (Chacin- Bonilla) از ونزوئلا هم بر روی تأثیر این انگل در بروز اسهال در بیماران فوق تأکید می‌کند [۱۲]. تحقیق حاضر ادعاهای هر چهار محقق ذکر شده است. تحقیقات پژوهشگران هندی، مانند دودار (Deodhar) از بمبی، آناندسوبارامانیان (Ananth subaramanian) از چنای (مدرس) و بلال (Ballal) از کارناتاکا، مبین نقش اصلی انگل کریبتوسپوریدیوم در بروز اسهال در بیماران ایدزی است [۱۳، ۱۴، ۱۵]. ولی تحقیقات ساتیش کمار (Satheesh Kumar) از چنای (مدرس) در سال ۲۰۰۲ در مورد این بیماران، نمایانگر حضور انگل ایزوسپورابلی

جدول ۱ توزیع فراوانی بیماران HIV مثبت با CD4 کم‌تر از 200 cell/mm^3 بر حسب گروه‌های سنی و علائم بالینی اسهال

مجموع	بیش‌تر از ۶۰	۴۰-۶۰	۲۰-۴۰	کم‌تر از ۲۰	گروه سنی	
					تعداد	گروه بیماری
۴۶	۱	۴	۳۷	۴	تعداد	دارای علائم بالینی اسهال
۱۰۰	۲/۲	۸/۷	۸۰/۴	۸/۷	درصد	
۳۶	۰	۷	۲۵	۴	تعداد	فاقد علائم بالینی اسهال
۱۰۰	۰	۱۹/۴	۶۹/۴	۱۱/۱	درصد	

جدول ۲ توزیع فراوانی بیماران شاهد بر حسب گروه‌های سنی و علائم بالینی اسهال

مجموع	بیشتر از ۶۰	۶۰-۴۰	۴۰-۲۰	کمتر از ۲۰	گروه سنی	
					گروه بیماری	
۵۰	۱	۷	۱۶	۲۶	تعداد	دارای علائم بالینی اسهال
					درصد	
۱۰۰	۲	۱۴	۳۲	۵۲	تعداد	فاقد علائم بالینی اسهال
					درصد	

جدول ۳ میزان آلودگی به انگل کریپتوسپوریدیوم در بیماران HIV مثبت با CD4 کم‌تر از 200 cell/mm^3

مجموع	فاقد علائم بالینی اسهال	دارای علائم بالینی اسهال	دارای اسهال	
			آلودگی به انگل	
۳۸	۱۲	۲۶	تعداد	دارای آلودگی به کریپتوسپوریدیوم
			درصد	
۱۰۰	۳۱/۶	*۹۸/۴	تعداد	فاقد آلودگی به کریپتوسپوریدیوم
			درصد	

* p<0.005

جدول ۴ میزان آلودگی به انگل کریپتوسپوریدیوم در بیماران شاهد

مجموع	دارای علائم بالینی اسهال	دارای علائم بالینی اسهال	دارای اسهال	
			آلودگی به انگل	
۲۰	۳	۱۷	تعداد	دارای آلودگی به کریپتوسپوریدیوم
			درصد	
۱۰۰	۱۵	*۸۵	تعداد	فاقد آلودگی به کریپتوسپوریدیوم
			درصد	

* p<0.005

جدول ۵ انتشار انگل کریپتوسپوریدیوم در بیماران HIV مثبت با CD4 کم‌تر از 200 cell/mm^3 و گروه شاهد دارای علائم بالینی اسهال

مجموع	فاقد آلودگی به کریپتوسپوریدیوم	دارای آلودگی به کریپتوسپوریدیوم	آلودگی به انگل	
			گروه بیمار	
۴۶	۲۰	۲۶	تعداد	بیماران HIV مثبت با CD4 کم‌تر از 200 cell/mm^3
			درصد	
۱۰۰	۴۳/۵	*۵۶/۵	تعداد	بیماران گروه شاهد
			درصد	

* p= 0.02

منابع

- Smith, P.D., Jana, E.N. Infectious diarrhea in human immunodeficiency virus infection. *Gastroenterol Clin North Am.* 1988; 17: 587-598.
- Sanctez, M.G., De Leon, P.S. Clinical patterns of diarrhoea in AIDS: etiology prognosis. *Rev. Invest. Clin* 1994; 46: 187-196.
- Merchant, R.H. and Shroff, R.C. HIV seroprevalence in disseminated tuberculosis and chronic diarrhoea. *Ind Ped.* 1998; 35: 883-887.
- Brink, A. K., Mahe, C., Watera, C., Lugada, E., Gilks, C., Whitworth, J. and French, N. Diarrhea, CD4 counts and Enteric Infections in a Community-Based cohort of HIV-infected Adults in Uganda. *Journal of infection* 2000; 45: 99-106.
- Hammouda, N.A., Sadaka, H.A., EI-Gebaly, W.M., EI-Nassery, S.M. Opportunistic intestinal protozoa in chronic diarrhoeic immunosuppressed patients. *J Egypt Soc Parasitol* 1996; 26: 143-153.
- Mohandas, Sehgal R., Sud, A., Malla, N. Prevalance of intestinal parasitic pathogen in HIV - seropositive individual in North. India. *Jpn. J Infect Dis* 2002; 55: 83-84.
- Baveja, U.K., Sokhey, J. Manual on laboratory diagnosis of common opportunistic infection associated with HIV/AIDS published by NICD and NACO India: 1999.
- Becton Dickinson FACS count system. User's guide 02 - 61439-04 Manual part number: 11- 10658 - 04 Rev. B. 1999.
- Ash, L.R. and Orephal, T.C. Parasites; A guide to laboratory procedure and identification. ASCP Press, Chicago 1987.
- Sadraei Javid, Moshahid A. Rizvi, Baveja U.k. Parasitic diarrreal disease in HIV/AIDS patients and its correlation with immune status. *Jamia Millia Islamia:* 2004.
- Rossi, P., Rivasi, F., Codeluppi, M. Catania, A., Tamburrini, A. Gastric involvement in AIDS associated cryptosporidiosis. *Gut* 1998; 43: 476-477.
- Chacin- Bonilla, L., Guanipa, N., Cano, G., Raleigh, X., Quijada, L. Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Zulia state, Venezuela. *Am. J Trop Med Hyg* 1992; 47: 582-586.
- Deodhar, L., Maniar, J.K., Saple, D.G. Cyclospora infection in acquired immunodeficiency syndrome. *J Assoc Physicians India* 2000; 48: 404-406.
- Ananthasubramanian M, Ananthan S, Vennila R, Bhanu S. Cryptosporidium in AIDS patients in South India; a laboratory investigation. *J Commun Dis* 1997; 29:29-33.
- Ballal, M., Prabhu, T., Chandran, A., Shivananda, P.G. Cryptosporidium and Isospora belli diarrhea in immunocompromised hosts. *Indian J Cancer* 1999; 36: 38-42.
- Satheesh Kumar, S. Ananthan, P Lakshmi. Intestinal parasitic infection in HIV infected patients with diarrhea in Chennai. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2002; 20: 143-146.
- Mukhopadhy A, Ramakrishna BS, Kang G, Pulimood AB, Mathan MM, Zachariah A, Mathai DC. Enteric pathogens in southern Indian HIV- infected patients with & without diarrhoea. *Indian. J Med Res* 1999; 109: 85-89.
- Prasad KN, Nag VL, Dhole TN, Ayyagari A. Identification of enteric pathogens in HIV- positive patients with diarrhoea in northern India 2003. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>.