**مقاله پژوهشی**

# مقایسه فراوانی میکروسپوریدیوزیس در نمونه های بالینی بیماران دارای نقص ایمنی و افراد سالم در تهران (۱۳۹۰- ۱۳۸۹)

***فاطمه طباطبائی[۱]، فاطمه ملکی[۲]، زهرا ابره دری تفرشی[۳]، نرگس شاه محمد[۴]، مجید پیرستانی[۵*]***

[۱] استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

[۲] استاد گروه انگل شناسی، دانشکده پیراپزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی ایران ، تهران، ایران

[۳] کارشناس ارشد سلولی- مولکولی، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۴] کارشناس ارشد انگل شناسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

[۵] استادیارگروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

**نشانی نویسنده مسئول:** مجید پیرستانی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگل شناسی و حشره شناسی
E-mail: pirestani@modares.ac.ir

**وصول:۹۳/۲/۱۳، اصلاح:۹۳/۴/۲۱، پذیرش:۹۳/۵/۴**

## چکیده

**زمینه و هدف:** عفونت میکروسپورودیایی تقریباً در همه میزبانان بی مهره و مهره دار، از جمله انسان رخ می دهد. هدف از این مطالعه مقایسه فراوانی میکروسپوریدیوزیس با روش مولکولی در نمونه های مختلف بیماران مبتلا به نقص ایمنی با افراد سالم بود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه مورد-شاهدی، ۲۵۸ نمونه مدفوع و لاواژ برونکوآلوئولار (BAL) از بیماران دارای نقص ایمنی (پیوند مغز استخوان، پیوند کلیه و دارای عوارض تنفسی) مراجعه کننده به بیمارستان شریعتی و مسیح دانشوری طی سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۹ جمع آوری گردید. پس از ثبت اطّلاعات بالینی، استخراج DNA بر روی همه نمونه ها صورت گرفت. به منظور شناسایی میکروسپوریدیاهای آلوده کننده انسان (انسفالیتوزون و انتروسایتوزون) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز چندگانه (multiplex-PCR) واکنش زنجیره ای پلیمراز بر روی همه نمونه ها صورت گرفت.

**یافته ها:** به طور کلّی شیوع عفونت میکروسپوریدیایی در بیماران دارای نقص ایمنی ٤/۳ درصد و در گروه شاهد ۳/۹ درصد بود. شیوع میکروسپوریدیوزیس در بیماران تحت پیوند مغز استخوان (۵ ایزوله از ۷۰ نمونه) ۷/۱ درصد، بیماران دارای عوارض تنفّسی (٤ ایزوله از ۱۵۰ نمونه) ۲/۷ درصد و بیماران تحت پیوند کلیه (۲ ایزوله از ۳۸ نمونه) ۵/۳ درصد بود. در گروه مورد اغلب موارد عفونت در مردان و در محدوده سنّی ٦۰-٤۰ سال رخ داده بود. در نمونه لاواژ برونکوآلوئولار به ترتیب ۳ ایزوله انسفالیتوزون (۲٪) و ۱ ایزوله انتروسایتوزون (۰/۷٪) شناسایی شد. در بیماران سرطانی تحت عمل پیوند مغز استخوان ٤ ایزوله انسفالیتوزون (۵/۷٪)، ۱ ایزوله انتروسایتوزون (۱/٤٪) و در بیماران تحت عمل پیوند کلیه ۲ ایزوله انتروسایتوزون (۵/۳٪) شناسایی گردید. در گروه شاهد به ترتیب ٤ ایزوله انتروسایتوزون (۲/۲ درصد) و ۳ ایزوله انسفالیتوزون (۱/۷ درصد) شناسایی شد که اغلب موارد عفونت در مردان و در محدوده سنّی ٤۵-۳۰ سال بود.

**نتیجه گیری:** اغلب موارد میکروسپوریدیوزیس انسان با وجود عفونت با ویروس نقص ایمنی انسانی یا دیگر عوامل سرکوب کننده سیستم ایمنی، به ویژه در بیماران پیوندی ، ایجاد می شود. لذا، بررسی دقیق این بیماران از لحاظ وجود این عفونت قبل از عمل پیوند جهت جلوگیری از گسترش عفونت به سایر اعضای ضروری می باشد.

**واژه های کلیدی:** *میکروسپوریدیوز، شیوع، نقص ایمنی، بیماران، تهران.*

## مقدمه

میکروسپوریدیا از عوامل بیماری زای نوظهور حیوانات و انسان ها هستند. در سال های اخیر این عامل در افراد غیر آلوده به ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) ، حیوانات اهلی و وحشی نیز جدا شده است (۱, ۲). شیوع این عفونت در افراد دارای نقص ایمنی اکتسابی بین ۵۰-۲۰ درصد از کشورهای مختلف گزارش شده است (۳, ٤). در ایران از میزان شیوع این انگل در انسان و حیوانات اطّلاعات کامل و جامع در دسترس نمی باشد. این عفونت به علّت نبودن درمان مناسب در بیماران دارای نقص ایمنی، می تواند عواقب مرگ باری داشته باشد (۵). باوجود این که منابع عفونت انسانی به این ارگانیسم و وروش انتقال آنها به طورمستقیم مشخص نشده است، لیکن شواهدی وجود دارد که نشان می دهد انتقال از طریق منابع حیوانی به انسان امکان پذیر است (٦).

میکروسپوریدیا گروهی از عوامل انگلی درون سلولی اجباری هستند که در طول دو دهه اخیر به عنوان عوامل بیماری زای انسانی به خوبی شناخته شده اند. تابه حال ١٤ گونه میکروسپوریدیایی آلوده کننده انسان شناسایی شده است. از میان این گونه ها، گونه های انسفالیتوزون و انتروسایتوزون شایع ترین عوامل آلوده کننده انسانی به شمار می روند. **میکروسپوریدیوزیس** روده ای ناشی از انسفالیتوزون و انتروسایتوزون بینئوسی اغلب در میان افراد دارای نقص ایمنی از جمله بیماران مبتلا به سندرم نقص ایمنی اکتسابی (AIDS) گزارش شده است. با آگاهی و بهبود روش های تشخیصی، عفونت میکروسپورودیا در طیف گسترده ای از جمعیّت های انسانی از جمله دریافت کنندگان پیوند عضو، مسافران، کودکان، افراد استفاده کننده از لنزهای تماسی و افراد مسن شناسایی شده است. علاوه بر این، گونه های آلوده کننده انسان در بسیاری از حیوانات و منابع آب شناسایی شده است. نگرانی های بهداشت عمومی در مورد انتقال مشترک انسان و دام و منتقل از راه آب در خصوص عوامل میکروسپوریدیایی افزایش یافته است (۷). این عوامل می توانند اعضای مختلف بدن نظیر دستگاه گوارش، ریه، بینی، چشم، عضلات، مغز و ... را درگیر سازند. عفونت های سیستمیک نیز در اثر این ارگانیسم ها گزارش شده است. در سال ۱۹۸۵، گزارش های متعدّدی مبنی بر رابطه انتروسایتوزون بینئوسی با اسهال پایدار در افراد مبتلا به ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) ارایه شده است (۸, ۹). گونه دیگر آلوده کننده انسان، انسفالیتوزون اینتستینالیس می باشد که نه تنها انتروسیت ها بلکه فیبروبلاست ها، ماکروفاژها و سلول های اندوتلیال و اپیتلیوم دستگاه تنفّسی و ادراری را آلوده می کند بلکه همان طور که به نظر می رسد میکروسپوریدیا نقش مهمی در ایجاد اسهال مزمن در بیماران دارای نقص ایمنی بازی می کند، بدین جهت، این بیماران باید جهت تشخیص عوامل میکروسپوریدیایی در مدفوع و مایعات بیولوژیک بدن تحت نظر باشند (۱۰, ۱۱). مطالعه حاضر طی یک دوره ۱ ساله از شهریور ۱۳۸۹ تا شهریور ۱۳۹۰ انجام شد. هدف از این مطالعه مقایسه فراوانی میکروسپوریدیوزیس در نمونه های مختلف بیماران دارای نقص ایمنی با افراد سالم با روش مولکولی بوده است.

## مواد و روش ها

در این مطالعه مورد- شاهدی بر روی بیماران دارای نقص سیستم ایمنی از شهریور ۱۳۸۹ تا شهریور ۱۳۹۰ انجام شده است. در جمعیّت مورد مطالعه، نمونه گیری با توجّه به پرونده بیماران، طول مدّت درمان و دستورالعمل های پزشک مسئول انجام شد. حدّاقل ۳ ماه پس از پیوند و شروع شیمی درمانی و تجویز داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی، نمونه گیری به عمل آمد. سرکوب سیستم ایمنی در این بیماران به وسیله آسیکلوویر یا وال‌آسیکلوویر، کورتیکواستروئید در بیماران سرطانی، کوله‌ستازیس پس از پیوند کلیه و پرتو درمانی مغز استخوان انجام شده بود. گروه شاهد را بیمارانی تشکیل

می دادند که پیشینه ای در استفاده از کورتیکواستروئیدها نداشتند. انتخاب این گروه با مشورت یک متخصّص ایمنی شناس صورت گرفت. برای هر یک از شرکت کنندگان، اطّلاعات مربوط به سن، جنس و نشانه های بیماری ثبت گردید. نمونه گیری به روش غیراحتمالی و در دسترس انجام شد. داده های بالینی و جمعیّتی مربوط به هر یک از شرکت کنندگان پس از کسب رضایت نامه کتبی ثبت و اطّلاعات موجود در پرونده بیماران جمع آوری شد.

**جمع آوری نمونه**

نمونه ها شامل ۲۵۸ نمونه مدفوع و نمونه مایعات بیولوژیکی بیماران با توجّه به مشورت با پزشک و محلّ عفونت بود. در این مطالعه، ۱۵۰ نمونه لاواژ برونکو آلوئولار از بیماران تنفّسی، ۷۰ نمونه خون و مدفوع از بیماران پیوند مغز استخوان و ۳۸ نمونه ادرار از بیماران پیوند کلیه از بیمارستان های شریعتی و مسیح دانشوری در تهران جمع آوری شد. بدین منظور ۵ میلی لیتر خون حاوی مادّه ضدّ انعقاد خون گرفته شد. برای به دست آمدن گلبول های سفید خون، گلبول های قرمز با استفاده از بافر لیز (کلرید آمونیوم ۰/۱۶ مولار، تریس ۰/۱۷ مولار pH:۷/۲) حذف گردید. گلبول های سفید به دست آمده تا انجام مرحله بعد در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه های لاواژ از شست و شوی مجاری تنفّسی گروه مورد به دست آمد. برای رسوب سلول های موجود در مایع حاصل از شست و شو، نمونه ها در rpm ۵۰۰۰ سانتریفیوژ و رسوب سلولی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه های مدفوع نیز در مادّه نگهدارنده دی کرومات پتاسیم ۲/۵ درصد در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه های ادرار گرفته شده از بیماران پیوند کلیه، در rpm ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شده و رسوب سلولی در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

**استخراج DNA**

فرآیندهای استخراج DNA در تمام نمونه ها انجام شد. DNA از نمونه مدفوع به روش هضم قلیایی استخراج شد (۱۲). با استفاده از دستورالعمل کیت استخراج DNA شرکت کیاژن (QIAamp mini kit) رسوب سلولی حاصل از نمونه های لاواژ برونکوآلوئولار، خون و ادرار، DNA استخراج شد (۱۳-۱۵).

**روش انجام PCR**

با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز آشیانه ای چندگانه ( multiplex nested- PCR) ناحیه ITS ژن rRNA و همچنین قسمتی از زیر واحد کوچک (SSU) و زیر واحد بزرگ (LSU) ریبوزومی جنس انتروسایتوزون و انسفالیتوزون تکثیر یافت. در اوّلین PCR، از پرایمرهای خارجی MSP-1، MSP-2A، MSP-2B و در PCR ثانویه از پرایمرهای داخلی MSP-3، MSP-4A و MSP-4B استفاده شد (جدول ۱). با استفاده از این تکنیک هر دو جنس انسفالیتوزون و انتروسایتوزون قابل شناسایی خواهد بود. با تکثیر قطعه ای حدود bp ۳۰۰ جنس انسفالیتوزون و باند bp ۵۰۰ جنس انتروسایتوزون قابل شناسایی خواهد بود. تکثیر در واکنش ۲۵µl شامل بافر ۱x PCR، $MgCl_2$ ۲/۵mM، dNTP ۲۰۰µM ، ۱۰ pmol از هر پرایمر، (U) ۱ Taq DNA پلی مراز(فرمنتاز) انجام شد. PCR دوم با استفاده از (U) ۰/۵ DNA پلیمراز انجام شد. در هر مجموعه واکنش از یک کنترل منفی و مثبت استفاده گردید. برای مشاهده محصول PCR از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵٪ در ولتاژ۸۰ برای۷۰ دقیقه استفاده شد. سپس ژل با µg/ml ۲ اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و تحت نور ماورای بنفش مشاهده گردید (۱٦, ۱۷).

## یافته ها

در این مطالعه ۲۵۸ نمونه شامل ۱۵۰ نمونه لاواژ برونکوآلوئولار، ۷۰ نمونه خون و مدفوع و ۳۸ نمونه ادرار مورد بررسی قرار گرفت. ۵۸ درصد افراد مورد بررسی مذکر و ٤۲ درصد مؤنّث بودند. میانگین سنّی افراد مورد

**جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه**

| | پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه |
|---|---|
| پرایمرهای خارجی | MSP-1: TGAATG(G,T)GTCCCTGT MSP-2A: TCACTCGCCGCTACT<br>MSP-2B: GTTCATTCGCACTACT |
| پرایمرهای داخلی | MSP-3: GGAATTCACACCGCCCGTC(A,G)(C,T)TAT<br>MSP-4A: CCAAGCTTATGCTTAAGT(C,T)(A,C)A A(A,G)GGGT<br>MSP-4B, CCA AGC TTA TGC TTA AGT CCA GGGAG) |

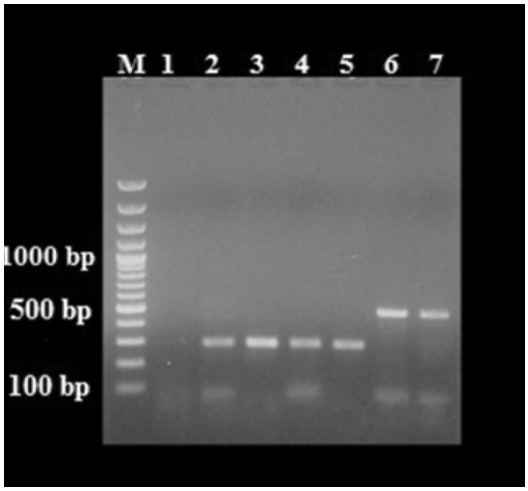
**جدول ۲: میزان آلودگی (فراوانی نسبی و مطلق)عفونت میکروسپوریدیایی در گروه مورد و شاهد**

| | | عفونت میکروسپوریدیایی | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | تعداد نمونه | انسفالیتوزون (٪) | انتروسایتوزون (٪) | مجموع فراوانی (٪) |
| گروه مورد | بیماران دارای عوارض تنفّسی | ۱۵۰ | (۲) ۳ | (۰/۷) ۱ | (۲/۷) ٤ |
| | بیماران تحت پیوند مغز استخوان | ۷۰ | (۵/۷) ٤ | (۱/٤) ۱ | (۷/۱) ۵ |
| | بیماران تحت پیوند کلیه | ۳۸ | (۰) ۰ | (۵/۳) ۲ | (۵/۳) ۲ |
| | مجموع | ۲۵۸ | (۲/۷) ۷ | (۱/۶) ٤ | (٤/۳) ۱۱ |
| گروه شاهد | بیماران دارای عوارض گوارشی | ۱۷۸ | (۱/۷) ۳ | (۲/۲) ٤ | (۳/۹) ۷ |

بررسی ۳۹ سال با دامنه سنّی ٦۸- ۱۲ سال بود. با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمراز چندگانه ( multiplex PCR) قطعات ۳۰۰ و ۵۰۰ جفت باز تکثیر یافت که به ترتیب نشان دهنده انسفالتیوزون و انتروسایتوزون می باشد (شکل ۱). به طورکلّی شیوع عفونت میکروسپوریدیایی در بیماران دارای نقص ایمنی ٤/۳ درصد بود که به تفکیک در بیماران تحت پیوند مغز استخوان (۵ ایزوله از ۷۰ نمونه) ۷/۱ درصد، بیماران دارای عوارض تنفّسی (٤ ایزوله از ۱۵۰ نمونه) ۲/۷ درصد و بیماران تحت پیوند کلیه (۲ ایزوله از ۳۸ نمونه) ۵/۳ درصد بود. در گروه بیمار اغلب موارد عفونت در مردان و در محدوده سنّی ٦۰-٤۰ سال رخ داده بود. شیوع کلّی براساس گونه شناسایی شده برای ایزوله انسفالیتوزون در نمونه لاواژ برونکوآلوئولار به ترتیب ۳ ایزوله انسفالیتوزون (۲٪) و ۱ ایزوله انتروسایتوزون (۰/۷٪) شناسایی شد. در بیماران سرطانی تحت عمل پیوند مغز استخوان ٤ ایزوله انسفالیتوزون (۵/۷٪)، ۱ ایزوله انتروسایتوزون (۱/٤٪) و در بیماران تحت عمل پیوند کلیه ۲ ایزوله انتروسایتوزون (۵/۳٪) شناسایی گردید. این بیماران اغلب دارای علائم اسهال مزمن، استفراغ، کاهش وزن، سوء هاضمه، سوء جذب، سوزش و درد معده ، یبوست، تهوّع بودند. در گروه شاهد، شیوع کلّی عفونت میکروسپوریدیایی (۷ ایزوله از ۱۷۸ نمونه) ۳/۹ درصد بود که به ترتیب ٤ ایزوله انتروسایتوزون (۲/۲ درصد) و ۳ ایزوله انسفالیتوزون (۱/۷ درصد) شناسایی شد. بیشترین میزان عفونت در بین مردان و در محدوده سنّی ٤۵-۳۰ سال دیده شد که تمامی موارد مثبت دارای اختلالات دستگاه گوارش (GI) بودند(جدول ۲).

## بحث

این مطالعه به منظور بررسی میزان شیوع میکروسپوریدیوزیس در نمونه های بالینی بیماران دارای نقص ایمنی بر روی ۲۵۸ بیمار دارای نقص سیستم ایمنی (بیماران پیوندی) در شهر تهران انجام شد و نتایج نشان داد که ٤/۳ درصد از بیماران دارای نقص ایمنی به عفونت میکروسپوریدیایی مبتلا هستند. میزان آلودگی در بین زنان ۳٦/٤ درصد و در بین مردان ٦۳/٦ درصد بود که این تفاوت از لحاظ آماری (Chi-square test) معنادار بود (p>۰/۰۰۱). در گروه بیمار، اغلب موارد عفونت در بیماران مرد و در محدوده سنّی ٦۰- ٤۵ دیده می شد درحالی که این محدوده در گروه شاهد ٤۰-۳۵ سال بود. تاکنون مطالعه ای در کشور که به بررسی فراوانی این




شکل ۱: آنالیز محصولات PCR ثانویّه بر روی ژل آگارز. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۱: کنترل منفی، ۵-۲: محصول ۳۰۰ جفت بازی (انسفالیتوزون) جدا شده از بیماران دارای عوارض تنفّسی ، پیوند مغز استخوان و کلیه، ۷-٦: محصول ۵۰۰ جفت بازی (انتروسایتوزون) جدا شده از بیماران دارای عوارض تنفّسی، پیوند مغز استخوان

عفونت در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی پرداخته باشد، انجام نگرفته است. لذا، آمار مناسبی برای مقایسه در بین گروه های مختلف این بیماران در اختیار نداشتیم.

تشخیص این بیماری در مراحل مختلف، به خصوص در مرحله حاد از اهمیّت زیادی برخوردار می باشد (۱۸). بنابراین، استفاده از یک روش مناسب جهت شناسایی این میکروارگانیسم ضروری است، که می تواند حضور یا عدم حضور آن را نشان دهد. شناسایی سریع این عوامل بیماری زا در جهت درمان و پیشگیری بیماری در گروه های خاص بیماران نظیر بیماران دارای نقص ایمنی از اهمیّت به سزایی برخوردار است. از آن جایی که در بیماران نقص ایمنی باید حتّی الامکان از روش های تشخیصی تهاجمی نظیر بیوپسی پرهیز نمود؛ لذا، با استفاده از روش های غیرتهاجمی و تکنیک های مولکولی می توان به راحتی این عفونت را تا حدّ جنس و گونه شناسایی نمود. Teache با استفاده از روش تهاجمی بیوپسی ریه، موردی از پنومونی میکروسپوریدیایی را در یک بیمار تحت عمل پیوند مغز استخوان گزارش داد (۱۹). در این مطالعه شیوع کلّی میکروسپوریدیوزیس در بیماران دارای نقص ایمنی در حدود ٤/۳ درصد بود که با نتایج مطالعه ای که El-Mahallawy بر روی کودکان سرطانی انجام داد مطابقت داشت (۲۰). Karaman طی مطالعه ای بر روی ۳۲۰ بیمار مبتلا به سرطان با استفاده از رنگ آمیزی مدفوع، شیوع ۱۰/۹٪ عفونت میکروسپوریدیای را در این بیماران گزارش کرد که بیش از درصد به دست آمده در این مطالعه بود (۲۱). با توجّه به استفاده از تکنیک مولکولی جهت شناسایی گونه های میکروسپوریدیایی، این مطالعه نسبت به مطالعاتی که تنها از روش رنگ آمیزی جهت تشخیص استفاده شده است، برتری داشته زیرا با استفاده از روش رنگ آمیزی تنها می توان به حضور این ارگانیسم اشاره نمود (٤, ۲۲, ۲۳). Chabchoub مطالعه ای بر روی ۵۱ بیمار مبتلا به ایدز و ۳۵ بیمار مبتلا به بدخیمی های خونی انجام داد که از این تعداد ۱۰/۵٪ از بیماران به میکروسپوریدیا آلوده بودند؛ که این میزان بیشتر از نتایج به دست آمده در این مطالعه بود (۲٤). در این مطالعه با استفاده از نمونه های ادرار و خون بیماران دارای نقص ایمنی عفونت میکروسپوریدیایی شناسایی شد که حاکی از عفونت فعّال و منتشر در این بیماران می باشد. در مطالعه Champion مشخص شد با استفاده از تکنیک های مولکولی تا ٦۸ ماه پس از پیوند کلیه میکروسپوریدیوزیس روده ای قابل ردیابی است (۲۵).

در این مطالعه با استفاده از تکنیک های مولکولی در مایعات بیولوژیک بیماران دارای نقص ایمنی، ۷ مورد انسفالیتوزون (۲/۷٪) و ٤ مورد انتروسایتوزون (۱/۵٪) تشخیص داده شد. بیماران آلوده به میکروسپوریدیا به طور عمده دارای اسهال مزمن، استفراغ، کاهش وزن، سوء هاضمه و سوء جذب بودند که با نتایج Aghol و همکاران مطابقت داشت (۲٦). در گروه شاهد، شیوع کلّی عفونت میکروسپوریدیایی ۳/۹ درصد بود که به ترتیب ٤ ایزوله انتروسایتوزون (۲/۲ درصد) و ۳ ایزوله انسفالیتوزون (۱/۷ درصد) شناسایی شد و همه موارد مثبت دارای علایم

گوارشی بودند.

تفاوت در میزان شناسایی عفونت میکروسپوریدیایی علاوه بر عوامل زیست محیطی، فصلی و جغرافیایی و یا تفاوت در حساسیّت روش تشخیصی مورد استفاده، همچنین، ممکن است به دلیل عدم وجود متخصّصان مجرّب در زمان تشخیص باشد (۲۷)(۲۵).

در این مطالعه درصد آلودگی چه در گروه مورد و چه در گروه شاهد در بین مردان بیش از زنان شیوع داشته که این مطلب با نتایج مطالعات Lono و همکارانش مطابقت داشت (۲۸) در مطالعه حاضر، اغلب موارد میکروسپوریوزیس در میان بیماران دارای نقص ایمنی در گروه سنّی بالاتر از ٦٠ و در گروه شاهد در محدوده سنّی ٤٥-٣٠ بود. برای هر دو گروه مورد و شاهد، تفاوت در میزان عفونت در گروه های سنّی مختلف از نظر آماری معنی دار بود (p<۰/۰۰۲).

مطالعه حاضر نشان داد که بیماران مبتلا به میکروسپوریدیوزیس از علایم بالینی دستگاه گوارش مثل اسهال مزمن شکایت اصلی بیماران به دنبال درد شکم و بی اشتهایی، اسهال آبکی بدون خون و کاهش وزن رنج می بردند. این یافته مطابق با نتایج مطالعات دیگر می باشد (۲۹-۳۱). در این مطالعه بین موارد میکروسپوریودیس روده ای و اسهال رابطه معنی داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). عدم وجود رابطه معنی دار بین میکرسپوریدیوزیس و اسهال ممکن است به حجم کم نمونه در این مطالعه مرتبط باشد.

با این حال، نقش میکروسپوریدیا به عنوان یک عامل بیماری زای روده ای در بیماران دارای نقص ایمنی نامشخص بوده و جهت روشن شدن نقش این عامل بیماری زا به تحقیقات گسترده تری نیاز می باشد (۲۳, ۳۲). علاوه بر این، فراوانی واقعی میکروسپورودیا به استفاده از تکنیک های بسیار حساس مانند PCR تعیین می شود. در میان روش های مولکولی، به رغم پر هزینه و وقت گیر بودن ، PCR بسیار حساس می باشد. PCR روشی بی خطر، حساس و اختصاصی ، غیر تهاجمی است که قادر به شناسایی تعداد بیشتری از موارد مثبت در مقایسه با ارزیابی میکروسکوپی می باشد. همچنین این روش قادر به تعیین گونه میکروارگانیسم است، که برای مدیریّت بالینی کامل و درمان لازم است (۲۲, ۳۳). این نتایج نشان داد که میکروسپوریدیا باید در غربالگری عوامل بیماری زای فرصت طلب مورد بررسی قرار گیرد و با استفاده از روش های مولکولی نظیر PCR و پرایمرهای اختصاصی گونه می توان در جهت شناسایی عوامل میکروسپوریدیایی در نمونه‌های بالینی استفاده کرد.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی ایران در قالب طرح مقایسه فراوانی میکروسپوریدیازیس در مایعات بیولوژیک افراد خاص و سالم تهران در سال ۹۰-۸۹ با کد مصوب ۱۰۳۷ انجام شده است. نویسندگان این مطالعه مراتب تشکر و قدردانی خود را از پرسنل بیمارستان دکتر شریعتی و مسیح دانشوری جهت مساعدت های صورت گرفته اعلام می دارند.

## References

1. Bednarska M, Bajer A, Sinski E, Wolska-Kusnierz B, Samolinski B, Graczyk TK. Occurrence of intestinal microsporidia in immunodeficient patients in Poland. Ann Agric Environ Med. 2014;21(2):244-8.
2. Saigal K, Sharma A ,Sehgal R, Sharma P, Malla N, Khurana S. Intestinal microsporidiosis in India: a two year study. Parasitol Int. 2013;62(1):53-6.
3. Rivero-Rodriguez Z, Hernandez A, Bracho A, Salazar S, Villalobos R. [Prevalence of intestinal microsporidia and other intestinal parasites in hiv positive patients from Maracaibo, Venezuela]. Biomedica. 2013;33(4):538-45.
4. Wumba R, Longo-Mbenza B, Menotti J, Mandina M, Kintoki F, Situakibanza NH, Kakicha MK, Zanga J,

Mbanzulu-Makola K, Nseka T, et al. Epidemiology, clinical, immune, and molecular profiles of microsporidiosis and cryptosporidiosis among HIV/AIDS patients. Int J Gen Med. 2012;5:603-11.
5. Didier ES, Maddry JA, Brindley PJ, Stovall ME, Didier PJ. Therapeutic strategies for human microsporidia infections. Expert Rev Anti Infect Ther. 2005;3(3):419-34.
6. Yazar S, Koru O, Hamamci B, Cetinkaya U, Karaman U, Kuk S. [Microsporidia and microsporidiosis]. Acta parasitologica Turcica. 2013;37(2):123-34.
7. Anane S, Attouchi H, Kaouech E, Belhadj S, Ben Chaabane T, Ben Abdallah N, Ben Othman T, Samoud A, Ben Hriz M, Kallel K, et al. [Epidemiological and clinical characteristics of intestinal microsporidiosis]. Sante. 2010;20(1):21-9.
8. Berg J, Diaz LE, Bender BS. Microsporidia in humans. Ann Int Med. 1996;125(6):522-3.
9. Didier ES, Weiss LM. Microsporidiosis: current status. Curr Opin Infect Dis. 2006;19(5):485-92.
10. Brusseau ML, Oleen JK, Santamaria J, Cheng L, Orosz-Coghlan P, Chetochine AS, Blanford WJ, Rykwalder P, Gerba CP. Transport of microsporidium Encephalitozoon intestinales spores in sandy porous media. Water Res. 2005;39(15):3636-42.
11. Nagpal A, Pritt BS, Lorenz EC, Amer H, Nasr SH, Cornell LD, Iqbal S, Wilhelm MP. Disseminated microsporidiosis in a renal transplant recipient: case report and review of the literature. Transpl Infect Dis. 2013;15(5):526-32.
12. Pirestani M, Sadraei J, Dalimi Asl A, Zavvar M, Vaeznia H. Molecular characterization of Cryptosporidium isolates from human and bovine using 18s rRNA gene in Shahriar county of Tehran, Iran. Parasitol Res. 2008;103(2):467-72.
13. Lobo ML, Xiao L, Cama V, Stevens T, Antunes F, Matos O. Genotypes of Enterocytozoon bieneusi in mammals in Portugal. J Eukaryot Microbiol. 2006;53(Suppl 1):S61-4.
14. Sulaiman IM, Fayer R, Lal AA, Trout JM, Schaefer FW, 3rd, Xiao L. Molecular characterization of microsporidia indicates that wild mammals Harbor host-adapted Enterocytozoon spp. as well as human-pathogenic Enterocytozoon bieneusi. Appl Environ Microbiol. 2003;69(8):4495-501.
15. Sulaiman IM, Fayer R, Yang C, Santin M, Matos O, Xiao L. Molecular characterization of Enterocytozoon bieneusi in cattle indicates that only some isolates have zoonotic potential. Parasitol Res. 2004;92(4):328-34.
16. Katzwinkel-Wladarsch S, Deplazes P, Weber R, Loscher T, Rinder H. Comparison of polymerase chain reaction with light microscopy for detection of microsporidia in clinical specimens. Eur J Clin Microbiol Dis. 1997;16(1):7-10.
17. Rinder H, Katzwinkel-Wladarsch S, Loscher T. Evidence for the existence of genetically distinct strains of Enterocytozoon bieneusi. Parasitol Res. 1997;83(7):670-2.
18. Pirestani M, Sadraei J, Forouzandeh M. Molecular characterization and genotyping of human related microsporidia in free-ranging and captive pigeons of Tehran, Iran. Infect Genet Evol. 2013;20:495-9.
19. Teachey DT, Russo P, Orenstein JM, Didier ES ,Bowers C, Bunin N. Pulmonary infection with microsporidia after allogeneic bone marrow transplantation. Bone Marrow Transpl. 2004;33(3):299-302.
20. El-Mahallawy H, Zaki MM, El-Arousy M, Shalabi L, Mansour T. Diagnosis of intestinal microsporidiosis in pediatric oncology patients in Egypt using modified acid fast trichrome staining versus PCR. Acta Parasitol. 2011;56(4):348-52.
21. Karaman U, Sener S, Calik S, Sasmaz S. [Investigation of microsporidia in patients with acute and chronic urticaria]. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):168-73.
22. Saigal K, Khurana S, Sharma A, Sehgal R, Malla N. Comparison of staining techniques and multiplex nested PCR for diagnosis of intestinal microsporidiosis. Diagn Micr Infect Dis. 2013;77(3): 248-9.
23. Chacin-Bonilla L, Panunzio AP, Monsalve-Castillo FM, Parra-Cepeda IE, Martinez R. Microsporidiosis in Venezuela: prevalence of intestinal microsporidiosis and its contribution to diarrhea in a group of human immunodeficiency virus-infected patients from Zulia State. Am J Trop Med Hyg. 2006;74(3):482-6.
24. Chabchoub N, Abdelmalek R, Mellouli F, Kanoun F, Thellier M, Bouratbine A, Aoun K. Genetic identification of intestinal microsporidia species in immunocompromised patients in Tunisia. Am J Trop Med Hyg. 2009;80(1):24-7.
25. Champion L, Durrbach A, Lang P, Delahousse M, Chauvet C, Sarfati C, Glotz D, Molina JM. Fumagillin for treatment of intestinal microsporidiosis in renal transplant recipients. Am J Transplant. 2010;10(8):1925-30.
26. Agholi M, Hatam GR, Motazedian MH. Microsporidia and coccidia as causes of persistence diarrhea among liver transplant children: incidence rate and species/genotypes. Pediatr Infect Dis J. 2013;32(2):185-7.
27. Sianongo S, McDonald V, Kelly P. A method for diagnosis of microsporidiosis adapted for use in developing countries. Trans R S Trop Med Hyg. 2001;95(6):605-7.
28. Lono AR, Kumar S, Chye TT. Incidence of microsporidia in cancer patients. J Gastrointest Cancer. 2008;39(1-4):124-9.
29. Endeshaw T, Kebede A, Verweij JJ, Zewide A, Tsige K, Abraham Y, Wolday D, Woldemichael T, Messele

T, Polderman AM, et al. Intestinal microsporidiosis in diarrheal patients infected with human immunodeficiency virus-1 in Addis Ababa, Ethiopia. JPN J Infect Dis. 2006;59(5):306-10.
30. Tumwine JK, Kekitiinwa A, Bakeera-Kitaka S, Ndeezi G, Downing R, Feng X, Akiyoshi DE, Tzipori S. Cryptosporidiosis and microsporidiosis in ugandan children with persistent diarrhea with and without concurrent infection with the human immunodeficiency virus. Am J Trop Med Hyg. 2005;73(5):921-5.
31. Jimenez-Gonzalez GB, Martinez-Gordillo MN, Caballero-Salazar S, Peralta-Abarca GE, Cardenas-Cardoz R, Arzate-Barbosa P, Ponce-Macotela M. [Microsporidia in pediatric patients with leukemia or limphoma]. Rev Invest Clin. 2012;64(1):25-31.
32. Andreu-Ballester JC, Garcia-Ballesteros C, Amigo V, Ballester F, Gil-Borras R, Catalan-Serra I, Magnet A, Fenoy S, del Aguila Cet, Ferrando-Marco J, Cuellar C. Microsporidia and its relation to Crohn's disease. A retrospective study. PloS one. 2013;8(4):e62107.
33. Godron A, Accoceberry I, Couret A, Llanas B, Harambat J. Intestinal microsporidiosis due to Enterocytozoon bieneusi in a pediatric kidney transplant recipient successfully treated with fumagillin. Transplantation. 2013;96(8):e66-7.

# Comparison of microsporidiosis distribution in clinical samples of immunocompromised patients and healthy persons in Tehran (2010-2011)

***Fatemeh Tabatabaie.,***
Assistant professor of Parasitology, Department of Parasitology and Mycology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

***Fatemeh Maleki.,***
Associate professor of Parasitology, Faculty of Paramedicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services,Tehran, Iran

***ZahraAbrehdari Tafresh.,***
M.Sc. in Cellular and Molecular science, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University

***Narges Shahmohammad.,***
M.Sc. in Parasitology, Department of Parasitology and Mycology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

***Majid Pirestani.,***
Assistant professor of Parasitology, Department of Parasitology & Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

**Received:**03/05/2014**, Revised:**12/07/2014**, Accepted:**26/07/2014

**Corresponding author:**
Majid Pirestani, Department of Parasitology & Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
E-mail: pirestani@modares.ac.ir

## Abstract

**Background** and purpose:Microsporidia infections occurvirtually in all in vertebrate and vertebrate hosts,in cluding humans. The this study is aimed atcomparison of distribution of microsporidiosis in various samples of Iranian immunocompromised patients and healthy individuals by molecular methods.

**Materials and Methods**: Inthiscase - control study, 258stool, blood, bronchoalveolar lavage (BAL) and urine sampleswere obtained fromimmunocompromisedpatients (bone marrowtransplant, kidney transplant and respiratory complications) referred to Masih Daneshvari and Shariati Hospitalduring 2010-2011.

After recording clinical data, DNA extraction was performed on all samples. To identifyhuman related microsporidiosis (Encephalitozoon spp. And Enterocytozoon spp.), polymerase chain reactionwas performedusingspecific primers andmultiplex-PCR on allsamples.

**Results:** Overall, the prevalence of microsporidiosis in immunocompromised patients were 4.3 and 3.9 percent in cases and control group, respectively.Incidence of microsporidiosis in patients undergoing bone marrow transplantation (5 isolates from 70 samples) was 7.1%, in patients with respiratory complications (4 isolates from 150 samples) 2.7 percent and patients undergoing renal transplantation (2 isolates from 38 samples) 5.3 percent. In the case group, most cases of infection occurred among men at the age of40-60 years. In bronchoalveolar lavage samples 3 isolates of Encephalitozoon (2%) and one isolate of Entrocytozoon (0.7%), were identified, respectively. In cancer patients undergoing bone marrow transplantation 4 isolates of Encephalitozoon (5.7%), 1 isolate of Enterocytozoon (1.4%) and in patients with renal transplants 2 isolates of Enterocytozoon (5.3%)were detected. 4 isolates of Enterocytozoon (2.2%) and 3 isolates of Encephalitozoon (1.7%) were identified in the control group that most infections occurred among menat the age of30-45years.

**Conclusion**:The most cases of human microsporidiosis are associated with human immunodeficiency virus infection or other states of immunosuppression, particularly in organ transplant recipients; The obtained results confirm this claim.

**Keywords:** *microsporidiosis, prevalence, immunodeficiency, patients, Iran*