Archive of SID

Review Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 13, Number 2 (May - June)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Differentiation of Prevalent Parasite from Artifacts in Parasitology Laboratory

NegarAsadi[1], Khosrow Hazrati Tappeh[1], Elham Yousefi[2], Shahram Khademvatan[1 *]

1. *Department of Parasitology and Mycology, Center for Cellular and Molecular Research, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Iran*
2. *Department of Parasitology and Mycology, School of public health, Tehran University of Medical Sciences, Iran*

Article Information

Article Subject:
Medical Parasitology

DOI:

Corresponding author:

Shahram Khademvatan,
Department of Parasitology and Mycology, Center for Cellular and Molecular Research, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Iran
Email: Khademvatan@yahoo.com

Use your device to scan and read the article online

Abstract

One of the common problems in the medical parasitology laboratory is the differentiation of parasites from other elements in the stool and body fluids so-called "artifacts". Artifacts generally referred to living or abiotic agents that embedded in the clinical sample and may misleading the lab because of their similarity to parasitic organisms. Artifacts are an integral part of the diagnosis process and they are cause of common misdiagnosis in the laboratory.Their differentiation from pathogenic parasitic agents is done by proper diagnosis, which leads to proper treatment of parasitic infections. As usually an inexperienced technician often misdiagnosed a yeast or other plant cell as amoeba or considers a platelet as a malaria parasite, it may be unsuccessful to identify parasitic organisms that really exist in the stool sample. The major forms that cause confusion and misdiagnosis in parasitology laboratory are spores, fat droplets, yeast, red blood cells, and macrophages.Compared with other parts of the medical laboratory, in parasitology lab less attention observe to this problem. The consequence is the reporting of false positive results, incorrect treatment, and patient injury. Identifying, introducing, and differentiating artifacts for laboratory personnel, especially inexperienced, are an important factor in accurate diagnosis. In the present study, key diagnostic points of parasitic organisms and artifacts have been categories.

Keywords: Parasite, Artifact, False positive, laboratory

Received: 2018/06/11 Accepted: 2019/08/14 Available online: 2019/08/23

Copyright © 2019. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

How to cite this article:

Asadi N, Hazrati Tappeh K, Yousefi E, Khademvatan S. Differentiation of prevalent parasite from artifacts in parasitology laboratory. Iran J Med Microbiol. 2019; 13 (2):89-101

www.SID.ir

Archive of SID

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۳ ـ شماره ۲ ـ خرداد و تیر ۱۳۹۸

Journal homepage: www.ijmm.ir

مقاله مروری

افتراق انگل‌های شایع از آرتیفکت‌ها در آزمایشگاه انگل‌شناسی

نگار اسدی[۱]، الهام یوسفی[۲]، خسروحضرتی تپه[۱]، شهرام خادم وطن[۱*]

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی ومرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ایران

۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی ، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله

دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۱

پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۲۳

انتشار آنلاین: ۱۳۹۸/۰۶/۰۱

موضوع:

انگل شناسی پزشکی

IJMM1398;13(2): 89-101

نویسندهٔ مسئول:

شهرام خادم وطن

گروه انگل شناسی و قارچ شناسی ومرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ایران

پست الکترونیک:

Khademvatan@yahoo.com

چکیده

یکی از مشکلات رایج در آزمایشگاه انگل‌شناسی پزشکی، افتراق انگل‌ها از سایر عناصر موجود در مدفوع و مایعات بدن است که اصطلاحا «آرتیفکت» نام‌گذاری شده‌اند. درحالت کلی به عوامل زنده و غیر زنده‌ای که به هر طریقی درون نمونه بالینی قرار گرفته و به علت شباهت احتمالی با ارگانیسم های انگلی، آزمایشگاه را دچار اشتباه در تشخیص کند، آرتیفکت گفته می‌شود.

آرتیفکت‌ها جزء جدایی ناپذیر فرایند تشخیص هستند و از عوامل خطای رایج در آزمایشگاه هستند. افتراق آنها از عوامل انگلی پاتوژن با تشخیص درست انجام می‌شود که منجر به درمان مناسب عفونت های انگلی می‌شود.

همان‌طور که معمولا هر تکنسین بی تجربه، اغلب یک مخمر یا سایر سلول‌های گیاهی را به اشتباه به عنوان آمیب شناسائی نموده یا پلاکتی را به عنوان انگل مالاریا می‌پندارد، احتمالا در شناسائی ارگانیسم های انگلی که واقعا در نمونه مدفوع وجود دارد، ناموفق باشد.

عمده‌ترین شکل‌هایی که موجب سردرگمی و تشخیص غلط در آزمایشگاه انگل‌شناسی می‌شوند، اسپورها، قطرات چربی، مخمرها، گلبول قرمز و ماکروفاژها هستند. در مقایسه با سایر بخش‌های آزمایشگاه تشخیص طبی توجه به‌این اشکال در بخش انگل‌شناسی کمتر است که پیامد آن، گزارش نتایج مثبت کاذب، درمان اشتباه و آسیب بیماراست. شناسایی، معرفی و افتراق آرتیفکت‌ها برای پرسنل آزمایشگاه‌ها، به ویژه افراد بی تجربه، عامل مهمی در تشخیص درست است. درمطالعهٔ حاضر، نکات تشخیصی کلیدی ارگانیسم‌های انگلی وافتراق آرتیفکت‌ها از آن ها و همچنین دسته بندی آرتیفکت‌ها انجام شده است.

کلمات کلیدی: آرتیفکت، مثبت کاذب، انگل، آزمایشگاه

کپی‌رایت © مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

عفونت‌های انگلی روده از لحاظ بهداشتی، درایران و اغلب کشورهای جهان سوم، مشکل بهداشتی محسوب می‌شوند. عوامل موثر در شیوع این عفونت‌ها، شرایط مناسب جغرافیایی و آب و هوایی گرم و معتدل، پایین بودن سطح بهداشت محیطی و همگانی، آگاه نبودن، عادت‌ها و رفتارهای اجتماعی مردم کشورهای جهان سوم، فقر، سوءتغذیه، تراکم و ازدیاد جمعیت، کمبود آب آشامیدنی و آلودگی منابع آبی موجود، دفع نامناسب فاضلاب و زباله‌ها هستند (۴-۱).

در جهان بیش از ۳/۵ میلیارد نفر بـه آلودگی‌های انگلی روده ای مبتلا هستند کـه از این تعداد۴۵۰ میلیون نفر بـه اشکال بالینی علامت‌دار مبتلا می‌شوند. همچنین بیماری‌های عفونی انگلی میزان مورتالیتی بالایی را به خود اختصاص می‌دهند، به‌طوریکه از حدود ۵۱ میلیون مرگ‌ومیر در جهان ۱۶ میلیون مربوط به بیماری‌های عفونی و انگلی است که اکثرا در کشورهای درحال توسعه اتفاق می‌افتد (۵،۶).

هرچند مواردی وجود دارد که نشان می‌دهد بیمارانی با وجود تشخیص غلط و درمان ناصحیح بطور اتفاقی معالجه شده‌اند؛ ولی همین تشخیص غلط بیماری منجر به نقص یا تاخیر در درمان شده و ممکن است عواقب کشنده‌ای داشته باشد. بطور منطقی درمان موفقیت‌آمیز مستلزم تشخیص صحیحی است که آن نیز خود متکی به صحت(Accuracy)، دقت (Precision)، تکرارپذیری (Repeatability) و قابل تفسیر بودن آزمایش‌ها (Interpretable) است. در همین رابطه با توجه به اندازهٔ کوچک تک‌یاخته‌ها و دشواری تشخیص آنها، آزمایشگاه ها به عنوان یک مرجع تشخیصی

www.SID.ir

Archive of SID

نقش کلیدی خواهند داشت (۸). از آنجاییکه بیماری‌های انگلی اغلب با نشانه ها و علائم غیر اختصاصی همراه هستند و پزشکان با معاینات فیزیکی به تنهایی قادر به تشخیص بیماری نیستند، لذا بررسی‌های پاراکلینیکی وآزمایشگاهی برای مشخص کردن آلودگی انگلی، جنس و گونه انگل ضروری است. بنابراین آزمایشگاه و توانمندی کارشناسان آزمایشگاه نقش مهم و کلیدی در تشخیص و جهت دهی مناسب به پزشک برای انتخاب داروی مناسب جهت درمان را بر عهده دارند (۷).

یکی از مشکلات رایج در آزمایشگاه انگل‌شناسی پزشکی، افتراق انگل‌ها از سایرعناصر موجود در مدفوع و مایعات بدن است که اصطلاحا آرتیفکت نام گزاری شده‌اند. در حالت کلی به عوامل زنده و غیر زنده‌ای که به هر طریقی درون نمونه تشخیصی قرار گرفته و به علت شباهت احتمالی با ارگانیسم‌های انگلی آزمایشگاه را دچار اشتباه در تشخیص کند، آرتیفکت گفته می‌شود (۹) این در حالیست که بدلیل حضور مواد غذایی دفعی و ارگانیسم‌های فراوان، دشوارترین نمونه برای افتراق انگل‌ها از آرتیفکت‌ها، نمونه مدفوع است و برای غلبه براین مشکلات مطالعات متعددی برای معرفی روش‌های دقیق تشخیص آلودگی‌های انگلی روده‌ای انجام شده است (۱۴-۱۰). در حال حاضر روش رایج، ارزان قیمت و آسانی که در بسیاری از آزمایشگاه‌ها به منظور تشخیص ارگانیسم‌های انگلی روده‌ای استفاده می‌شود، روش مستقیم یا گسترش مرطوب (WetMount) است (۱۵). برخلاف سادگی ظاهری این روش تشخیصی، حساسیت این روش به میزان بالایی به مهارت آزمایشگر و انتقال سریع نمونه به آزمایشگاه و سرعت انجام آزمایش قبل از لیزشدن و از دست رفتن تحرک انگل، بستگی دارد (۱۶،۱۷). همان‌طور که معمولا هر فرد آزمایشگاهی، ممکن است یک مخمر یا سایر سلول‌های گیاهی را به اشتباه به عنوان آمیب شناسائی نموده یا پلاکتی را به عنوان انگل مالاریا بپندارد، احتمال دارد در شناسائی عوامل انگلی که واقعا در نمونه مدفوع تحت بررسی وجود دارند نیز ناموفق باشد. عناصر گوناگون و متعددی در نمونه‌های مدفوع یا سایر مواد یافت می‌شوندکه با انگل‌ها مشابهت ساختمانی دارند و تلاش در جهت طبقه‌بندی و نام بردن همهٔ این موارد بسیار مشکل است (۷،۸). نمونه مدفوع شامل اجزای بسیاری از جمله بقایای موادغذایی، محصولات هضم شده، سلول‌های اپیتلیال، لکوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، موکوس و میکروارگانیسم‌هایی مانند مخمر و باکتری است. به علت مشابهت زیاد موارد ذکر شده به انگل‌ها، گاهی آرتیفکت‌ها با تروفوزوئیت، تخم، کیست و لارو کرم ها اشتباه می‌شوند. با توجه به نسبت بین مواد دفعی و انگل‌ها تعجب ندارد که بسیاری از اجسام مشابه مسئول تشخیص نادرست تروفوزوئیت و کیست تک‌یاخته‌ها، تخم و لاروکرم‌ها باشند (۹).تا کنون تقسیم‌بندی مدون و طبقه‌بندی کاملی از انواع آرتیفکت‌ها انجام نشده است، اما بر اساس متون و مراجع تشخیصی انگل‌شناسی می‌توان آرتیفکت‌ها را به دو دسته آرتیفکت‌های موجود درنمونه های مدفوع و آرتیفکت‌های موجود در نمونه‌های خون تقسیم بندی نمود که همانگونه که ذکر شد آرتیفکت‌های مدفوعی اهمیت بسیار زیادی دارند و از دو گروه عمدهٔ سلول‌های انسانی و مواد مشتق شده از سلول‌ها و عناصر غیرانسانی تشکیل شده‌اند که در بخش اول این مقاله به آن پرداخته خواهد شد.

الف: آرتیفکت‌های موجود در آزمایش مدفوع

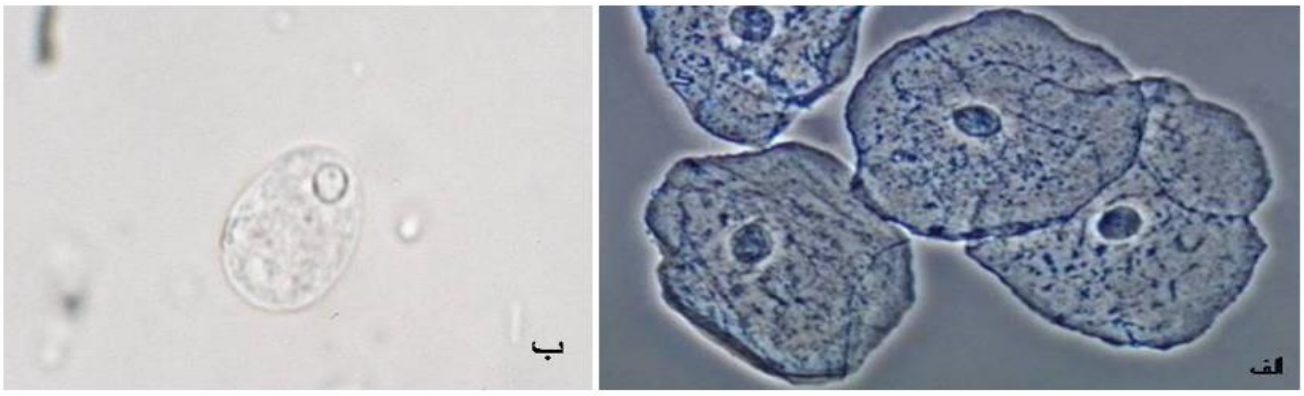
۱. سلول‌های اپی‌تلیال

سلول‌های اپیتلیال از مواردی هستند که با تک‌یاختهٔ عامل دیسانتری آمیبی (*انتاموبا هیستولیتیکا*) اشتباه شده و روند درمانی را منحرف می‌کنند. باتوجه به‌اینکه شاخص اصلی تشخیصی آمیبها ساختار هسته است، لذا جهت افتراق سلول‌های اپی‌تلیال از تروفوزوییت *انتاموبا هیستولیتیکا* باید به‌این مورد توجه بیشتری داشت. درسلول‌های اپی‌تلیال نسبت هسته به سیتوپلاسم بیش از حد بزرگ است و کاریوزوم مرکزی وضوح کاملی ندارد و یا ازدست رفته است. درحالیکه تروفوزوییت‌های آمیب *انتاموبا هیستولیتیکا* دارای کاریوزوم مرکزی مشخص و ظریف است که یک هاله شفاف و بی رنگ آن را در برگرفته و بوسیله فیبریل‌های آکروماتیک شعاعی و ظریف به سطح داخلی غشا هسته اتصال می‌یابد(۷, ۹)(شکل ۱). همچنین مورد دیگری که می‌تواند جهت افتراق سلول‌های اپی‌تلیال از آمیب در نظر گرفته شود، اندازه بسیار متنوع اپی‌تلیال است، در حالیکه اندازه تروفوزوئیت بین ۶۰-۱۵ میکرومتر است.

بر خلاف آمیب‌ها عدم حضور واکوئل‌های کوچک و باکتری‌ها درسیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال نکته مهمی‌است که جهت افتراق بایستی در نظر داشت. دیوارهٔ سلولی نیز در سلول‌های اپی تلیال کاملا مشخص و قابل شناسایی است در حالی که آمیب‌ها دیواره بسیار نازک و غیرقابل تشخیص دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

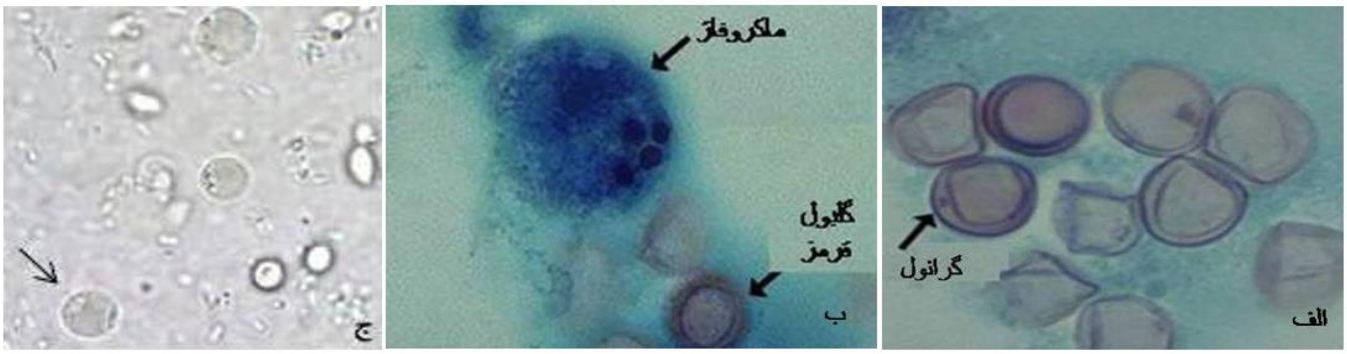


شکل ۱. الف.سلول‌های اپیتلیال که هسته درشت دارند اما کاریوزوم مرکزی واضح نیست. همچنین دیواره ناواضح و صاف بودن سیتوپلاسم و عدم حضور باکتری ها قابل توجه است ب.تروفوزوئیت *آنتامباهیستولیتیکا* با کاریوزوم مرکزی مشخص که از نمونه گسترش مرطوب گرفته شده است. واکویل‌های کوچک داخل ارگانیسم آمیبی در افتراق با سلول اپی‌تلیال مورد توجه قرار می‌گیرند (۲۲).

۲. گلبول قرمز

گلبول‌های قرمزخون، به شکل دیسک های مقعرالطرفین هستند و در شرایط طبیعی قطر آنها بطور متوسط ۷/۵ میکرون است. درزمان خونریزی‌های مزمن گوارشی گاهی گلبول‌های قرمز ممکن است به صورت یک جسم مرکزی با حاشیه‌ای از سیتوپلاسم یا گرانول دیده شود. این اشکال گلبول‌های قرمز داخل مدفوع می‌تواند به اشتباه انگل *بلاستوسیستیس هومینیس* گزارش شود.

از کلیدهای مهم تشخیصی *بلاستوسیستیس هومینیس* که برای پرهیز از تشخیص اشتباه بایستی توجه بیشتری به آن داشت، هسته‌های متعدد در اطراف یک واکوئل بزرگ در مرکز،اندازه متنوع(۵ تا ۳۰ میکرومتر)و شکل کروی ارگانیسم است (شکل۲) (۹ ,۷).



شکل۲. الف،ب.گلبول قرمز. وجود ساختار قرمز رنگ درون سلول و وجود گرانول، ممکن است به چشم فرد بی‌تجربه *بلاستوسیستیس هومینیس* دیده شود. ج. *بلاستوسیستیس هومینیس* که دارای تعدادی هسته در اطراف و یک واکوئل بزرگ در مرکز است (۹، ۲۲).

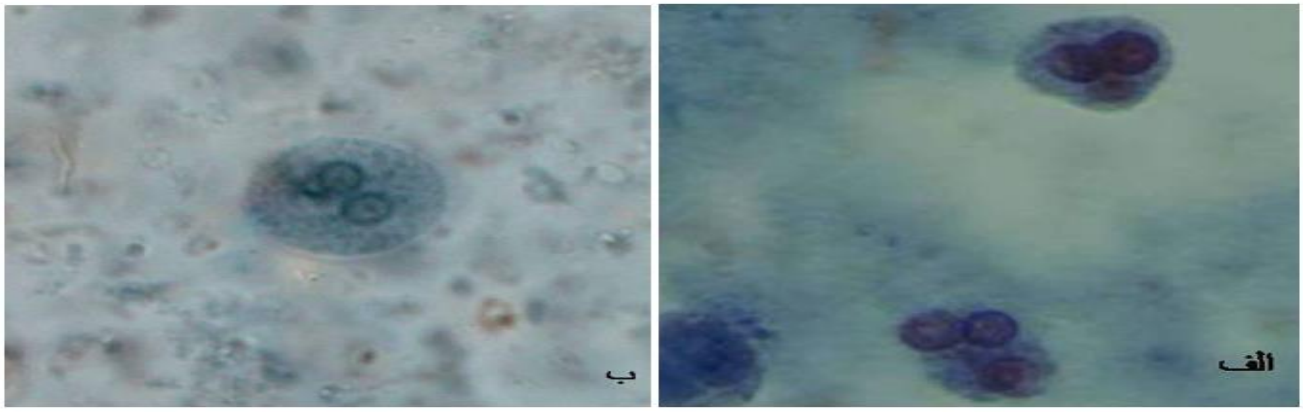
۳. لکوسیت‌ها

لکوسیت‌های چندهسته‌ای ممکن است در اسهال خونی و سایر بیماری‌های التهابی دیده شده و بعلت نزدیک بودن اندازه و همچنین عدم رعایت زمان بندی آزمایش نمونه‌های مدفوع می‌توانند با تروفوزوییت و یا کیست‌های *انتامباهیستولیتیکا* اشتباه شوند. جهت افتراق کیست‌های *آنتامباهیستولیتیکا* از لکوسیت‌ها، توجه به دیواره و همچنین ساختار هسته بسیار کمک کننده خواهد بود. آنتامبا هیستولیتیکا با دیواره کیستی شفاف و شکل گرد بیضی و گاهی بدون شکل منظم هندسی هستند. قطرآنها از ۱۰ تا ۲۰ میکرومتر متغییر است. کیست انتامبا هیستولیتیکا دارای یک تا ۴ هسته است. هسته آمیب *آنتامباهیستولیتیکا* دارای مشخصات ویژه‌ای است که دقت به این مشخصات موجب افزایش احتمالی تشخیص انگل خواهد شد.

ازجمله این موارد کروماتین محیطی یکنواخت و همچنین کاریوزوم مرکزی است. درحالیکه هیچ یک از این موارد در لکوسیت‌ها دیده نمی‌شود (شکل۳) (۷-۹).

www.SID.ir

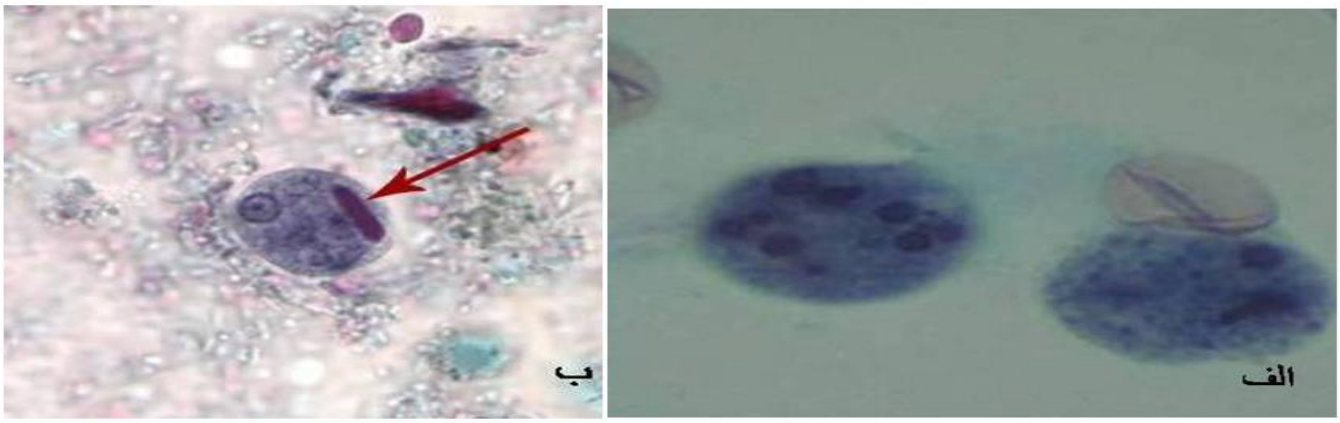
Archive of SID



شکل ۳.الف. لکوسیت می‌تواند به علت اندازه‌اش با کیست آمیب *انتامباهیستولیتیکا* اشتباه شود. معمولا عدم توجه به حضور یا عدم حضور کاریوزوم موجب اشتباه در تشخیص می‌شود. زیرا درسلول‌های لکوسیت کاریوزوم مرکزی دیده نمی‌شود. ب. کیست *انتامباهیستولیتیکا* که دارای ۱ تا ۴ هسته با کاریوزوم مرکزی مشخص است (۲۲).

۴. ماکروفاژ

ماکروفاژها (مونوسیت‌ها) سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای درشت هستند که ممکن است به تروفوزوئیت آمیب *انتامباهیستولیتیکا* شباهت داشته باشند. ماکروفاژها ممکن است در آمیبیازیس روده‌ای و کولیت اولسراتیو نیز یافت شوند. توجه به برخی نکات در افتراق از ارگانیسم انگلی بسیارموثراست (۷) (شکل ۴و جدول ۱).



شکل ۴.الف. ماکروفاژها بارنگ‌آمیزی تری کروم و بزرگنمایی X ۱۰۰۰.ب. کیست *آنتامباهیستولیتیکا*، همانطور که در شکل نشان داده شده است دارای میله‌های کروماتیدی است، این اشکال به صورت مناطق استوانه‌ای شکل در سیتوپلاسم مشاهده می‌شوند که ماکروفاژها فاقد این ویژگی هستند(۹، ۲۲).

جدول۱.مقایسه مرفولوژی ماکروفاژ با آمیب *انتامباهیستولیتیکا*

ماکروفاژ	آمیب*انتامباهیستولیتیکا* (تروفوزوئیت)
اندازه ۳۰ - ۶۰میکرون ، ممکن است۵ - ۱۰ میکرون هم باشد (درگسترش رنگ آمیزی شده داتمی)	اندازه۱۲ - ۶۰میکرون ، ممکن است میانگین ۲۰ میکرون هم باشد (درگسترش رنگ‌آمیزی شده داتمی‌کمتر)
نسبت مواد هسته‌ای به سیتوپلاسم ۱ به ۴ تا ۱ به ۶	نسبت مواد هسته‌ای به سیتوپلاسم ۱ به ۱۰ تا ۱ به ۱۲
دارای یک هسته درشت که ممکن است شکل آن نامنظم باشد (شبیه هسته مونوسیت)	دارای یک هسته گرد با کاریوزوم مرکزی و کروماتین محیطی
ممکن است اجسام مدور به رنگ قرمز باشد و هسته دیده نشود.	هسته همیشه وجود دارد.
بارنگ آمیزی تری کروم خصوصیاتی مشابه آمیب هیستولیتیکا دارد.	با رنگ آمیزی تری کروم: سیتوپلاسم سبز ، مواد هسته‌ای قرمز تیره

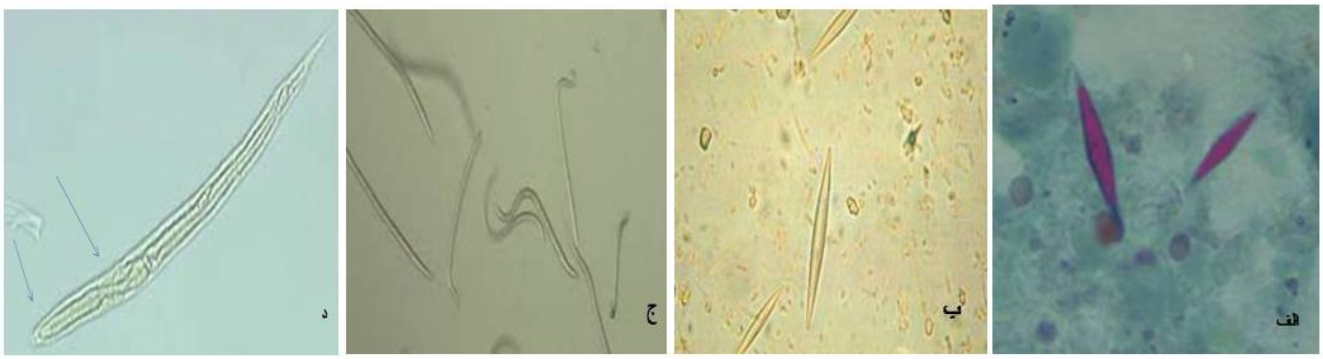
www.SID.ir

Archive of SID

۵. کریستال شارکوت لیدن

این کریستال‌ها، بلورهای میکروسکوپی هستند که در مبتلایان به بیماری‌های آلرژیک مانند آسم یا عفونت های انگلی مشاهده می‌شوند. کریستال‌ها بخصوص در مدفوع، خلط و بافت افراد مبتلا به عفونت‌های انگلی که تهاجم بافتی دارند و در آنها تجزیه ائوزینوفیلی ایجاد شده است، دیده می‌شوند. لازم به ذکر است که پروتئین کریستال شارکوت لیدن با لیزوفسفولیپیازهای ائوزینوفیل واکنش می‌دهد.

مشاهدهٔ این کریستال‌ها در زمره یافته‌های غیراختصاصی هستند و مشاهده آنها مترادف با عفونت های انگلی نیست. اما در بسیاری از موارد ممکن است با لارو نماتودها اشتباه گرفته شود. کریستال‌ها در اسمیر مدفوع رنگ شده با تری کروم، قرمز رنگ دیده می‌شوند. مهم‌ترین وجه افتراق این کریستال‌ها با لارو نماتودها عدم حفره دهانی و مری در کریستال‌ها است. درحالی که در لاروهای نماتودی حفره دهانی و برجستگی مری حتی در نمونه‌های رنگ آمیزی نشده و با کمی‌دقت قابل مشاهده است (شکل۵) (۷، ۹).



شکل۵.الف،ب،ج.کریستال شارکوت لیدن. وجه افتراق این کریستال‌ها با لارو نماتودها عدم حفره دهانی و مری درکریستال‌ها است. درحالی که درلاروهای نماتودی حفره دهانی و برجستگی مری حتی در نمونه‌های رنگ آمیزی نشده و با کمی‌دقت قابل مشاهده است. د. لارو نماتودها که دارای شکاف دهانی ومری است (۲۲).

۶. موادگیاهی (Pollen)

انواع گوناگونی از مواد گیاهی در مدفوع یافت می‌شوند که امکان بروز تشخیص اشتباه را مهیا می‌سازند. دانه‌های گرده و ساختارهای مشابه از نظراندازه بسیار منظم ولی ساختمان سلولی آن‌ها مشابه با هیچ یک از اشکال انگلی نیست و اغلب به تعداد زیادی در مدفوع وجود دارند (۷، ۸، ۱۸).

عناصرگیاهی که ممکن است درمدفوع وجود داشته باشند عبارتنداز:

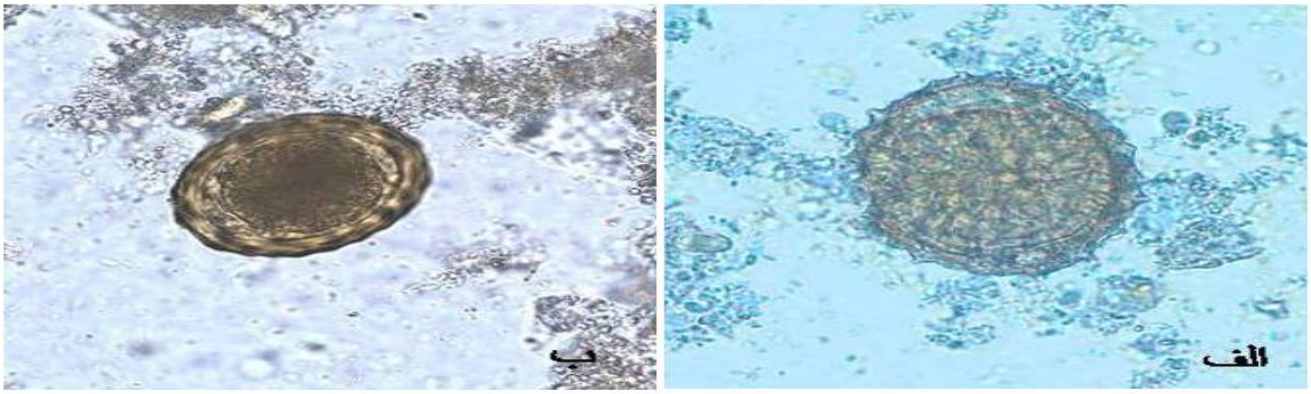
۱- الیاف ورشته‌های گیاهی نظیر پرزهای روی هلو ممکن است شبیه به لارو نماتودها باشند. تارهای ریشه شفاف و منعکس کننده نور هستند ورنگ پذیری کمتری دارند، درحالی که لاروهای انگلی رنگی در رنگ آمیزی لوگل به خود می‌گیرندکه موجب واضح شدن ساختمان داخلی آن می‌شود (۷،۸)(شکل ۶).

شکل۶.الف.رشته‌های گیاهی. وجه افتراق این رشته‌های گیاهی با لارو نماتودها عدم حفره دهانی ومری دررشته های گیاهی است.ب،ج.لارونماتود که دارای بولب مری و شکاف دهانی است (۲۲).

www.SID.ir

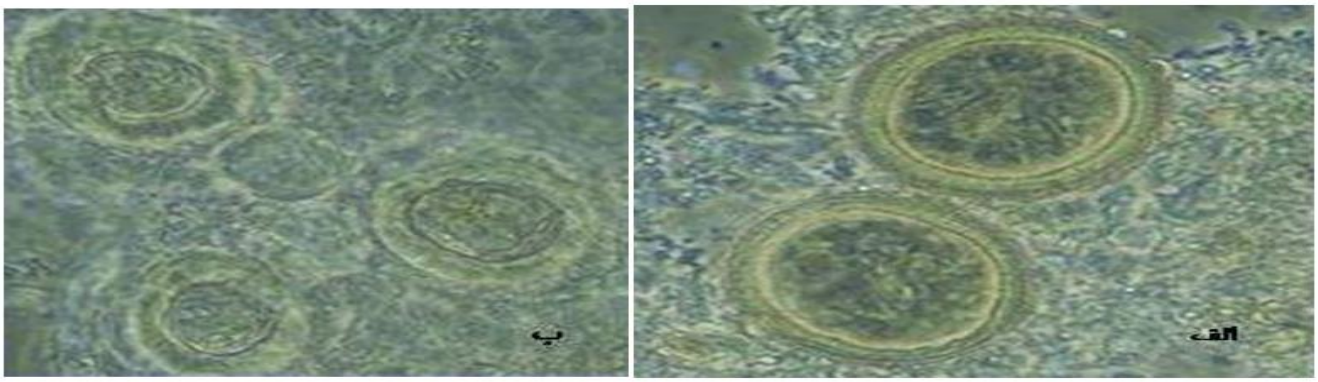
Archive of SID

۲- سلول‌ها و دانه‌های گیاهی نیز از مواردی هستندکه با تخم انگل‌ها اشتباه می‌شوند.این دانه‌ها دیواره ضخیم و صاف داشته و همانند تخم کرم‌ها تقارن ندارند. اندازه آنها از ۱۵ تا ۱۵۰ میکرون بوده و ممکن است با تخم اسکاریس اشتباه شوند. تخم‌های بارور آسکاریس بیضی متمایل به گرد بوده واندازه‌شان ۵۰-۳۵×۷۵-۴۵ میکرومتراست. پوسته خارجی دارای برجستگی‌های مشخص پستانی شکل است و زیر آن یک پوسته دیگر ضخیم و صاف قرار دارد که معمولا به آسانی قابل تشخیص نیست. تخم‌های نابارورکشیده‌تر و باریک‌تر از تخم‌های بارورند. اندازه آن‌ها ممکن است ۴۰×۹۰ میکرومتر باشد (شکل ۷) (۷, ۱۸،۱۹).



شکل ۷.الف.سلول گیاهی که تقارن ندارند. ب.تخم آسکاریس که بیضی متمایل به گرد است(۲۲).

۳- همچنین در برخی موارد پولن‌ها با تخم کرم‌های *سستودی تنیا* اشتباه می‌شوند. ازمهمترین وجوه افتراقی که باعث تشخیص صحیح تخم *سستودی تنیا* ازگرده‌های گیاهی می‌شوند می‌توان حضور جنین شش قلابه در داخل تخم‌ها، خطوط منظم شعاعی و تقارن تخم‌ها را نام برد در حالیکه این موارد درگرده‌ها دیده نمی‌شوند. دانه‌های گرده با محلول ید خیلی تیره رنگ می گیرند. ممکن است به شکل گرد یا سه وجهی بوده باشند. اندازه آنها از ۱۵ تا ۲۰ میکرون است وامکان دارد به تخم *سستودی تنیا* شباهت داشته باشند (۷، ۱۸-۲۰) (شکل ۸).



شکل ۸. الف تخم *سستودی تنیا* دارای جنین شش قلابه، خطوط منظم شعاعی بین دولایه و تقارن، ب پولن گیاهی با مشخصه عدم وجود تقارن و خطوط شعاعی منظم درپولن‌ها

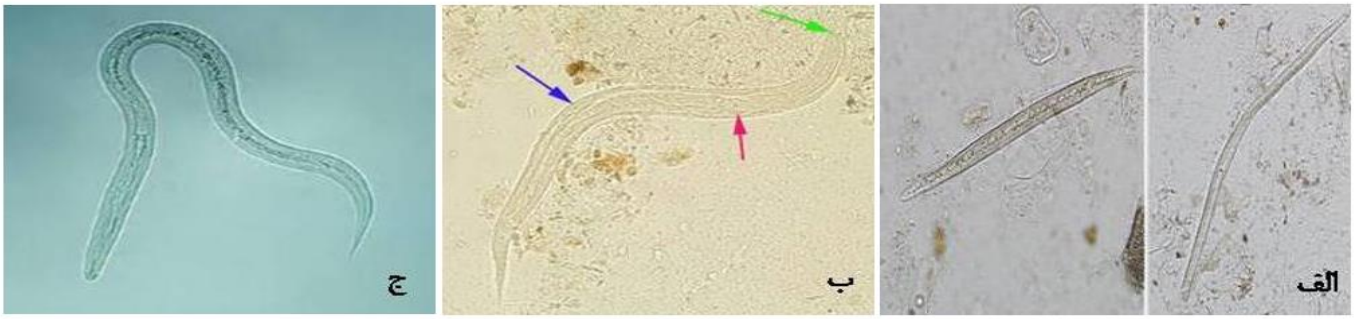
۴- الیاف گیاهی ممکن است شکل نامنظمی‌داشته یا به صورت طویل و فنری نازک به نظر برسند. الیاف گیاهی را در گسترش مرطوب مدفوع به وفور می‌توان یافت. این الیاف‌ها ممکن است با لاروکرم‌های قلابدار و *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* اشتباه گرفته شوند. الیاف‌های گیاهی بر خلاف لارو کرم‌های قلابدار و *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* فاقد اندام‌های داخل سلولی نظیر مری دستگاه تناسلی وغیره هستند (شکل ۹).

۵- "جسم بیور" (Beaver body): بخش‌هایی ازاجزای جلبکی است به نام *Psorospermum Heckelii*که در بافت‌های خرچنگ دراز وجود دارد.این جسم گاهی در مدفوع افرادی که ازاین خرچنگ خورده‌اند یافت می‌شود و دارای سه لایه ضخیم و بی رنگ بوده و داخل آن چندین جسم شبه گرد دیده می‌شود و با تخم کرم‌ها مثل تخم آسکاریس که به حالت پوست کنده (Decorticate) است اشتباه گرفته می‌شود. تخم بارورآسکاریس

www.SID.ir

Archive of SID

دارای جنین رشد نیافته و پوسته ضخیم کتینی قهوه‌ای مایل به زرد همراه با پوشش آلبومینوئیدی با برجستگی‌های پستانی شکل است. تخم غیر بارور بلندتر و کشیده تر از تخم بارورهستند.اندازه ی تخم بارور ۵۵×۴۰ میکرون و تخم غیربارور ۹۰×۴۰میکرون است (۸) (شکل ۱۰).

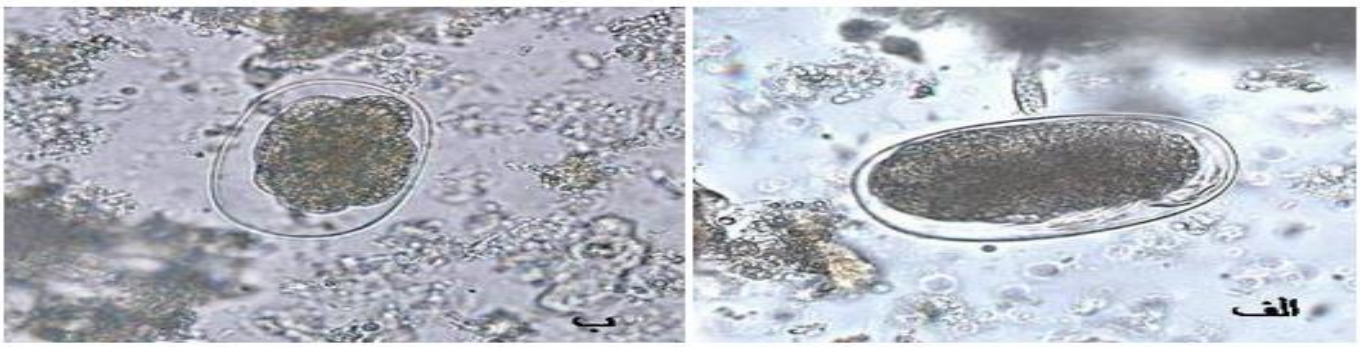


شکل۹.الف. الیاف گیاهی که وجه افتراق آن با لارو کرم‌های قلابدار و *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* عدم وجود اندام‌های داخل سلولی نظیر مری، دستگاه تناسلی و غیره هستند. ب. *استرونژیلوئیدس استرکورالیس*. ج. کرم قلابدار

شکل۱۰.الف،ب. جسم بیور.ج.تخم اسکاریس(۲۲)

۷. تخم مایت (Mite egg)

دربرخی موارد ممکن است درنتیجه خوردن تصادفی یا آلوده شدن غذا و آب با نماتودهای گیاهی نظیر هترودا(Heterodera) یا تخم مایت‌ها و شباهت آن ها با تخم کرم‌های قلابدار اشتباهی در تشخیص صورت گیرد. تخم کرم‌های قلابدار دارای جداری نازک و شفاف و بیضی بوده و دوقلب آن قرینه است و سلول‌های داخل آن دیده می‌شوند و تعداد آن ها درتخمی‌که تازه دفع شده باشد ۵ عدد یا بیشتر است (برحسب مدت توقف درروده‌ها). طول تخم کرم‌های قلابدار۶۴ تا ۷۶ میکرون وعرض آن ۳۶ تا ۴۰ میکرون است (۷, ۱۸-۲۰) (شکل۱۱).



شکل۱۱.الف.تخم مایت ب. تخم کرم‌های قلابدار(طول تخم ۶۴ تا ۷۶ میکرون و عرض آن ۳۶ تا ۴۰ میکرون است.) تخم کرم‌های قلابدار دارای جداری نازک و شفاف و بیضی بوده و دوقلب آن قرینه است و سلول‌های داخل آن دیده می‌شوند و تعداد آن ها درتخمی‌که تازه دفع شده باشد ۵ عدد یا بیشتر است (۲۲)

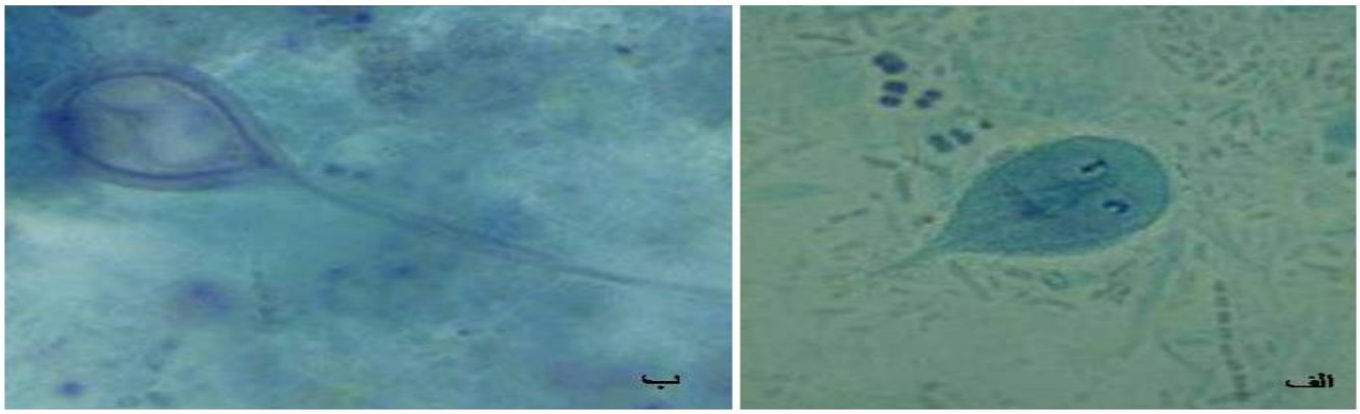
www.SID.ir

Archive of SID

۸. اسپور

اسپورها وقتی در شرایط مساعد قرار می‌گیرند رشد یافته به نام لوله تندش(Germtube)ایجاد می‌کنند. رشد هیف ها از بخش انتهایی آن انجام می‌گیرد. رنگ اسپورها از سفید تا سبز، زرد، قرمز، قهوه‌ای و سیاه متغییراست. اسپورها در قارچ‌های آبزی دارای تاژک هستندو دیواره سلولی نازکتری دارند. در صورتی که در قارچ‌های خشکی‌زی دیواره سلولی ضخیم تر بوده و ممکن است از سه لایه اندوسپور، اپی‌اسپور، پری‌اسپور تشکیل شود. درمواردی ممکن است اسپورها با تروفوزوئیت ژیاردیا اشتباه گرفته شوند. تروفوزوئیت ژیاردیا با اندازه حدودا ۱۰ الی ۲۰ میکرون در مدفوع افراد مبتلا به و اسهال دیده می‌شود. این ارگانیسم انگلی با شکل خاص خود دارای دو هسته قدامی و مدین بادی و اکسونم است درحالی که درآزمایش میکروسکپی اسپورها فاقدخصوصیات ذکر شده هستند.

در اسپورهای در حال جوانه زدن، جسم شبه دم دیده می شودکه از نظر شکل و اندازه شباهتی به تاژک ژیاردیا دارد (شکل ۱۲) (۱۸-۲۱).

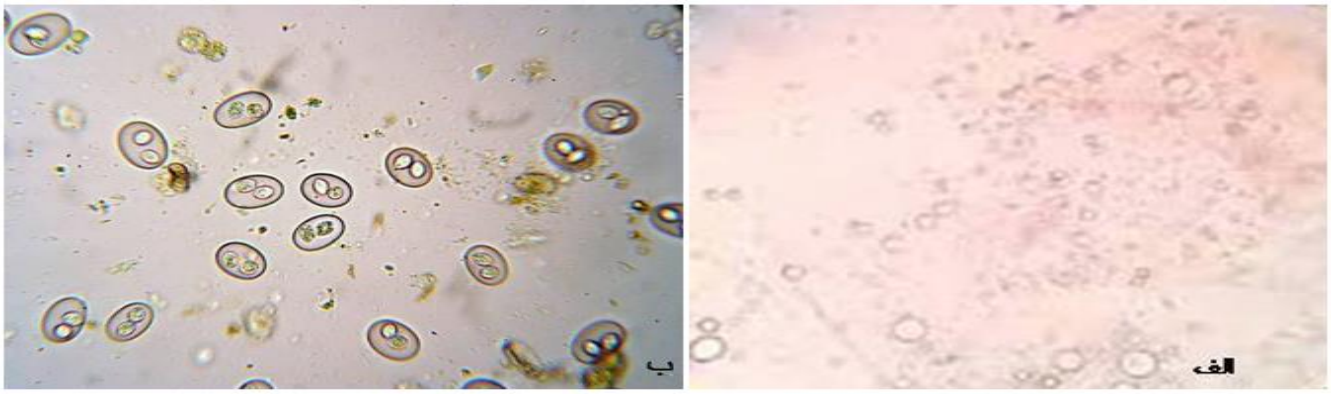


شکل ۱۲.الف.تروفوزوئیت ژیاردیاب. اسپور قارچ.اسپورها ازنظراندازه متفاوت با تروفوزوئیت ژیاردیا هستند و فاقد هسته و مدین بادی هستند(۲۲).

۹. قطرات چربی

مواد معدنی نیز ممکن است به اشکالی ظاهر شوند که در نظر افراد بی تجربه به عنوان عوامل انگلی جلوه کنند. قطرات چربی مدفوع که می‌توانند ناشی از رژیم غذایی، بیماری یا مصرف دارو باشند گاهی دارای ابعاد کوچک و منظم هستند که باعث بروز اشتباه در تشخیص گشته و اگر فقدان ساختمان داخلی آن‌ها نادیده گرفته شود. احتمالا به جای کیست‌های آمیبی تشخیص داده می‌شوند ولی با انجام رنگ آمیزی ویژه چربی‌ها ماهیت اصلی آن‌ها آشکارمی‌گردد.

قطرات چربی با اووسیست‌های انگلی بخصوص کوکسیدیاها قابل اشتباه هستند. قطرات چربی در زیر میکروسکوپ نور را منعکس کرده در نتیجه به طور درخشان دیده می‌شوند. همچنین تفاوت اندازه یکی از فاکتورهای مهم در افتراق عوامل انگلی با قطرات چربی هستند. اووسیست‌ها زیر میکروسکوپ همگی به یک اندازه دیده می‌شوند، در حالی‌که قطرات چربی دراندازه‌های مختلف دیده می‌شوند (شکل۱۳) (۷).



شکل ۱۳.الف.قطرات چربی.ب.اووسیت کوکسیدیا که دارای اسپوروسیت هستند که قطرات چربی فاقد این ارگانل‌ها هستند(۲۲).

www.SID.ir

Archive of SID

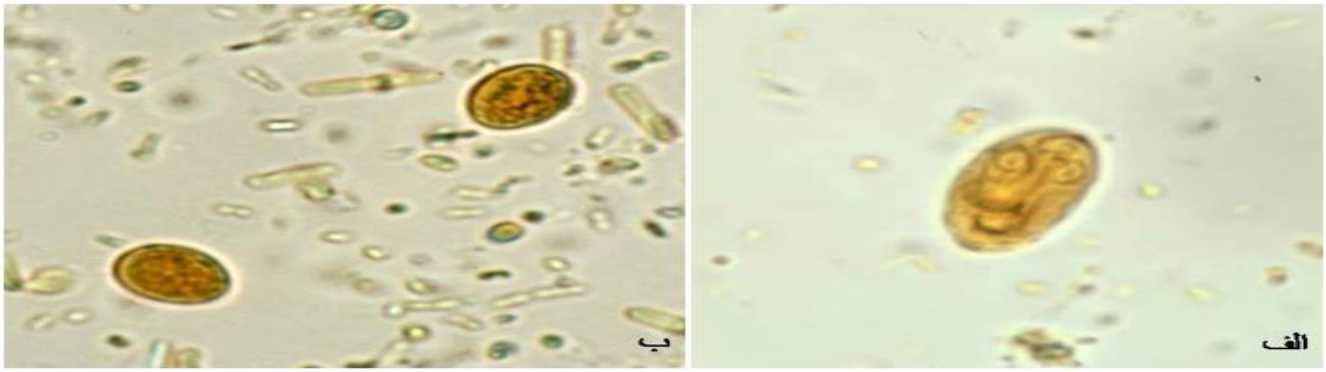
۱۰. مخمرها

بسیاری از انواع مخمرها که به طور طبیعی در مدفوع وجود دارند نیزممکن است درصورت عدم دقت کافی موجب تشخیص اشتباه شوند. سلول‌های مخمری و دیگر عناصر قارچی موجود در مدفوع، بر حسب اندازه و شکل می‌توانند با تخم انواع کرم‌ها و کیست تک‌یاخته‌ها (به ویژه *اندولیماکس نانا*) اشتباه شوند. *اندولیماکس نانا* هسته کروی داشته و کاریوزوم آن بزرگ، مرکزی یا غیر مرکزی بوده که توسط رشته‌های نازک به غشا هسته متصل شده است. محدوده قطر کیست ۱۴-۹ میکرومتر است. اغلب بیضی شکل، گاهی کروی و یا بین دایره و بیضی هستند. سیتوپلاسم آن منظره غبار آلود دارد که در نمونه‌های رنگ آمیزی دائمی،یکی از وجوه تشخیصی است. در سیتوپلاسم کیست می‌توان کروماتوئیدال بادی‌های کوچک و کمی‌خمیده را مشاهده کرد. درکیست‌های رنگ شده با ید، گلیکوژن با لبه‌های نامنظم و در آنهایی که با هماتوکسیلین رنگ شده‌اند، ساختمان هسته و واکوئل‌ها را می‌توان دید.

درنمونه‌های مرطوب تغلیظ یافته, به علت شباهت سلول‌های مخمری با کیست ژیاردیا، امکان تشخیص اشتباه وجود دارد. طول تروفوزوئیت آن بین ۱۲-۹ و عرض آن ۱۵-۵ میکرومتراست و ضخامت آن ۴-۲ میکرومتر است. کیست‌ها تخم مرغی شکل بوده و به طول ۱۲-۸ و عرض ۱۰-۷ میکرومتراست. دررنگ آمیزی پایدارکیست‌ها، چهار هسته واضح، چهار جسم میانی، دیگر ساختارهای مضاعف و بخش‌های درون سیتوپلاسمی‌وتاژک‌های درهم و نامرتب در داخل کیست مشاهده می‌شوند. دیواره کیست صاف و بی رنگ بوده و معمولا از سیتوپلاسم فاصله دارد و علت آن، چروکیدگی سیتوپلاسم در هنگام انجام عمل تثبیت برای رنگ آمیزی است.کیست‌های ژیاردیا دارای جسم پارابازال است و بقایایی از تاژک و اکسواستیل خردشده در آن دیده می‌شود که این ویژگی در مخمر وجود ندارد و باعث افتراق آن از انگل‌ها شده است. کیست‌های ژیاردیا اگر با تری کروم رنگ آمیزی شود به رنگ‌هایی از سبز تا قرمز ظاهر می‌شود. ساختارهای داخلی آن ممکن است به رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز در یک زمینه سبز رنگ دیده شوند (۱۸-۲۱) (شکل ۱۴).

همچنین کیست ژیاردیا در درون خود دارای ضمائمی چون هسته‌ها و بقایای تاژک و اکسونم است که در مخمرها دیده نمی‌شوند و با کمی جست و جودر محیط می‌توان مخمرهای حاوی جوانه پیدا کرد که در کیست ژیاردیا دیده نمی‌شود.

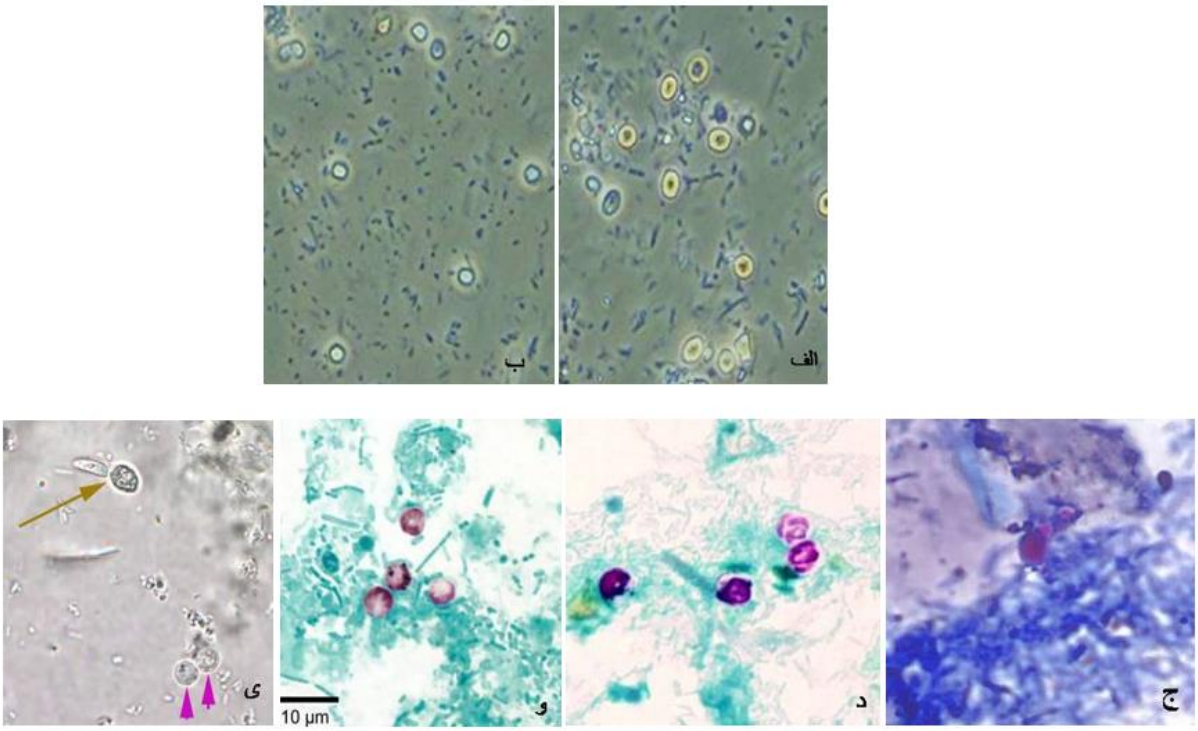
احتمال اشتباه مخمرها با اووسیست کریپتوسپوریدیوم نیز وجود داردکه با رنگ آمیزی اسیدفست، نمونه‌های مخمرها که اسید فست منفی هستند به رنگ سبز دیده می‌شوند و بدین صورت قابل افتراق با کریپتوسپوریدیوم هستند. اووسیست‌های کریپتوسپوریدیوم، حدود ۶-۴ میکرومتر و به شکل کروی یا بیضوی با دیواره صاف هستند. اووسیست‌ها دارای چهار اسپوروزوئیت بوده که سلول‌هایی متحرک بدون فلاژل و گاهی اوقات ویرگول شکل هستند (۱۹-۲۱) (شکل ۱۵).



شکل۱۴.الف.کیست‌های ژیاردیا با داشتن ۴ هسته با کاریوزوم مرکزی، پارابازال بادی و بقایایی از تاژک و اکسواستیل خردشده از مخمرها افتراق داده می شوند.ب.مخمر(۲۲).

www.SID.ir

Archive of SID

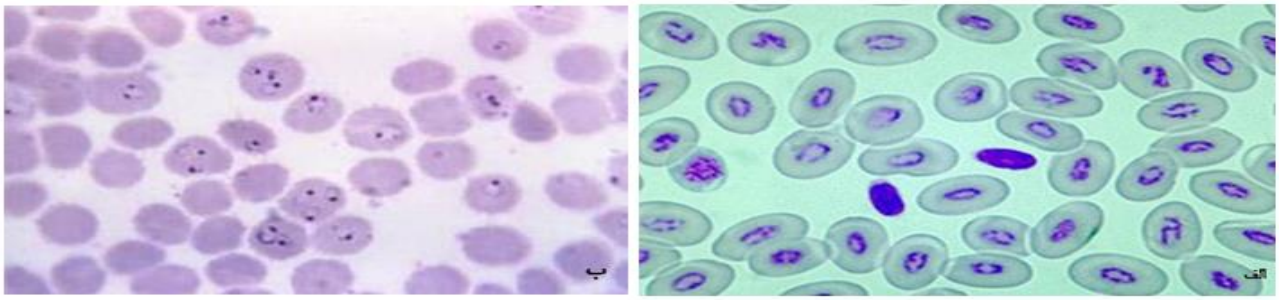


شکل ۱۵.الف.مخمر.ب.اووسیست کریپتوسپوریدیوم در گسترش مرطوب. ج. مخمررنگ‌آمیزی اسید فست. د،و.کریپتوسپوریدیوم رنگ‌آمیزی اسید فست. ی.مخمر(در بالای تصویر) وکریپتوسپوریدیوم (فلش بنفش) در گسترش مرطوب (۲۲).

ب: آرتیفکت‌هادرگسترش خون

۱. پلاکت‌ها

افراد مبتدی اغلب در هنگام بررسی گسترش‌های نازک خونی جهت یافتن انگل‌های مالاریا، با قرارگرفتن پلاکت‌ها بر روی گلبول‌های قرمز دچار اشتباه می‌گردند. چون در این حالت پلاکت ها شباهت زیادی به تروفوزوئیت‌های جوان پلاسمودیوم داشته اما اگر لام به درستی رنگ آمیزی شده باشد رنگ آن‌ها به کلی متفاوت خواهد بود. انگل پلاسمودیوم دارای سیتوپلاسمی آبی و کروماتین قرمز است درحالی که پلاکت در زمینه های مختلف رنگ بنفش را به خود می‌گیرد. حاشیه پلاکت مضرس (دندانه‌دار)و ظاهری پرزدار دارد درحالی که حاشیه انگل پلاسمودیوم صاف، فاقدپرز وکاملا نوک تیزاست (شکل ۱۶) (۹, ۲۲).



شکل ۱۶.الف. پلاکت‌ها. ب. پلاسمودیوم. انگل پلاسمودیوم دارای سیتوپلاسمی آبی و کروماتین قرمز است در حالی که پلاکت در زمینه های مختلف رنگ بنفش را به خود می‌گیرد. حاشیه پلاکت مضرس و ظاهری پرزدار دارد درحالی که حاشیه انگل پلاسمودیوم صاف، فاقد پرز و کاملا نوک تیز است.

۲. اسپورقارچ

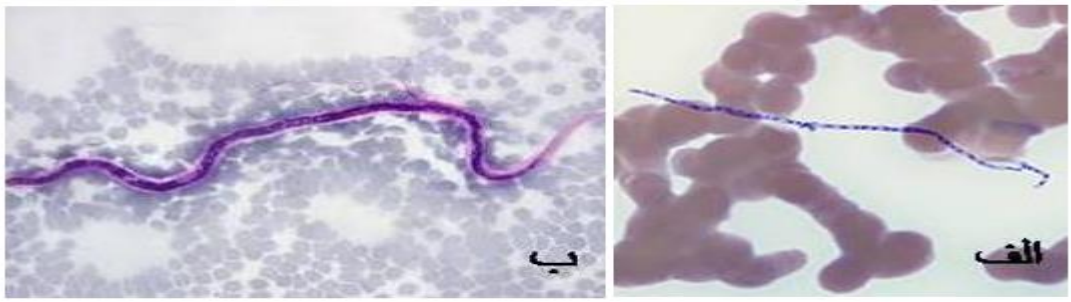
قارچی بنام هلیکوسپوریوم درگسترش‌های خونی با میکروفیلرها اشتباه گرفته می‌شود. میکروفیلر غشاء دار به اندازه ی ۳۰۰-۲۴۰ میکرون است. میکروفیلر در داخل غلاف قراردارد، در ناحیه دم هسته دیده نمی‌شود، میکروفیلرها در اکثر موارد شب ها در جریان خون محیطی یافت می‌شوند، در لام تهیه شده از خون تازه حرکت میکروفیلرها آرام و یکنواخت است. در حالی که

www.SID.ir

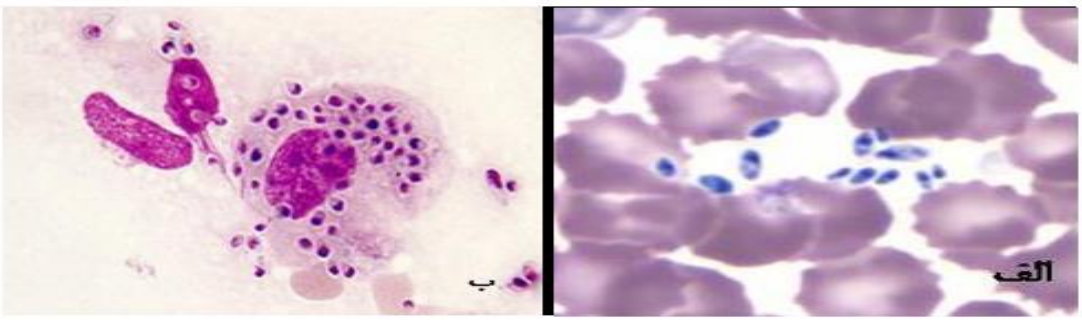
Archive of SID

اسپورها کمتر از ۱۰۰ میکرومتر هستند . ساختار داخلی حاوی مناطق تاریک است. با مقایسه اندازه این دو ارگانیسم را می‌توان از هم افتراق داد (شکل۱۷) (۷، ۹).

همچنین اجسام نامشخص که احتمال داده می‌شود قارچ باشند ممکن است درگسترش‌های خونی با فرم آماستیگوت انگل لیشمانیا اشتباه گرفته شوند. اندازه اماستیگوت‌ها ۵-۲ میکرومتراست.گرد یا بیضوی شکل و دارای کینتوپلاست و رشته‌های فیبرینی قرمز رنگ می‌باشند. هسته قرمز، سیتوپلاسم آبی وکینتوپلاست بنفش رنگ است. درقارچها فقط هسته اما در آماستیگوت لیشمانیا علاوه بر ساختار هسته و در قطب مقابل آن کینتوپلاست نیز دیده می‌شود (شکل۱۸).



شکل ۱۷.الف.اسپور قارچ هلیکوسپوریوم.ب. میکروفیلرکه در داخل غلاف قرار دارد و اندازه آن بزرگتر از قارچ هست(۲۲)



شکل ۱۸ .الف. اسپورقارچ ب. فرم آماستیگوت لیشمانیا. در قارچها فقط هسته اما در آماستیگوت لیشمانیا علاوه بر ساختار هسته و در قطب مقابل آن کینتوپلاست نیز دیده می‌شود.

۳. عفونت‌های کاذب

پیداکردن تخم های بعضی از کرم‌ها در آزمایش مدفوع لزوما نشان دهنده وجود عفونت نیست. گاهی به طور تصادفی تخم‌های نماتود کاپیلاریا و ترماتودهایی نظیر فاسیولا خورده شده، بدون تغییر از مجرای گوارشی عبور کرده و دفع می‌شوند. هرچند درصورت محرز شدن آلودگی جگرهای گاو وگوسفند به فاسیولا دیگر جهت مصرف انسان به کار نمی‌روند، اما در صورت عدم بازرسی گوشت و جگر دام‌های ذبح شده و یا عفونت خفیف و غیر قابل تشخیص آن‌ها، احتمالا کرم‌های بالغ خورده شده و لذا تخم آن‌ها در مدفوع افراد ظاهر می‌گردند. درصورت بروز ابهام در احتمال وجود این نوع آلودگی‌های کاذب انگلی باید نمونه دیگری پس از کنترل رژیم غذایی به منظور کاهش امکان بروز چنین آلودگی‌هایی درخواست و جمع آوری گردد. همچنین آلودگی با همه مراحل نماتودهای با زندگی آزاد به صورت آلوده کننده‌های آب و غیره (که برای تهیه سوسپانسیون مدفوع به کار می‌رود) می تواند اتفاق بیفتد(۷).

نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر در راستای شناسایی و آشکار نمودن اهمیت بخشی پنهان در آزمایشگاه انگل‌شناسی پزشکی تحت عنوان آرتیفکت‌های انگلی ارایه شد. عدم آموزش کافی و متمرکز دراین زمینه در واحدهای آموزشی، موجب تشخیص‌های غلط عفونت‌های انگلی و به دنبال آن تجویز داروهای نا کار آمد،گران قیمت و پرعوارض توسط پزشک می‌شود. از این رو آموزش جامع و مطالعهٔ عمیق این گونه مباحث و نیز برگزاری کارگاه های آموزشی برای دانشجویان پیشنهاد می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

سپاسگزاری

ازتمامی‌همکاران آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Arbabi M, Talari S. Intestinal parasites in student of Kashan university of medical sciences. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2004:44-5.
2. Bundy DA, Hall A, Medley GF, Savioli L. Evaluating measures to control intestinal parasitic infections. World health statistics quarterly 1992; 45 (2/3): 168-179. 1992.
3. Musaiger A. Intestinal parasitic infections among school children in Bahrain. Journal of tropical pediatrics. 1989;35(1):45-6. [DOI:10.1093/tropej/35.1.45] [PMID]
4. Heitman J. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Mycopathologia. 2000 Aug 25;149(1):47-8.
5. Montresor A, Crompton DW, Hall A, Bundy DA, Savioli L, World Health Organization. Guidelines for the evaluation of soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level: a guide for managers of control programmes. Geneva: World Health Organization; 1998.
6. MoghateliM, Gorgipur M, Mohamadzade M, Rahimi Pordanjani S, Namrudi J, Soleymani M. Frequency of intestinal parasitic infections in the Dashti county (Bushehr province) during 2009 to 2014. Navid No. 2015;17(59):15-21.
7. Garcia LS AL. Diagnostic Parasitology. ed2.1979.
8. Smith JW MR, Ash LR, Melvin DM, Orihel TC, Thompson JH. Diagnostic Medical Parasitology: Intestinal Protozoa 1976.
9. http://www.provlab.ab.ca/webbug/parasite/artifact/intro.htm.
10. Parija S, Bhattacharya S, Padhan P, Shivaprakash M. Evaluation of Formalin-Acetone Sedimentation in the Concentration of Stool for Intestinal Parasites. Tropical doctor. 2003;33(3):163-4. [DOI:10.1177/004947550303300315] [PMID]
11. Truant AL, Elliott SH, Kelly MT, Smith JH. Comparison of formalin-ethyl ether sedimentation, formalin-ethyl acetate sedimentation, and zinc sulfate flotation techniques for detection of intestinal parasites. Journal of clinical microbiology. 1981;13(5):882-4.
12. Ramsay A, Gillespie S, Mnzava T, Ngowi F, Fox R. A field evaluation of the formol-detergent method for concentrating faecal parasites. The Journal of tropical medicine and hygiene. 1991;94(3):210-3.
13. Neimeister R, Logan AL, Gerber B, Egleton J, Kleger B. Hemo-De as substitute for ethyl acetate in formalin-ethyl acetate concentration technique. Journal of clinicalmicrobiology. 1987;25(2):425-6.
14. Young KH, Bullock SL, Melvin DM, Spruill CL. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. Journal of clinical microbiology. 1979;10(6):852-3.
15. Fritsche TR, Selvarangan R. Medical parasitology. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods 22nd ed Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier. 2011. [DOI:10.1016/B978-1-4377-0974-2.00062-2]
16. Madico G, Quinn TC, Rompalo A, McKee KT, Gaydos CA. Diagnosis of Trichomonas vaginalisInfection by PCR UsingVaginal Swab Samples. Journal of clinical microbiology. 1998;36(11):3205-10.
17. Draper D, Parker R, Patterson E, Jones W, Beutz M, French J, et al. Detection of Trichomonas vaginalis in pregnant women with the InPouch TV culture system. Journal of clinical microbiology. 1993;31(4):1016-8.
18. de Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS); 2000.
19. Winn W AS JW, Koneman E,, Procop G SP,woods, allen. . Koneman's color atlas and textbook of diagnostic2006.
20. Pherson RA PM. Henry's clinicaldiagnosis and management by laboratorymethods. 2011.
21. Gourguechon S, Holt LJ, Cande WZ. The Giardia cell cycle progresses independently of the anaphase-promoting complex. J Cell Sci. 2013;126(10):2246-55. [DOI:10.1242/jcs.121632] [PMID] [PMCID]
22. www.cdc.gov/parasites/.

www.SID.ir