Archive of SID

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی دی‌انتامو با فراژیلیس در افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تبریز

دکتر رسول جمالی[1]، شهرام خادم وطن[2]

چکیده

پیش زمینه و اهداف: با توجه به اینکه دی انتاموبافراژیلس به عنوان یک ارگانیسم انگلی و بیماری زا به شمار می آید تشخیص آن به‌وسیله آزمایشگاه‌ها اهمیت زیادی دارد. این تک‌یاخته فرم کیستی ندارد و معمولاً انتقال آن توسط تخم اکسیور انجام می گیرد.

تعدادی از گزارش‌ها نشان می‌دهد که دی انتاموبافراژیلس موجب ایجاد علایم بالینی در برخی افراد آلوده می شود و میزان شیوع عفونت علامتدار را از ۱۵ تا ۲۷ درصد تخمین می‌زنند. مشاهده این انگل با روش های رنگ آمیزی گسترش مدفوعی صورت می‌گیرد که متاسفانه در اکثر آزمایشگاهها انجام نمی شود چه بسا افرادی به پزشک مراجعه کرده و علایمی مثل درد شکم، نفخ شکم، تهوع، اسهال، کم شدن وزن در آنها وجود داشته و پزشک نیز جهت تشخیص علت آنها را به آزمایشگاه معرفی کرد، ولی عامل بیماری به علت قابل رویت نبودن در آزمایش های مستقیم یا فرمل اتر تشخیص داده نشده است.

روش بررسی: تعداد ۷۹۰ نمونه مدفوعی در مدت ۶ ماه از آزمایشگاههای تشخیص طبی سطح شهر تبریز جمع‌آوری شد. نمونه ها به‌روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین آهن کاینیون, مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: از کل نمونه ها ۱۰۲ مورد آلودگی به این ارگانیسم تشخیص داده شد که متاسفانه حتی یک مورد هم توسط آزمایشگاه ها گزارش نشده بود. شیوع این تک یاخته ۱۳/۲٪ به دست آمد

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع بالای این ارگانیسم و نقش آن در ایجاد اسهال با منشاء ناشناخته پیشنهاد می شود برای تشخیص موارد مشکوک در آزمایشگاههای تشخیص طبی روش رنگ آمیزی مدفوع با هماتوکسیلین انجام گیرد و توجه بیشتری در گزارش نمونه‌های مدفوعی انجام شود.

کل واژگان : دی انتاموبافراژیلیس، تشخیص، رنگ آمیزی, انگل,عفونت روده‌ای

مجله پزشکی ارومیه، سال پانزدهم ، شماره دوم ، ص ۱۲۷- ۱۲۲ ، تابستان ۱۳۸۳

آدرس مکاتبه : تبریز - گروه انگل شناسی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، دکتررسول جمالی

۱- دانشیار گروه انگل شناسی ،دانشکده پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی،دانشکده پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی تبریز

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دی‌انتاموبافراژیلیس[1] در سال ۱۹۰۹ به‌عنوان گونه جدیدی اعلام شد و در سال ۱۹۱۸ توسط دبل وجپز[2] توصیف شد.(۱) تا مدتها این انگل را یک آمیب تاژکدار می نامیدند با مطالعه جزئیات ساختمانی دی انتاموبافراژیلیس توسط میکروسکپ الکترونی وابستگی و شباهت این تک یاخته با تریکوموناداها معلوم شد (۲).

روشن شده که دی انتاموبا در کریپت های مخاطی روده بزرگ زندگی می‌کند و به ندرت دیده شده که گلبول های قرمز را ببلعد. ظاهراً این تک یاخته هرگز بافت ها را مورد تهاجم قرار نمی‌دهد.

اندازه تروفوزوئیت از ٤ تا ۲۲ میکرون متغیر بوده و میانگین آن ۹ میکرون می باشد.

سیتوپلاسم در نمونه های رنگ شده ظاهری رنگ پریده دارد و آلوئل‌های متعدد در سیتوپلاسم دارد که در آنها دانه‌های نشاسته و باکتری وجود دارد.(۳)

بیش از ۸۰٪ این تک یاخته در شکل دو هسته‌ای ظاهر می‌شوند ولی گاهی با اشکالی با ۳ یا ٤ هسته دیده می‌شوند. شکل دو هسته‌ای در حقیقت یک مرحله تلوفاز توقف یافته است.

این تک یاخته دارای پاهای کاذب در ظاهر شفاف، پهن و برگی شکل با کناره های دندانه دار هستند. ارگانیسم در مدفوع تازه کاملاً فعال است اما بدون رنگ آمیزی مشخص نمی‌شود. تشخیص قطعی انگل تنها با آزمایش چندین گسترش مدفوع که به‌روش رنگ‌آمیزی دایمی تهیه شده توسط افراد مجرب و کارآزموده امکان پذیر است. به دلیل نداشتن کیست، تشخیص انگل در نمونه مدفوع بیمار بستگی تام به نحوه انجام آزمایش دارد. در گسترش مستقیم و مرطوب بسیاری از موارد دی انتاموبا تشخیص داده نمی‌شود و یا با ارگانیسم‌های دیگر مثل بلاستوسیتیس هومی نیس و اندولیماکس نانا اشتباه می شود.

روش های تغلیظ مثل فلوتاسیون و فرمل اتر نیز موجب متلاشی شدن انگل می شوند.

نحوه انتقال انگل دقیقاً مشخص نشده و تمام کوششها برای انتقال این انگل از راه دهان به شکست منجر شده(۵) برخی معتقدند که تروفوزوئیت دی انتاموبا از طریق تخم اکسیور منتقل می‌شود. این روش انتقال در مورد هیستوموناس مله اکریدیس که انگل کبد و روده بوقلمون و طیور دیگر است اثبات شده است (٤، ۸) یانی و شلتون[3] بیان کرده‌اند که فراوانی توام عفونت دی انتاموبا و انتروبیوس ورمیکولاریس بیش از حدی است که بتوان آنرا تصادفی به شمار آورد.(٤)

علایم بالینی به‌صورت اسهال، دل درد، خارش مقعد، مدفوع غیرطبیعی (خونی، بلغمی و شل) می باشد. ممکن است این تک یاخته ایجاد کولیت نماید.اسهال به شکل حاد یا به شکل عود شونده می باشد ولی در موارد مزمن نشانه اصلی دل درد می‌باشد(۵)

برای شناسایی و تشخیص دی‌انتاموبافراژیلیس دو روش تشخیص قطعی توسط رنگ آمیزی دایمی با هماتوکسیلین آهن کاینیون و یا رنگ‌آمیزی تریکروم توصیه شده که مکان خصوصیات انگل به‌خوبی مشاهده می شود(۳و٦).

کشف و شناسایی صحیح برخی تک یاخته‌های روده‌ای نظیر دی‌انتاموبافراژیلیس غالباً در گروه آزمایش گسترش رنگ-آمیزی شده دایمی است. از سال ۱۹۷۷ انجمن انگل‌شناسی امریکا تاکید نموده است که بایستی هرآزمایشگاه تشخیص طبی برای رسیدن به نتایج بالینی صحیح به‌طور روزمره از نمونه‌های بیماران گسترش رنگ‌آمیزی شده دایمی تهیه نماید با وجودآنکه در پاره‌ای از موارد یک آزماینده ورزیده قادر است برخی از جانداران انگلی را در گسترش مرطوب شناسایی کند ولی غالب تشخیص‌ها تا زمانی که با گسترش رنگ‌آمیزی شده دایمی تائید نگردند می باید تنها به‌عنوان یک تشخیص احتمالی در نظر گرفته شوند. بنابراین عفونت‌هایی مثل دی‌انتامو-بافراژیلیس و عفونت انتاموباهیستولیتیکا تنها زمانی بایستی گزارش شود که با یک گسترش رنگ‌آمیزی شده دایمی تایید گردد. رنگ‌آمیزی‌های دایمی مفیدترین روش و دارای حساسیت زیاد برای ردیابی کیست و تروفوزوئیت تک یاخته‌ای‌ها هستند حتی

1 - Dientamoeba fragilis
2 - Dobell & Jepps
3 - Yany & (Scholton

www.SID.ir

Archive of SID

گاهی با وجود منفی بودن گسترش روشهای مستقیم و تغلیظی نتایج مثبتی به دست می دهند. با آزمایش مستقیم گسترش مرطوب تنها ۱۵درصد تروفوزمیت ها شناسایی می گردند در حالی که با روش رنگ آمیزی دایمی ۶۰٪ آنها شناسایی می شوند و برای برخی کیست ها نظیر کیست آمیب هیستولیتیکا این روش تا ۸۵٪ نتایج مثبت به دست می دهد. همچنین استفاده از رنگ آمیزی های دایمی دو مزیت عمده به همراه دارد اول انکه آزماینده دارای یک بایگانی همیشگی از جانداران انگلی است که تشخیص داده شده‌اند و دوم انکه هنگامی که اشکال غیرعادی یافت شوند می‌توان با استفاده از این گسترش‌ها با متخصصان امر به مشاور پرداخت.(۷)

هدف این مطالعه بررسی شیوع عفونت به تک یاخته دی انتاموبا در مراجعان به آزمایشگاه های تشخیص طبی سطح شهرستان تبریز با استفاده از روش های تشخیص اختصاصی بود. تمامی نمونه‌های آزمایش شده توسط آزمایشگاه های تشخیص طبی آزمایش شده و همگی آنها منفی گزارش شده بود.

مواد و روش

۷۹۰ نمونه مدفوع در مدت ۶ ماه از آزمایشگاههای سطح شهر جمع‌آوری و به نمونه‌ها نگهدارنده پلی وینیل الکل[1] یا سدیم استات استیک اسید فرمالین[2] اضافه شد. از آنجائی‌که این ارگانیسم در تماس با آب متلاشی می شود لذا نمونه‌های مشکوک به برخورد با آب از نمونه ها کنار گذاشته شد. از آنجا که روش های تغلیظ برای شناسایی انگل مفید نیست به ۳ سی سی از مخلوط مدفوع و SAF فیزیولوژی اضافه شد و با دور g۱۵۰۰ سانتریفوژ گردید (۸).

از رسوب ته لوله بر روی لام گسترش تهیه شد.اندازه گسترش تهیه شده کمی کوچکتر از لامل ۲۴ در ۵۰ میلی‌متر بود. گسترش ها در انکوباتور 37^{o} قرار داده شد تا کمی رنگ آنها کدر شود.

جهت رنگ‌آمیزی گسترش‌ها از روش رنگ‌آمیزی آهن کاینیون استفاده شد رنگ آمیزی هماتوکسیلین آهن کاینیون از نظر تکنیکی مشکل‌تر از رنگ‌آمیزی تریکروم است ولی نتایج به علت تشدید خصوصیت کلیدی هسته‌ای و سیتوپلاسمی بهتر از رنگ آمیزی تریکروم می باشد. بهترین نتایج با محلول ثابت کننده SAF حاصل می‌گردد گرچه با محلول شاودین و PVA نیز نتیجه رضایت بخش است. گسترش ها در ۱۵ سبد رنگ آمیزی به‌ترتیب زیر قرار داده شد:

سبد ۱ الکل 70^{o}، ۵ دقیقه، سبد شماره ۲ آب معمولی دقیقه، سبد شماره ۳ محلول کاینیون ۵ دقیقه، سبد ٤ آب معمولی ۱ دقیقه، سبد شماره ۵ محلول رنگ بر (اسید الکل) ٤ دقیقه، سبد ٦ آب معمولی ۱ دقیقه، سبد شماره ۷ محلول هماتوکسیلین آهن مصرفی ۸ دقیقه، سبد شماره ۸ آب مقطر ۱ دقیقه، سبد شماره ۹ محلول اسید پیکریک ۵۰٪ اشباع ۳ تا ۱۰ دقیقه، سبد شماره ۱۰ آب معمولی ۱ دقیقه، سبد شماره ۱۱ محلول الکل آمونیاک ۳ دقیقه، سبد ۱۲ الکل ۹۶ درجه ۵ دقیقه، سبد ۱۳ الکل ۱۰۰ درجه ۵ دقیقه، سبد ١٤ محلول گزیلول ۱، ۵ دقیقه، سبد ۱۵ محلول گزیلول ۲ ,۵ دقیقه..

پس از اتمام زمان آخرین سبد، گسترشها مونته شده و در گرمخانه $37^{o}c$ قرار گرفت _ پس از خشک شدن لام ها با عدسی شی ۱۰۰ با روغن امرسیون بررسی گردید.

نتایج

همه نمونه‌هایی‌که به‌صورت تصادفی از آزمایشگاه های مختلف جمع‌آوری شده بود با روش رنگ‌آمیزی استاندارد هماتو-کسیلین آهن کاینیون مطالعه شدند که از تعداد ۷۹۰ نمونه مورد آزمایش تعداد ۱۰۲ نمونه به انگل دی انتاموبافراژیلیس آلوده بودند این در حالی است که در آزمایشگاه های تشخیص طبی سطح شهر تبریز که تنها از روش مستقیم (وت مانت)[3] استفاده می‌کنند حتی یک‌مورد مثبت نیز گزارش نشده بود. (جدول ۱).

1- PVA(Poly Vinil Alchol)
2 - SAF(Sodium acetate – Aceticacid- Formalin)
3 - Wet mount

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ مقایسه نتایج دو روش رنگ آمیزی و اسمیر مستقیم موضوع

	تعداد کل	موارد مثبت	موارد منفی	درصد آلودگی
نمونه بررسی شده با روش رنگ آمیزی	۷۹۰	۱۰۲	٦۸۸	٪۱۳
نمونه بررسی شده باروش مستقیم	۷۹۰	۰	۷۹۰	۰

با استفاده از روش استاندارد رنگ آمیزی پایدار ۳۸٤ مورد (٤۸/٦٪) از نمونه های مدفوع گرفته شده از آزمایشگاههای سطح شهر تبریز آلوده به ارگانیسم های مختلف انگلی و بخصوص تک یاخته ها بودند. بیشترین میزان آلودگی مربوط به یدامابوتچلی با شیوع ۲٤/۲، ژیاریالامبلیا با ۲۰/۱٪، بلاستوستیس هومینیس ۲۱/۸٪ و دی انتاموبافراژیلیس با ۱۳/۲ بود (جدول ۲).در ۳۸٤ نمونه باقی مانده انگل‌های متعددی مشاهده شد که این خود موید آلودگی توام نمونه های مثبت با یک یا چندین ارگانیسم انگلی است.بیشترین آلودگی همراه مربوط به انگل‌های یدامبا بوتچلی, ژیاردیا وبلاستوسیستیس بود(جدول ۳).

جدول ۲ : درصد فراوانی برخی انگلهای روده‌ای در نمونه های مدفوع اخذ شده از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر تبریز بر اساس نتایج آزمایشگاه ها و روش استاندارد

شاخصهای تشخیصی	دی انتاموبافژیلس	بلاستوسیتس	بدامابوتچلی	ژیاریالابلیا	آسیب هیستولیتیکا
مثبت واقعی	٪۰	٪۱/۲	٪۰/۳	٪٦/۸	٪۰
منفی کاذب	٪۱۳/۲	٪۲۰/٦	٪۱۸/٦	٪۱۳/۳	٪۰/۸
شیوع	٪۱۳/۲	٪۲۱/۸	٪۲٤/۲	٪۲۰/۱	٪۰/۸

۱۰ نفر از افرادی که دارای نمونه مثبت دی انتاموبافراژیلیس بودند پی گیری شدند که حدود ۷ نفر از آنها دارای مدفوع اسهالی و شل بودند. مدفوع این افراد دوباره از نظر ابتلا به عوامل باکتریایی و انگلی بررسی شد که تنها ارگانیسم بیماری زای یافت شده دی انتاموبافراژیلس بود.

جدول ۳ : توزیع فراوانی آلودگی های توام با دی اتاموبافراژیلس

نوع آلودگی	فراوانی	درصد
یدامابوتچلی	۳٤	۳۲/۱
ژیاردیالامبلیا	۳۱	۳۰/۳
بلاستوسیتس هومی نیس	٤۳	٤۲/۱
اندولیماکس نانا	۷	٦/۸
دی انتاموبافراژیلس تنها	۵۹	۵۷/۸
جمع	۱۷٤	۱۷۰

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

با درنظرگرفتن اینکه دی‌انتاموبافراژیلیس به‌عنوان یک ارگانیسم انگلی و بیماری زا به شمار می‌آید و دارای درصد شیوع بالایی است (۵و٤) تشخیص آن به وسیله آزمایشگاه ها اهمیت بیش از حدی را پیدا می‌کند.

چه بسا افرادی که به پزشک مراجعه و از علایمی نظیر درد شکم، نفخ، تهوع، استفراغ و اسهال شکایت داشتند و پزشک فرد را جهت تشخیص عامل بیماری زا به آزمایشگاه معرفی کرده ولی عامل بیماری به علت قابل رویت نبودن در روش آزمایش مستقیم و فرمل اتر تشخیص داده نشده است. همچنین تعداد دفعات نمونه‌گیری نیز یکی از عوامل بسیار مهم در تشخیص این ارگانیسم می باشد به طوری که با یک بار نمونه گیری شانس تشخیص فقط ۵۰٪ و با سه بار نمونه گیری ۸۰٪ و ٦ بار نمونه گیری ۹۰٪ می باشد(۸). در ٤۰٦ نمونه از ۷۹۰ نمونه این بررسی (۵۱/٤٪) با روش استاندارد هیچ‌گونه ارگانیسم انگلی مشاهده نشد و در ۳۸٤ نمونه باقی مانده انگل‌های متعددی مشاهده شد که این خود موید آلودگی توام نمونه های مثبت با یک یا چندین نوع ارگانیسم انگلی است.

همانگونه که گفته شد مشاهده و تشخیص قطعی این انگل با روش رنگ‌آمیزی دایمی گسترش های مدفوعی صورت می‌گیرد. چنانچه در این بررسی نیز مشخص گردید با یکبار آزمایش ۷۹۰ نمونه مدفوعی از نمونه های پذیرش شده جهت آزمایش حتی یک مورد دی انتاموبافراژیلیس نیز تشخیص داده نشد و همگی جواب منفی بوده اند در حالی که۱۳/۲ درصد نمونه ها آلوده بوند.

برخی تحقیقات میزان حاملان دی انتاموبافراژیلیس را تا ۲۷٪ نیز ذکر کرده‌اند(۳), حداکثر شیوع سنی در گروه سنی ٦ تا ۱۰ سال مشاهده می شود در برخی از گزارشها ارتباط بین آلودگی به اکسیور و ابتلا به دی‌انتاموبافراژیلیس ذکر شده است(٤) میزان شیوع انگل در ایران در اکثر گزارش ها کمتر از ۱۰٪ بوده است که البته میزان واقعی بیش از این می باشد و دلیل گزارش به‌میزان پائین، عدم استفاده از روشهای دقیق تر نظیر رنگ‌آمیزی مدفوع می باشد.

حدود ۲٦ تا ۸۵٪ افراد آلوده ممکن است علایم بالینی توام با اختلالات گوارشی داشته باشند که مهمترین آنها به صورت اسهال ٤۳/۵٪، درد شکم ٤٦/۲٪ مدفوع شل و موکوس ۲۲/٦٪، نفخ شکم ۱۹/۹٪، کوفتگی خفیف ۱۳/٤٪ اسهال و یبوست متناوب ۱۳/٤٪، تهوع و استفراغ ۲۰/٤٪ می باشد (۹) و از آنجائی که اکثر مواقع این انگل گزارش نمی شود ممکن است یکی از دلایل اسهال های ایدیوپاتیک این تک یاخته باشد (جدول ٤).

جدول ٤: فراوانی علایم گوارشی و علایم دیگر در بیمارانی که تنها دی انتاموبافراژیلس در آنها تشخیص داده شده

علایم بیماری	٪ بیماران	
	در آزمایشگاه مرکز بهداشت انتاریو	در مطبوعات علمی
اسهال	٪۵۸/٤	٪٤۲/۵
دل درد	٪۵۳/۷	٪٤٦/۲
خارش مقعد	٪۱۱	٪۲/۷
مدفوع غیرطبیعی (خونی، بلغمی و شل)	٪۹/۸	٪۲۲/٦
کهیر	٪٦/۷	۰
نفخ	٪۵/۹	٪۱۹/۹
ضعف و خستگی	٪۵/۹	٪۱۳/٤
ائوزینوفیلی	٪۵/۱	٪٤/۳
اسهال و یبوست متناوب	٪۳/۹	٪۱۳/٤
تهوع یا استفراغ	٪۳/۵	٪۲۰/٤
کاهش وزن	٪۳/۱	٪۱۰/۲
یبوست	٪۲/٤	٪٦/۵
آروغ زدن	٪۲	٪۵/٤
دل پیچه	٪۱/۲	٪۵/۹
بی اشتهایی	٪۱/۲	٪۵/٤
علایم دیگر	٪۲	٪۱۸/۳
تعداد بیماران بررسی شده	۲۵۵	۱۸٦

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع نسبتاً بالای این ارگانیسم و ایجاد علایم بالینی توصیه می شود در مواردی که اختلال گوارشی مبهم و مداوم یا متناوب وجود دارد و ظن بیماری انگلی می‌رود لکن در آزمایش مکرر مدفوع انگل یافت نمی شود به این تک یاخته مظنون شد و رنگ‌آمیزی مدفوع با روش های پایدار نظیر هماتوکسیلین آهن کاینیون صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

از مسئولان آزمایشگاههای شهر تبریز که در اجرای این طرح ما را یاری فرمودند صمیمانه تشکر می شود.

References

1-Schwartz MD,Nelson ME: Dientamoeba fragilis infection presenting to the emergency department as acute appendicitis.J Emergency Med, 2003,25(1):17-21.

2-Silberman JD, Graham C, Mitchell L: Dientamoeba fragilis shares a recent common evolutionary history with the trichomonds. J Molec Biochem parasitol, 1996, 76: 311-314.

3-Markell EK, John DT, Krotoski WA: Medical parasitology. 8th ed, Philadelphia, WB Saunders company, 1999: 68-70.

٤- فلاح محمد: گزارشی از دی‌انتامیبازیس در یک خانواده و مروری بر خصوصیات بیماری زایی و اهمیت انگل در جامعه. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، سال سوم، شماره ۱،ص ۵۱-۵۶.

5-Neva AF,Brown WH :Basic clinical parasitology. 4th ed, New York, WB Saunders company, 1995: 21.

6-Girginkard N, Coskun S, Cuneyt B ,Ertan P,Ok UZ: Dientamoeba fragilis, a neglectd cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. Clin Microbio inf, 2003,9(2) :110 .

۷- ورطنیان سرگیز:کنترل کیفیت بخش انگل‌شناسی‌ازمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر تبریز پایانامه دکتری علوم ازمایشگاهی از دانشکده پزشکی، دانشگاه علم پزشکی تبریز، شماره پایان نامه ۲۲٤، سال۱۳۷۷.

8- Garcia LS, Brucher D A:Diagnostic medical parasitology. 2 nd ed,Washington DC, 1993: 257-296.

9- Yang J,Schlten TH: Dientamoeba epidemiology, pathology. Am J Trop Hyg, 1977,26(1):16-22.

www.SID.ir