

## ● مقالات تحقیقی (۶)

# بررسی تشخیص آزمایشگاهی دیسانتری آمیبی

چکیده

تشخیص آزمایشگاهی دیسانتری آمیبی و افتراق آن از سایر عوامل ایجاد کننده دیسانتری، یکی از مشکلات بخش انگل‌شناسی در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌باشد. تشخیص صحیح عامل بیماری به دقت و مهارت کارکنان آزمایشگاه، انتخاب تکنیک مناسب و آزمایش به موقع نمونه مدفوع بستگی دارد. مطابق این بررسی در طی نیمه دوم سال ۱۳۷۷ ضمن حضور در ۷ آزمایشگاه دولتی و بخش خصوصی در مناطق مختلف تهران و کرج جمعاً ۵۳ مورد دیسانتری آمیبی و ۱۸ مورد دیسانتری غیرآمیبی گزارش شده توسط بخش انگل‌شناسی آزمایشگاه، همزمان به سه روش بررسی گسترش مستقیم مدفوع، کشت نمونه در محیط سرم منعقده اسب و رنگ آمیزی تری کروم برای موارد مشکوک، مورد بررسی مجدد قرار گرفت. از ۵۳ مورد دیسانتری آمیبی گزارش شده ۱۲ مورد (۲۲/۶٪) مثبت واقعی و ۴۱ مورد (۷۷/۴٪) مثبت کاذب تشخیص داده شد. تمامی ۱۸ مورد دیسانتری غیرآمیبی از نظر وجود آنتامباهیستولیتیکا منفی واقعی بودند و منفی کاذب مشاهده نشد.

مهمترین عوامل در تشخیص مثبت کاذب اشتباه شدن آنتامباهیستولیتیکا با سلولهای ماکروفاز و پلی مرفو-تکلیورها و در درجه دوم اشتباه شدن با ترلفوزوئیت آنتامباکلی، اندولیماکس نانا، بلاستوسیستیس و دی‌آنتامبافاراژیلیس بود.

**واژه‌های کلیدی:** آنتامباهیستولیتیکا، دیسانتری، تشخیص آزمایشگاهی

روde بزرگ انسان است که غالباً به صورت همزیست و بی‌آزار می‌باشد. اما حدوداً در ۱۰ درصد افراد آلوده این تک‌یاخته مهاجم گشته و بیماریهای گسترده‌ای از دیسانتری تا

مقدمه



آنتمباهیستولیتیکا تک‌یاخته ساکن

حسین هوشیار

دانشجوی دکتری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، دانشکده بهداشت، گروه آنتامباکلی، اندولیماکس نانا، بلاستوسیستیس و دی‌آنتامبافاراژیلیس بود.

دکتر مصطفی رضائیان

استاد دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، دانشکده بهداشت، گروه آنتامباکلی، اندولیماکس نانا، بلاستوسیستیس و دی‌آنتامبافاراژیلیس بود.



مشاهده گردد. برای افتراق آنتامباهیستولیتیکا از سایر آمیب‌های روده به وضعیت حرکت و نوع پاهای کاذب و نیز خصوصیات سیتوپلاسم در گسترش مستقیم تهیه شده از نمونه مذکور یا برداشت شده از محیط کشت توجه می‌گردید همچنین چنانچه با موردی مشکوک در نمونه مذکور بیمار یا گسترش تهیه شده از محیط کشت برخورد می‌شد، رنگ آمیزی تری کروم<sup>[۶]</sup> برای دیدن خصوصیات هسته و موقعیت کاریوزوم بعمل می‌آمد.

مشخصات فردی بیماران از قبیل سن، جنس و نیز اگر انگل دیگری در نمونه مشاهده می‌گردید، جداگانه ثبت می‌شد. در این مدت جمماً ۷۱ مورد دیسانتری که ۵۳ مورد آن توسط آزمایشگاههای مذکور به عنوان دیسانتری آمیبی و ۱۸ مورد دیسانتری غیرآمیبی و با علل دیگر گزارش گردیده بود به روش‌های فوق بررسی مجدد شد.

## نتایج

از ۷۱ مورد دیسانتری مورد بررسی ۴۳ مورد (۵۶٪) مربوط به مردان و ۲۸ مورد (۳۹٪) مربوط به زنان می‌باشد (نمودار ۱). در این بررسی از ۵۳ مورد دیسانتری که به عنوان دیسانتری آمیبی گزارش شده بود فقط در ۱۲ مورد (۲۲٪) آنتامباهیستولیتیکا مشاهده شد و در ۴۱ مورد (۷۷٪) با روش‌های مذکور به موردی از آنتامباهیستولیتیکا برخورد نشد لذا می‌باشد مثبت کاذب بوده باشد (جدول ۱). از این ۴۱ مورد فوق در ۶ مورد حداقل یکی از انگل‌های آنتامبا کلی - اندولیماکس نان، دی آنتامبا فرازیلیس و بلاستوسیستیس

آمیبیاز باعث می‌شود تا ضمن جلوگیری از سرگردانی بیماران، با توجه به عوارض جانبی زیاد داروهای ضد آمیب نظیر مترونیدازول و هزینه اقتصادی آن، از مصرف ناجای این داروها خودداری شود.

در این بررسی، با مراجعه به چند آزمایشگاه بیمارستانی و بخش خصوصی در مناطق مختلف تهران و کرج، از نمونه‌های مذکور دیسانتریک که آنده به آنتامباهیستولیتیکا گزارش می‌شوند در همان روز و از همان نمونه برداشت و به سه روش مختلف مورد بررسی مجدد قرار گرفت و مشکلات موجود در تشخیص صحیح و دقیق این بیماری بحث گردیده همچنین برای تشخیص بهتر و دقیق تر پیشنهادهای ارایه گردیده است.

## روش کار

طی شهریور تا اسفند ماه سال ۱۳۷۷ با انتخاب تصادفی ۷ آزمایشگاه در نقاط مختلف تهران و کرج (۴ آزمایشگاه بیمارستانی و ۳ آزمایشگاه بخش خصوصی) ضمن هماهنگی با مسئولین آزمایشگاهها، در بخش انگل‌شناسی حضور یافته و از کلیه نمونه‌هایی که به عنوان دیسانتری آمیبی گزارش می‌گردید در همان روز و از همان نمونه با روش‌های تهیه گسترش مرتبط با سرم فیزیولوژی و محلول لوگل و کشت نمونه در محیط سرم منعقده اسپ (Hsr+s<sup>(۱)</sup>) با آزمایش مجدد بعمل می‌آمد. گسترش‌های مرتبط بلافاصله مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت و محیط‌های کشت پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت قرار گرفتن در انکوباتور ۳۷ درجه آزمایش می‌شدند. در این بررسی نمونه‌هایی مثبت تلقی می‌گردید که حداقل به یکی از روش‌های مذکور آمیب

آمیبیاز خارج روده‌ای نظیر آبشهای کبدی، ریوی و غیره می‌تواند ایجاد نماید. آمیبیازیس با ایجاد بیش از ۱۰۰ هزار مورد مرگ و میر را اثر تکیاخته‌ها، پس از مالاریا محسوب می‌گردد<sup>[۴،۵]</sup>. در بعضی کشورها نظیر مکزیک آمیبیازیس یکی از ده علت اولیه مرگ و میر است<sup>[۵]</sup>.

دیسانتری آمیبی در اثر تهاجم این تکیاخته به بافت‌های روده انسان ایجاد می‌گردد. در مهاجم شدن این تکیاخته علاوه بر فاکتورهای مربوط به انگل نظیر ویرولانس آمیب، فاکتورهای میزبان از جمله وضع تغذیه و فلور باکتریایی روده نیز نقش دارند<sup>[۲]</sup>. تشخیص آزمایشگاهی دیسانتری آمیبی از دیسانتری‌های باکتریال، بالانتیدیال و عفونت‌های دیگر روده‌ای بسیار مشکل است و تشخیص و افتراق آنها از یکدیگر از مهمترین وظایف پرستل آزمایشگاه محسوب می‌گردد. نتیجه آزمایش بطور قطع به دقت و مهارت پرستل آزمایشگاه، انتخاب تکنیک مناسب و تکرار دفعات آزمایش مذکور بستگی دارد. در غیر اینصورت موارد مثبت کاذب و منفی کاذب بسیار زیاد خواهد بود. استفاده از روشهایی نظیر کشت نمونه یا رنگ آمیزی مناسب در موارد مشکوک می‌تواند کمک بزرگی در تشخیص قطعی باشد.

با توجه به اینکه اکثر مبتلایان به آمیباز خارج روده‌ای در تاریخچه خود سابقه اسهال خونی آمیبی دارند<sup>[۴]</sup>. و از طرفی کشور ما نیز از کانون‌های اندمیک آنتامباهیستولیتیکا محسوب می‌گردد، لذا تشخیص دقیق این بیماری باعث خواهد شد تا با درمان سریع و به موقع این بیماران، از عواقب و گرفتاری‌های بعدی آن جلوگیری بعمل آید. همچنین افتراق سایر عفونت‌های روده‌ای از

۱- Hsr+s: Horse serum ringer

جدول شماره (۲): بررسی مجدد ۱۸ نمونه مورد دیسانتری غیر آمیبی گزارش شده در تهران و کرج از نظر وجود آمیب

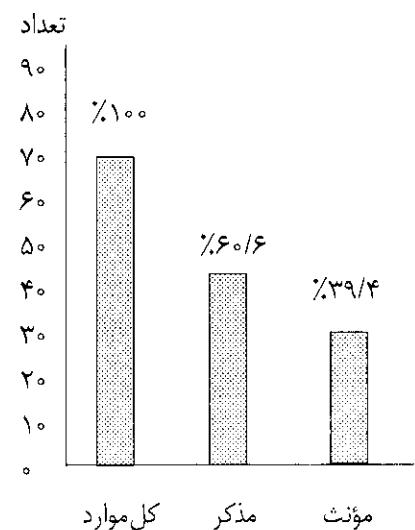
درصد	تعداد	فرافوایی
		بررسی مجدد
۱۰۰	۱۸	منفی واقعی
-	-	منفی کاذب
۱۰۰	۱۸	جمع

قرار گرفته است [۸].

در بررسی حاضر نیز از ۵۳ مورد دیسانتری آمیبی گزارش شده فقط ۱۲ مورد مثبت واقعی بودند که در آنها حداقل با یکی از سه روش مذکور آنتامباہیستولیتیکا مشاهده گردید و ۷۷/۴٪ مثبت کاذب بودند. لازم به ذکر است که تمام موارد مثبت گزارش شده آزمایشگاهها با استفاده از روش تهیه گسترش مستقیم با سرم فیزیولوژی و محلول لوگل تشخیص داده شده بود. مهمترین عامل در تشخیص مثبت کاذب اشتباہ شدن سلولهای مانند لوکوسیتها و خصوصاً ماسکروفازها با ترزویوت آنتامباہیستولیتیکا می‌باشد. ماسکروفازها چون قادر به بلع گلوبولهای قرمز هستند و اندازه نسبتاً بزرگی دارند بطور شایعی به غلط ترزویوت هماتوفاز قلمداد می‌گردند. در این مورد دقت در سیتوپلاسم، هسته، و نیز حرکت می‌تواند از موارد اشتباه بکاهد. لوکوسیتها نیز گاهی اوقات به اشتباه آمیب فرض می‌شوند. قابل ذکر است که لوکوسیتها تقریباً هیچ حرکتی ندارند و سیتوپلاسم و حتی اندازه آنها بطور مشخصی با آمیب متفاوت است. پلیمورفونوکلئرها خصوصاً در حال تحلیل شدن که هسته آنها بصورت وزیکولر و گرانوله دیده می‌شود بسیار شبیه کیست آنتامباہیستولیتیکا می‌شوند و

آلدگی به آنتامباہیستولیتیکا بدون عالیم است و فرد آلدده فقط کیست دفع می‌کند. تقریباً در ۱۰ درصد موارد با تهاجم آمیب به بافت‌های روده میزان عالیم بیماری ظاهر می‌گردد که در اکثر موارد به صورت دیسانتری ظاهر می‌شود. در عده کمتری آمیب خود را به سایر ارگانها می‌رساند و ایجاد آمیبیاز خارج روده‌ای می‌کند [۲].

در تشخیص آزمایشگاهی، دیسانتری آمیبی اغلب با دیسانتری‌های ایجاد شده در اثر سایر عوامل خصوصاً با دیسانتری با سیلر اشتباہ می‌شود که منجر به گزارش‌های مثبت کاذب یا منفی کاذب می‌گردد [۲]. تشخیص دیسانتری آمیبی در آزمایشگاههای تشخیص طبی مبتنی بر جستجو و یافتن آمیب در گسترش مرتبط تهیه شده از نمونه مدفوع فرد مبتلا می‌باشد. در این روش مهمترین فاکتور در شناسایی صحیح و دقیق آمیب مهارت فرد در استفاده از میکروسکوپ می‌باشد. حتی در کشورهایی که آمیبیاز و دیگر آلدگیهای انگلی شایع تراز سایر مناطق است موارد تشخیص غلط به وفور مشاهده می‌گردد. برای مثال در یک مطالعه مشابه که توسط مرکز کنترل بیماریها (CDC) در السالوادر صورت گرفته از ۲۶۸ مورد دیسانتری آمیبی گزارش شده توسط آزمایشگاهها تنها ۲۵ درصد آنها مورد تأیید



نمودار شماره (۱): توزیع فراغی جنسی ۷۱ مورد ابتلاء به دیسانتری در تهران و کرج در سال ۱۳۷۷

هومنیس مشاهده شد و در سایر موارد احتمالاً ماسکروفازها و پلیمورفونوکلئورها با ترزویوت هماتوفاز اشتباہ شده بودند. در هیچ‌کدام از ۱۸ مورد دیسانتری که از نظر آنتامباہیستولیتیکا منفی گزارش شده بودند با روش‌های فوق آمیب مشاهده نشد لذا میزان منفی واقعی ۱۰۰ درصد بود و منفی کاذب مشاهده نگردید (جدول ۲).

## بحث

جدول شماره (۱): بررسی مجدد ۵۳ نمونه مورد دیسانتری آمیبی گزارش شده در تهران و کرج از نظر وجود آمیب

درصد	تعداد	فرافوایی
		بررسی مجدد
۲۲/۶	۱۲	مثبت واقعی
۷۷/۴	۴۱	مثبت کاذب
۱۰۰	۵۳	جمع

۱-CDC: Center of Disease Control



با روش تهیه گسترش مستقیم به عنوان یک استراتژی مناسب در تشخیص آزمایشگاهی دیسانتری آمیبی مدنظر قرار گیرد.

وضعیت نمونه مدفع فرد مبتلا به دیسانتری نیز در تشخیص آمیبیاز می‌تواند تا حدودی راهنمای باشد برای مثال حداقل در ۲۵ درصد موارد دیسانتری آمیبی کریستالهای شارکوت لیدن قابل مشاهده است. در حالیکه این کریستالها در دیسانتریهای باکتریال دیده نمی‌شود و یا pH مدفع در دیسانتری آمیبی حالت اسیدی دارد و گلولهای قرمز بصورت آگلوتینه و به مقدار زیاد مشاهده می‌شوند [۲].

استفاده از روش‌های سرولوژی نظری (۱) IFA و الیزا برای جستجوی آنتی‌بادیهای ضدآمیب در سرم افراد مبتلا به دیسانتری نیز به عنوان یک روش توصیه شده است اما در حال حاضر این روش بجز در مراکز تحقیقاتی در سایر آزمایشگاهها قابل اجرا و مقرنون به صرفه نمی‌باشد.

در پایان علاوه بر موارد یاد شده فوق پیشنهاد می‌گردد جهت افزایش مهارت، ارتقاء اطلاعات و آشنایی با تکنیک‌ها و روش‌های جدید، دوره‌های تئوری و عملی بازآموزی به طور مرتب برای شاغلین آزمایشگاههای تشخیص طبی برگزار گردد.

#### تشکر و قدردانی

بیدینوسله از همکاری صمیمانه مسئولین و کارمندان محترم آزمایشگاههای مورد بررسی و نیز از سرکار خانم فرنیا و سرکار خانم سایابی در واحد تک‌یاخته‌شناسی دانشکده بهداشت تشکر و قدردانی می‌گردد.

دیسانتری غیرآمیبی مورد بررسی قرار گرفت که با این تعداد نمی‌توان قضاوت قطعی کرد و برای ارزیابی موارد منفی کاذب، احتیاج به تعداد بیشتری نمونه است.

علاوه بر مهارت فرد آزمایش کننده، اهمیت دادن به بخش انگل‌شناسی و صرف وقت برای بررسی نمونه‌ها که گاه احتیاج به آزمایش مکرر یک نمونه می‌شود، در تشخیص صحیح و کاوش موارد منفی کاذب نقش به سزاوی دارد. از مشکلاتی که در آزمایشگاههای مورد بررسی ما مشاهده گردید و به نظر می‌رسد عمومیت داشته باشد، انجام آزمایش مدفع در آخرین ساعات کار می‌باشد. از آنجایی که ترفوژوئیتها سریع پس از دفع بی‌حرکت و یا اتوپلیز می‌گردد باید تلاش گردد تا اولاً در صورت امکان نمونه‌گیری از بیمار در محیط آزمایشگاه صورت گیرد یا سریعاً نمونه به آزمایشگاه منتقل گردد و ثانیاً نمونه‌ها در حداقل زمان ممکن پس از دفع آزمایش گردد تا حرکت آمبوئید ویژه ترفوژوئیتهای آنتامباهیستولیتیکا مشاهده گردد. اگر تأخیر اجتناب ناپذیر باشد، نمونه باستی سرد نگه داشته شود. حتی پس از ۴ ساعت نگهداری نمونه در یخچال ۴ درجه، ترفوژوئیتها دوباره پس از گرم کردن فعل خواهند شد [۵].

حقیقی و رضائیان (۳) استفاده از محیط کشت سرم منعقده اصلاح شده (*Hsr+*) را برای تشخیص دیسانتری آمیبی دارای اعتبار قابل توجهی دانسته‌اند. این محققین حساسیت و ویژگی این روش را به ترتیب ۸۵ و ۱۰۰ درصد گزارش کرده‌اند. با توجه به ساده بودن ساخت و تهیه این محیط، حساسیت و ویژگی بالای آن و امکان تهیه آن در آزمایشگاههای تشخیص طبی پیشنهاد می‌شود استفاده از این محیط همراه باشد.

بعلت عدم آگاهی بعضی از این موضوع که در حالت دیسانتری آمیبی غالباً کیست مشاهده نمی‌شود به غلطگزارش می‌گردد که کیست و ترفوژوئیت آمیب دیده شد.

در این بررسی همچنین مشخص گردید که تک‌یاخته‌هایی نظری آنتامباکلی با ترفوژوئیت آنتامباهیستولیتیکا و تک‌یاخته‌هایی نظری دی‌آنتامبافاراژیلیس، اندولیماکس نانا و بلاستوسیستیس مهمترین ارگانیسم‌هایی هستند که با کیست آنتامباهیستولیتیکا اشتباه می‌شوند و عامل دیگری در تشخیص مثبت کاذب هستند. توجه به وضعیت حرکت و نوع پاهاست کاذب، وضعیت سیتوپلاسم، موقعیت و اندازه کاریوزم و نیز آرایشهای دیواره هسته می‌تواند راهگشای بسیار مفیدی در تشخیص و افتراق این تک‌یاخته‌ها از آنتامباهیستولیتیکا باشد.

استفاده به موقع از تکنیک مناسب جایگاه ویژه‌ای در تشخیص صحیح دارد. در دیسانتری آمیبی چون بطور معمول فقط ترفوژوئیت دفع می‌شود و کیستهای آمیب مشاهده نمی‌شود لذا بکار گیری روش‌های تغییط مدفع نظری روش رسوبی فرمالین - اتر در این مورد نه تنها سودبخش نمی‌باشد بلکه می‌تواند ترفوژوئیتها را تحلیل یا از بین ببرد. تهیه گسترش مستقیم با سرم فیزیولوژی برای دیدن ترفوژوئیتها و حرکت آنها در موارد دیسانتری روش بسیار مناسبی می‌باشد. توصیه می‌شود برای افزایش کارآیی تشخیص، بیش از یک گسترش تهیه گردد و گسترشها با دقت، صرف وقت و حوصله تمام بصورت کامل بررسی گردد. لازم به ذکر است چون در این مطالعه هدف بررسی موارد دیسانتری آمیبی و بدست آوردن آمیب بوده است، تنها ۱۸ مورد

۱ IFA: Indirect Immunofluorescent Assay

مراجع

۱. عزیزی فریدون. اپیدمیولوژی بیماریهای شایع در ایران. چاپ اول، تهران: مرکز تحقیقات غدد درون ریز، ۱۳۷۲؛ صفحات ۱۵۵-۱۷۲.
۲. رضائیان مصطفی. آمیبیاز. مجله آمیبیاز ۱۳۶۶؛ شماره ۲۰۹۷، صفحات ۱۸-۲۱.
۳. حقیقی علی، رضائیان مصطفی. کشت و نگهداری آنتامبا هیستولیتیکا در محیط کشت سرم اسپ، رینگر و نشاسته برنج (Hsr+s)، مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۰؛ دوره ۵، شماره ۲، صفحات ۶۴-۶۰.
4. Markell E, Voge M. Medical Parasitology. 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992; P. 22-42.
5. Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis. Rev Infect Dis 1986; 8(2): 228-238.
6. WHO. Basis Laboratory Method in Medical Parasitology. 1st ed. Geneva: World Health Organization, 1991; p. 71-76.
7. Ruebush TK. Diagnosis of intestinal parasite by state and territorial public health laboratories. J Infect Dis 1978; 1: 114-117.
8. Spencel HC. Serologic and parasitologic studies of Entamoeba histolytica in El Salvador 1974-1978. Am J Trop Med Hyg 1981; 30(1): 63-68. ■

