



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی فسا  
دانشکده پزشکی

پایان نامه برای اخذ درجه دکترای پزشکی عمومی

عنوان :

بررسی میزان بروز اسهال های ناشی از عوامل انگلی میکروسپورییدیایی  
در کودکان مراجعه کننده به مراکز درمانی تحت نظارت دانشگاه های  
علوم پزشکی فسا در سال ۱۳۹۸

استاد راهنما :

دکتر قاسم نیکفر

استاد مشاور:

دکتر محمود آغولی

نگارش :

حدیث هوشمند

شماره پایان نامه:

شهریور ۱۳۹۸

## چکیده:

### عنوان پایان نامه

**مقدمه:** اسهال، یکی از علل مرگ و میر کودکان در کشورهای در حال توسعه است که این حقیقت بویژه در کودکان زیر ۵ سال بسیار مشخص است. در این میان، تعدادی از عوامل عفونی باکتریایی، ویروسی، انگلی نقش مهمی در ایجاد اسهال های آبکی دارند. متاسفانه نشانه ها و علائم ناشی از این عوامل عفونی، در تعدادی قابل توجهی از کودکان دچار اسهال آبکی، بسیار به هم شبیهند که این موضوع باعث می شود تا پزشکان، قادر به شناسایی این عوامل عفونی، تنها بر اساس تظاهرات کلینیکی بیماری نباشند. تعدادی از این اسهال های آبکی، به دلیل اینکه به علت عامل باکتریایی نمی باشند و چون در محیط های کشت باکتریایی، قادر به رشد نمی باشند، آمار دقیقی از میزان فراوانی آنها در برخی از مناطق ایران وجود ندارد و به اشتباه، عامل ویروسی تلقی می گردند. از جمله این عوامل، می توان انگل های تک یاخته ای میکروسپورییدی (انتروسیتوزون بینوسی و انسفالیتوزن اینتستینالیس) نام برد. برای مثال انگل انتروسیتوزون بینوسی باعث کاهش وزن، اسهال آبکی، سوء جذب و ضعف می شود. بعد از عفونت اولیه، انگل در آنتروسیت های روده تکثیر می یابد که منجر به انتشار عفونت در سراسر روده کوچک می شود. گاهی مجرای صفراوی درگیر می شوند. انتشار عفونت ممکن است شدت علائم کلینیکی را تعیین کنند بطوری که عفونت در ناحیه پروگزیمال روده کوچک، اغلب منجر به اسهال آبکی شدید می شود. حضور انگل در بخش انتهایی روده کوچک، اغلب باعث نکروز روده می شود که از نظر بالینی به شکل یک شکم حاد، تظاهر می کند. بنابراین عفونت با انگل های میکروسپورییدی، در ارتباط با سوء جذب و اسهال آبکی است. شناسایی این عوامل انگلی، با استفاده از روش های رنگ آمیزی مدفوع، استفاده از میکروسکوپ نوری و روش های مولکولی، که بعنوان روش های غیر تهاجمی محسوب می گردند، می تواند جایگزین مناسبی به جای روش های تهاجمی، همچون بافت برداری از مخاط روده شود.

متاسفانه، در منطقه فسا، هیچگونه آمار دقیقی از میزان شیوع آلودگی به عوامل میکروسپورییدی مسبب اسهال در کودکان وجود ندارد. لذا با انجام این مطالعه، علاوه بر اینکه اطلاع دقیقی از میزان بروز اسهال های

ناشی از این عوامل انگلی در کودکان کمتر از ۱۲ سال بدست می آید، از تجویز آنتی بیوتیک های غیر موثر و پیدایش مقاومت آنتی بیوتیکی جلوگیری بعمل می آید.

**روش بررسی:** از تمام کودکان کمتر از ۱۲ سال که به علت گاستروانتریت به مراکز تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی فسا مراجعه کردند ، نمونه مدفوع گرفته شد. فاکتورهایی نظیر سن، جنس، دسترسی به آب لوله کشی و ارتباط با دام نیز، برای هر بیمار مشخص شد . تمام نمونه ها به روش رسوبی ( فرمالین – اتیل استات) تغلیظ گشت. برای این منظور، حدود ۲ سی سی از نمونه اسهالی در ۱۰ میلی لیتر فرمالین ۱۰ درصد سوسپانسیون، تهیه شد و پس از عبور از یک تنظیف دو لایه، در لوله سانتریفوژ ۱۵ میلی لیتری ریخته شد . به هر لوله، ۳ میلی لیتر اتیل استات، اضافه شد و به شدت به هم زده شد . لوله ها در ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه، سانتریفوژ شد. مایع رویی شامل اتیل استات، مواد دفعی و فرمالین دور ریخته شد و از رسوب باقیمانده، حداقل ۲ گسترش، روی لام شیشه ای تهیه گشت .به منظور بررسی وجود اسپورهای میکروسپورییدیایی در نمونه های مدفوع، از رنگ آمیزی اسید فست تریکروم اصلاح شده استفاده گشت. برای این منظور، پس از تهیه گسترش نازک از مدفوع و ثابت نمودن آن با متانول، بر طبق دستورالعمل رنگ آمیزی اسید فست اصلاح شده، گسترش های تهیه شده، بر روی لام های شیشه های رنگ آمیزی و گسترش ها پس از خشک شدن، با میکروسکوپ نوری، با بزرگ نمایی ۱۰۰۰ برابر، بررسی گشتند. سپس نمونه هایی که از لحاظ میکروسکوپی حاوی ارگانیسیم هایی شبه به اسپورهای میکروسپورییدیایی بودند، با استفاده از روش فنل کلروفرم ایزوآمیل الکل، استخراج DNA صورت گرفته و با استفاده از روش PCR مورد تایید و تعیین گونه شدند.

**نتایج:** جهت بررسی نمونه های مدفوعی که به روش میکروسکوپی منفی بودند و همچنین تایید نمونه هایی که از لحاظ میکروسکوپی مثبت بودند، از پرایمرهای مختلف که قادر به شناسایی جنس و گونه های میکروسپوریدیا بودند، استفاده گردید. با استفاده از نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی و مولکولی، دو مورد مثبت میکروسپوریدیا یافت شد که با توجه به پرایمرها، جنس و گونه این دو مورد، از نوع انتروسینوزون بینوسی بوده است.

**بحث و نتیجه گیری:** چنانچه از نتایج تحقیق بر می آید، شیوع گاستروانتریت ناشی از عوامل میکروسپورییدیایی در جمعیت مورد مطالعه ۲ درصد بوده است. تحقیقات زیادی طی سال های مختلف، در

شهرهای ایران بر روی این عامل انگلی، انجام شده است. طی این تحقیقات که بر روی سه دسته از افراد (دارای گاستروانتریت، فاقد گاستروانتریت و افراد دچار نقص سیستم ایمنی) صورت گرفته است، نتایج متفاوتی را در برداشته است که بیشترین درصد مربوط به افراد دچار نقص سیستم ایمنی بوده است. با توجه به نتایج این پژوهش و نتایج تحقیقات مشابه داخلی و خارجی دیگر، میتوان نتیجه گرفت که تشخیص عامل ایجاد کننده اسهال و درمان آن، تاثیر بسزایی در کاهش مرگ و میر و بهبود هرچه سریع تر بیماران دارد.

## Abstract

### **Evaluation of the incidence of diarrhea caused by microsporidial parasitic agents in children referred to health care centers affiliated to Fasa University of Medical Sciences in 2019**

**Introduction:** microsporidia are obligate intracellular spore-forming protozoa that infect many animals and cause disease in humans, especially as opportunistic pathogens in AIDS. Chronic diarrhea and wasting are the most common symptoms of microsporidiosis, but different species invade different sites including cornea, muscles, biliary tract, lung and brain. The transmission of microsporidia is still unclear, but the most common way is thought to involve inhaling, ingesting or otherwise contracting spores. Different species of these intestinal pathogens are morphologically non-differentiable, and PCR-based techniques are recommended to detect and identify species. To the best of our knowledge, there is no data available on the frequency of intestinal microsporidiosis in apparently immunocompetent pediatric population in Iran. The aim of this study was to determine the frequency of microsporidia spp. in diarrheic children in Fasa, Iran.

**Material and methods:** In this study, acid-fast trichrome staining method and PCR technique were used for detecting microsporidia in all stool specimens.

**Results:** Totally 100 patients, 62% were male and others were female. The result of microscopic and molecular analyses including: *enterocytozoon bienersi*.

**Conclusion:** Diagnosis and treatment of diarrhea has a major impact on reducing mortality and improving recovery of patients. This study, in addition to providing accurate information on the incidence of diarrhea caused by these parasitic agents in children younger than 12 years of age, can prevent use of ineffective antibiotics. This study provides baseline data for the future monitoring of this infection in the country.