

میزان شیوع بیماری کریتوسپوریدیوزیس

در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان‌های دامپزشکی استان البرز



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

حسین مهدوی فکجور^۱، سهراب رسولی*^۲، امیدمحمدپور^۳، اسماعیل مینائی^۴

دوره دوازدهم، شماره یک، بهار و تابستان ۱۴۰۰

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پاتوبیولوژی، ارومیه، ایران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

۴- دانشگاه ارومیه، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول: Sohrab_rasouli86@yahoo.com

دریافت مقاله: ۴ اردیبهشت ماه ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۱۹ بهمن ماه ۱۳۹۹

چکیده

کریتوسپوریدیوم انگل‌های کوچک کوکسیدیایی هستند که به سلول‌های اپی تلیال گوارشی و تنفسی مهره‌داران حمله می‌کنند. انگل داخل سلولی و خارج سیتوپلاسمی بوده و عامل اسهال‌های خود محدودکننده در حیوانات می‌باشند. میزان اختصاصی برای انگل وجود ندارد و در دام‌های مختلف مشاهده می‌شود. در این بررسی سعی بر آن شده است تا میزان شیوع عفونت در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان‌های دامپزشکی استان البرز مورد بررسی قرار گیرد. طی این بررسی تعداد ۱۱۲ نمونه مدفوع از سگ‌های ارجاعی به بخش داخلی بیمارستان‌های دامپزشکی شهرستان کرج در استان البرز جمع‌آوری و به روش رنگ‌آمیزی ذیل نیلسون تغییر یافته مورد آزمایش قرار گیرد که از این تعداد ۳ نمونه مدفوع از سگ‌های زیر ۱۲ ماه از لحاظ دفع اووسیت مثبت گزارش گردید همچنین ۲ نمونه مدفوع از سگ‌های بین ۱ الی ۲ سال، ۱ نمونه مدفوع از سگ‌های بین ۲ الی ۳ سال و ۱ نمونه مدفوع از سگ‌های بین ۳ الی ۴ سال از لحاظ دفع اووسیت مشاهده گردید. از نظر آماری رابطه معنی‌داری بین میزان آلودگی و سن مشاهده گردید ($P < 0.05$)، اما در رابطه با جنس ارتباط معنی‌داری مشاهده نگردید ($p > 0.05$).

کلمات کلیدی: کریتوسپوریدیوم، سگ، نقص سیستم ایمنی، اسهال

مقدمه

تحت عنوان کوکسیدیا یا تشکیل دهنده کیست نامیده می- شوند. گونه های بسیاری از کریپتوسپوریدیوم پس از جداسازی آن‌ها از میزبان مربوطه نام گذاری شده‌اند که اووسیست‌های جدا شده از یک شخص باعث آلوده کردن پستانداران، پرندگان، خزندگان و دوزیستان می‌شود که در پستانداران آسیب ساختاری و عملکردی روده‌ها، بویژه ایلتوم در نوزادان و نیز در بالغین با سیستم نقص ایمنی باعث پیامد بالینی بروز اسهال با شدت و مدت متفاوت می‌باشد (۱۰). در کشورهای مختلف، شیوع کریپتوسپوریدیوزیس از صفر درصد تا ۴۴/۸ درصد متفاوت می‌باشد (۲۰). به عنوان مثال در برزیل شیوع کریپتوسپوریدیوم کنیس *C. Canis* از ۱/۴ درصد تا ۲۶/۲ درصد متفاوت می‌باشد (۱۰). در اسکاتلند طی مطالعه‌ای که انجام گرفته است مشخص شده است که شیوع کریپتوسپوریدیوم در سگ‌هایی که به پارک‌ها مراجعه می‌کنند، زیر ۱ درصد می‌باشد (۱۱). میرزایی در سال ۲۰۱۰ طی مطالعه‌ای مشخص کرد که شیوع کریپتوسپوریدیوم در کرمان ۴/۱ درصد می‌باشد (۱۷). با توجه به این که این بیماری می‌تواند قابل انتقال بین انسان و دام باشد و همچنین به علت بیماری‌زایی و اختلال در سلامت حیوان و بهداشت عمومی بیماری کریپتوسپوریدیوزیس، در سراسر جهان مطالعات گسترده- ای در این زمینه صورت گرفته است لذا با توجه به عوامل ذکر شده این مطالعه با هدف میزان شیوع بیماری کریپتوسپوریدیوزیس در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان- های دامپزشکی استان البرز صورت گرفت.

کریپتوسپوریدیوزیس یک بیماری زئونوز با گسترش جهانی می‌باشد (۲۱) که بصورت عفونت انگلی در دنیای انسان‌ها و حیوانات نمود پیدا میکند که به لحاظ بهداشتی عموماً در انسان‌ها و از لحاظ اقتصادی عموماً در حیوانات و پرورش دهندگان بسیار حائز اهمیت می‌باشد که باعث ایجاد گاستروآنتریت شدید و طولانی و حتی کشنده و گاهی بیماری‌های تنفسی در اطفال و انسانها و در حیوانات با نقص سیستم ایمنی و بیماران (**Acquired immune deficiency syndrome**) می‌باشد، این بیماری ضایعات و صدمات بسیاری را بر سیستم گوارشی فرد مبتلا بر جای می‌گذارد که منجر به اسهال ملایم تا شدید و حتی مرگ و میر می‌گردد (۲۳).

بیماری کریپتوسپوریدیوزیس از دسته بیماری‌های تک- یاخته عفونی- روده‌ای که با بلع اووسیست کریپتوسپوریدیوم به صورت مدفوعی- دهانی انتقال می‌یابد که باعث آلوده کردن سلول‌های روده‌ای آنتروسیست‌ها می‌شود (۱۹). کریپتوسپوریدیوم یکی از عوامل مهم بیماری‌زایی روده‌ای با پراکندگی وسیع در دام‌های جوان و انسان‌هاست و در دیگر میزبان‌ها (اغلب اوقات بدون ظهور علائم بالینی است) نیز شایع است (۱،۳). کریپتوسپوریدیوم یکی از جنس‌های تک یاخته کوکسیدیا هستند که بعضی‌ها تمام چرخه زندگی خود را در دستگاه گوارشی مهره داران طی می‌کنند (۲۲) مثل کریپتوسپوریدیوم و آن‌هایی که قادر به طی مرحله خارج روده‌ای هستند یا به این مرحله نیاز دارند

مواد و روش کار

طی این بررسی جهت دستیابی به میزان آلودگی انگل کریپتوسپورییدیوم در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان‌های دامپزشکی شهرستان کرج در استان البرز در طی دو نوبت در مجموع ۱۱۲ نمونه از بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های شهرستان کرج جمع‌آوری گردید و از لحاظ آلودگی مورد مطالعه قرار گرفتند. در این بررسی از سگ‌هایی که به علت بیماری‌های اسهالی آورده می‌شدند، نمونه‌های مدفوعی تهیه می‌شد. یک‌بار در مرحله اول ۴۲ مورد نمونه اسهالی در ظروف مخصوص اورین باتل استریل قرار داده شده و پس از پر کردن مشخصات و تاریخ نمونه‌برداری و سن و جنسیت سگ‌ها جهت تهیه گسترش به محیط آزمایشگاهی آورده شدند در آزمایشگاه نمونه‌های اسهالی از گاز استریل دو لایه عبور داده و سپس به مدت ۱۰-۵ دقیقه در سانتریفوژ با ۲۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده و پس از دور ریختن محلول بالایی (مایع رویی) رسوب یکنواخت به دست آمده را روی لام به کمک لامی دیگر گسترش تهیه کرده و در دمای محیط آزمایشگاهی خشک گردید و بعد از خشک کردن لام‌ها با روش رنگ‌آمیزی ذیل نیلسون تغییر یافته رنگ آمیزی کردیم و در مرحله دوم نمونه‌گیری مجدد ۷۰ نمونه لام به کمک سوآپ از غشاء جدار داخلی رکتوم موارد اسهالی نمونه مدفوعی تهیه و روی لام گسترش داده (۱۵) و بعد از خشک کردن به روش رنگ آمیزی ذیل نیلسون رنگ‌آمیزی گردید. نمونه‌برداری در بازه سنی بین دو ماهه تا پنج سال با توجه به اپیدمی بیماری در گروه سنی نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌ها تهیه و

مراحل رنگ آمیزی و فیکساسیون صورت پذیرفت و لام-های تهیه شده جهت بررسی و مشاهده در آزمایشگاه انگل شناسی مشاهده و تأیید گردید.

جهت رنگ‌آمیزی از نمونه‌های تهیه شده از روش ذیل نیلسون تغییر یافته به شرح زیر انجام شد:

- خشک کردن گسترش در دمای محیط آزمایشگاه
- ثابت کردن در متانول ۹۶٪ به مدت ۵-۲ دقیقه
- خشک کردن مجدد در دمای محیط آزمایشگاه
- ثابت کردن با سه بار عبور دادن لام از میان شعله‌آتش
- رنگ‌آمیزی با کربول فوشین غلیظ (۱ گرم فوشین بازیک + ۱۰ میلی لیتر الکل اتیلیک را با ۵ گرم فنل که در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده به خوبی مخلوط گردیده) به مدت ۳-۲ دقیقه بدون حرارت
- شستشو زیر آب
- رنگ‌زدایی با محلول اسید الکل (اسید سولفوریک در محلول الکل اتیلیک ۷۰٪ به نسبت ۳٪ یعنی ۹۷ سی سی الکل ۷۰٪ به اضافه ۳ سی سی سولفوریک تجارתי
- شستشو زیر آب
- رنگ‌آمیزی با سبز مالاشیت ۵٪ به مدت ۲ دقیقه
- شستشو زیر آب
- خشک کردن در دمای محیط آزمایشگاه

پس از خشک کردن، لام‌ها را می‌توان با عدسی شیئ ×۴۰ در مورد کریپتوسپورییدیوم پارووم و برای تشخیص افتراقی از ذرات کاذب از عدسی ×۱۰۰ روغنی استفاده کرد. در این روش رنگ آمیزی، اووسیت‌های کریپتوسپورییدیوم با عدسی شیئ و چشمی ×۱۰۰ مورد

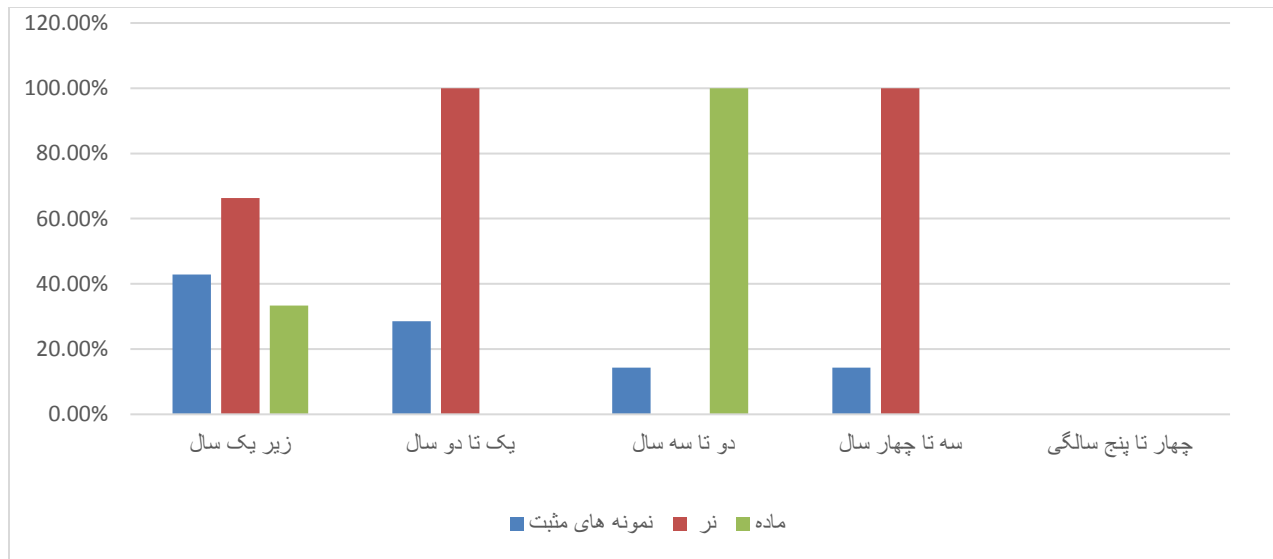
با در نظر گرفتن این مسئله که شیوع بیماری در سنین پایین بیشتر رخ می دهد کل نمونه های اخذ شده از سگ- های زیر ۵ سال بوده است. در کل ۱۱۲ نمونه لام تهیه شد که در مرحله اول ۴۲ عدد لام و در نوبت دوم ۷۰ لام تهیه شد. لام های تهیه شده را با روش ذیل نیلسون تغییر شکل یافته رنگ آمیزی کرده که با عدسی $\times 100$ اووسیست ها مشاهده شدند؛ در این مطالعه از ۱۱۲ مورد لام فقط در ۷ مورد اووسیست مشاهده گردید که در صد آلودگی ۶٫۲۵٪ می باشد. (جدول ۱ و نمودار ۱)

مشاهده قرار گرفتند که به صورت اجسام گرد تا بیضوی به رنگ قرمز در زمینه سبز کاملاً مشخص به اندازه ۳-۶ میکرون بودند. اساس تشخیص اووسیست های کریپتوسپوریدیوم در این روش دیدن اسپوروزوئیت ها در درون اووسیست بودند. برای بررسی لام ها ابتدا کل لام بررسی شده و سپس در ۵ میدان میزان آلودگی بر حسب (+) ، (++) و (+++) نشان داده شدند (۱۵).

نتایج

جدول ۱ - نمونه های اخذ شده از مراجعه کنندگان با علایم اسهال به آزمایشگاه ها

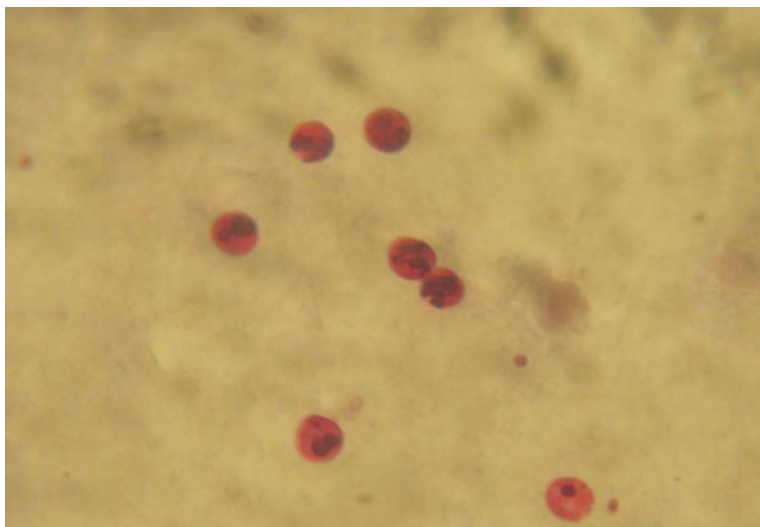
گروه سنی	تعداد نمونه	تعداد موارد مثبت	درصد موارد مثبت	تعداد موارد منفی	درصد موارد منفی
تولد - ۱ سالگی	۳۷	۳	۸/۱	۳۴	۹۱/۸۹
۱ سالگی - ۲ سالگی	۲۹	۲	۶/۸۹	۲۷	۹۳/۱۰
۲ سالگی - ۳ سالگی	۲۵	۱	۴	۲۴	۹۶
۳ سالگی - ۴ سالگی	۱۴	۱	۷/۱۴	۱۳	۹۲/۸۵
۴ سالگی - ۵ سالگی	۷	۰	۰	۷	۱۰۰
کل	۱۱۲	۷	۶/۲۵	۱۰۵	۹۳/۷۵



نمودار ۲- نمودار درصد میزان آلودگی به تفکیک جنسیت

مشاهده گردید که از ۳۷ نمونه اخذ شده ۳ نمونه مثبت مشاهده گردید که در قسمت بحث و نتیجه‌گیری به تفصیل در مورد آن بحث شده است. به طور کلی تفکیک‌پذیری از لحاظ جنسیت سگ‌ها نیز مد نظر قرار گرفت (نمودار ۲) که رابطه معنی‌داری با جنسیت مشاهده نگردید.

در طول این مطالعه تعداد ۱۱۲ نمونه از سگ‌های ارجاعی به بیمارستان‌های دامپزشکی استان البرز که اکثراً در کلینیک دام کوچک دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج جمع-آوری و بررسی گردید که در قالب سن مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها به پنج گروه تقسیم بندی شدند (جدول ۱) که بیشترین میزان آلودگی در سگ‌های زیر یک سال



تصویر شماره ۱- اووسیست های دفع شده از مدفوع سگ، تهیه شده در آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد

10. Gizzi, A.B.R., Oliveira, S.T., Leutenegger, C.M., Estrada, M., Kozemjak, D.A., Stedile, R., Marcondes, M., Biondo, A.W., 2014. Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Vet. Res.* 10, 23–30.
11. Grimason, A.M., Smith, H.V., Parker, J.F.W., Jackson, M.H., Smith, P.G., Girdwood, R.W.A., 1993. Occurrence of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium* sp. oocysts in faeces from public parks in the west of Scotland. *Epidemiol. Infect.* 110, 641–645.
12. Hashemzadeh Farhang, H. (2018) Evaluation of the prevalence of intestinal protozoa in dogs of Tabriz city. *Veterinary journal Tabriz* 12, 2, 105-111.
13. Heidari, H., Gharakhani, J. (2012) Study of *Cryptosporidium* Infection in the Livestock (Cattle, Sheep, Dogs, Fowls) and Humans, in Hamadan City and Its Suburbs during 2006-2011. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences* 19,3, 67-74.
14. Hijjawi, N., Ng, J., Yang, R., Atoum, M.F.M., Ryan, U., 2010. Identification of rare and novel *Cryptosporidium* GP60 subtypes in human isolates from Jordan. *Exp. Parasitol.* 125, 161–164.
15. Kakekhani, S., Bahrami, A.M., Ahmady Aasbchin, S., Doosti A. (2011) A study on protozoan infections (*Giardia*, *Entamoeba*, *Isoapora* and *Crptosporidium*) in stray dogs in Ilam province. *Veterinary journal Tabriz*, 5, 3, 1325-1330.
16. Lucca, P., Gaspari, E.M., Bozzo, L.M., Funada, M.R., Silva, S.O.S., Luliano, W., Soares, R.M., 2009. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from HIV infected patients from an urban area of Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 51, 341–343.
17. Mirzaei, M., 2010. Prevalence of Stray dogs with Intestinal Protozoan Parasites. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 5 (2), 86–90
18. Moore, C.E., Elwin, K.; Phot, N., Seng, C., Mao, S., Suy, K., Kumar, V., Nader, J., Bousfield, R., Perera, S., Bailey, J.W., Beeching, N.J., Day, N.P., Parry, C.M., Chalmers, R.M., 2016. Molecular characterization of *Cryptosporidium* species and *Giardia duodenalis* from symptomatic cambodian children. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10, e0004822.
19. Osman, M., Bories, J., El Safadi, D., Poirel, M.T., Gantois, N., Benamrouz-Vanneste, S., Delhaes, L., Hugonnard, M., Certada, G., Zenner, L., Viscogliosi, E., 2015. Prevalence and genetic diversity of the
1. Bern, C., Hernadez, B., Lopez, M.B., Arvowood, M.J., Merida, A.M., Klein, R.E. (2000) The concentsting epidemiology of cyclospora and cryptosporidium among outpatients in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 63: 231-235.
2. Bhattacharya, M.K., Teka, T.F., Fuchs, G.J. (1997) *Cryptosporidium* infection in children in urban Bangladesh. *J Trop Pediatr* 1997; 43: 282-286.
3. Bird RG. Protozoa and viruses. (1987) Human cryptosporidiosis and concomitant viral enteritis. In: Caning EU (ed), *Parasitological Topics*. Lawrence: Allen Press :39 -47.
4. Bowman, D.D., Lucio-Forster, A., 2010. Cryptosporidiosis and giardiasis in dogs and cats: Veterinary and public health importance. *Exp. Parasitol.* 124, 121–127.
5. Dacal, E., Saugar, J.M., De Lucio, A., Hernández-De-Mingo, M., Robinson, E., Köster P.C., Aznar-Ruiz-De-Alegría, M.L., Espasa, M., Ninda, A., Gandasegui, J., Sulleiro, E., Moreno, M., Salvador, F., Molina, I., Rodríguez, E., Carmena, D., 2018. Prevalence and molecular characterization of *Strongyloides stercoralis*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Blastocystis* spp. isolates in school children in Cubal, Western Angola. *Parasit. Vectors.* 11, 67.
6. Elwin, K., Hadfield, S.J., Robinson, G., Chalmers, R.M., 2012. The epidemiology of sporadic human infections with unusual cryptosporidia detected during routine typing in England and Wales, 2000-2008. *Epidemiol. Infect.* 140, 673–683.
7. Gatei, W., Wamae, C., Mbae, C., Waruru, A., Mulinge, E., Waithera, T., Gatika, S.M., Kamwati, S.K., Revathi, G., Hart, C.A., 2006. Cryptosporidiosis: prevalence, genotype analysis, and symptoms associated with infections in children in Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75, 78–82.
8. Gatei, W., Barrett, D., Lindo, J.F., Eldemire-Shearer, D., Cama, V., Xiao, L. Unique *Cryptosporidium* Population in HIV-Infected Persons, Jamaica., 2008. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 841–843.
9. González-Díaz, M., Urrea-Quezada, A., Villegas-Gómez, I., Durazo, M., Garibay-Escoba, R.A., Hernández, J., Xiao, L., Valenzuela, O. *Cryptosporidium canis* in Two Mexican Toddlers. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 35, 1265–1266.

- intestinal parasites *Blastocystis* sp. and *Cryptosporidium* spp. in household dogs in France and evaluation of zoonotic transmission risk. *Vet. Parasitol.* 214, 167–170.
20. Rosanowski, S.M., Banica, M., Ellis, E., Farrow, E., Harwood, C., Jordan, B., James, C., Mckenna, D., Fox, M., Blake, D.P., 2018. The molecular characterisation of *Cryptosporidium* species in relinquished dogs in Great Britain: a novel zoonotic risk? *Parasitol. Res.* v. 117, p. 1663–1667.
21. Tavassoli, M., Javadi, S., Soltanlinejad F., Rasouli, S., Etminanfar, F. (2010) Gastrointestinal parasites of pet dogs in Urmia city. *Veterinary researches biological products* 23, 2, 18-24.
22. Xiao, L., Cama, V.A., Cabrera, L., Ortega, Y., Pearson, J., Gilman, R.H., 2007. Possible transmission of *Cryptosporidium canis* among children and a dog in a household. *J. Clin. Microbiol.* 45, 2014–2016.
5. Lanari. M.R., Taddeo. H., Domingo. E., Centeno. M.P., Gallo. L. (2003) Phenotypic differentiation of exterior traits in local *Criollo* goat population in *Patagonia Argentina*. *Archives Animal Breeding* 46 (2) 347-356.
6. Pieszka. M., Kulisa. M., Luszczynski. J., Dlugosz. B. (2005) Biometric parameters of *Arabian* mares from Polish studs between 1945- 2002. *Biotechnology in Animal Husbandry* 21 (5-6) 89-91.
7. Sobczuk. D., Komosa. M. (2012) Morphological differentiation of *Polish Arabian* Horses- Multivariate analysis. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 56 (2) 623-629.
8. Takaendengan. B.J., Paputungan. U., Noor. R.R., Adiani. S. (2012) Live weight estimation by chest girth, body length and body volume formula in *Minahasa Local Horse*. *Media Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogo* 35 (3) 80-84.
9. Yakubu. A., Ogah. D.M., Idahor. K.O. (2009) Principal component analysis of the morphostructural indices of *White Fulani* cattle. *Trakia Journal of Sciences.* 7 (2) 67-73.