بر اساس تصویب اداره کل آموزش مداوم جامعه پزشکی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به پاسخ دهندگان پرسشهای مطرح شده در این مقاله ۲ امتیاز بازآموزی به پزشکان عمومی، متخصصین بیماریهای عفونی و گرمسیری بیماریهای داخلی و بیماریهای کودکان بازآموزی تعلق می گیرد.

مشکلات آمیبیاز و تشخیص آزمایشگاهی آن

نویسندگان: دکتر مصطفی رضائیان[1]، دکترحسین هوشیار[2]

خلاصه:

انتامباهیستولیتیکا یکی از شایع‌ترین تک‌یاخته‌های انگلی انسان در سطح جهان می‌باشد. سالیانه بیش از ۱۰۰ هزار مورد مرگ و میر در اثر آمیبیاز گزارش می‌گردد. در کشور ما نیز هرساله موارد زیادی از آمیبیاز روده‌ای و خارج روده‌ای مشاهده می‌شود. تشخیص صحیح و دقیق آمیبیاز و افتراق آن از سایر بیماریها یکی از مشکلات عمده در کلینیک‌ها و آزمایشگاههای تشخیص طبی می‌باشد. تشخیص انتامباهیستولیتیکا براساس مشخصات مرفولوژیک انگل وبررسی سرولوژیک بیماران صورت می‌گیرد. در هر دو روش مشکلات و عوامل مداخله کننده متعددی وجود دارد. در این مقاله عوامل مؤثر در تشخیص صحیح آمیبیاز مورد بحث قرارگرفته است.

کلید واژه: آمیبیاز، تک یاخته های روده ای، تشخیص آزمایشگاهی

مقدمه:

تهاجم انتامبا هیستولیتیکا در انسان بیماری گسترده‌ای از دیسانتری تا آمیبیاز خارج روده‌ای نظیر آبسه های کبدی، ریوی و غیره می تواند ایجاد کند. تخمین زده می شود حدوداً ۵۰۰میلیون نفر در جهان آلوده به این تک یاخته هستند و حدوداً در ۱۰درصد افراد آلوده این تک یاخته مهاجم گشته و ایجاد بیماری می کند (۱). انتامباهیستولیتیکا با ایجاد بیش از ۱۰۰ هزار موردمرگ و میر سالیانه در جهان، دومین عامل مرگ و میر انسان در اثر تک یاخته ها بعد از مالاریا وسومین عامل مرگ و میر در اثر بیماریهای انگلی پس از مالاریا و شیستوزوما محسوب می گردد(۲ و ۳). در بعضی از کشورها نظیر مکزیک آمیبیازیس یکی از ده علت اولیه مرگ و میر انسانهامی باشد (۴). آلودگی به این انگل در ایران نیز از همه مناطق گزارش شده است. میزان آلودگی به کیست این انگل از ۲/۲درصد در مناطق مرکزی تا بیش از ۳۰درصد در بعضی مناطق جنوب کشورگزارش شده و هر ساله موارد زیادی از آمیبیاز مهاجم در کشور مشاهده می گردد (۵). تشخیص صحیح و به موقع آمیبیاز و افتراق آن از سایر بیماریها از مهمترین و مشکل ترین وظایف پرسنل آزمایشگاههای تشخیص طبی و پزشکان می باشد. تشخیص آمیبیاز متکی بر یافته های آزمایشگاهی و علائم بالینی می باشد.

۱). Ph.D. استاد انگل شناسی .دانشکده بهداشت .دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲). Ph.D. دکتری انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

اساس تشخیص آزمایشگاهی بر دو ابزار مشخصات مرفولوژیکی انگل و داده‌های سرولوژیکی بنا نهاده شده ا ست. روش‌های سرولوژیک وایمنودیاگنوزیس درتشخیص آمیبیاز روده‌ای کمتر مورد استفاده قرار گرفته و کاربرد وسیع تری در تشخیص آمیبیاز خارج روده‌ای دارد. در این مقاله تشخیص آزمایشگاهی آمیبیاز روده‌ای وخارج روده‌ای بررسی و مشکلات آن مورد بحث قرار گرفته است.

۱- تشخیص آمیبیاز روده‌ای :

الف:روشهای پارازیتولوژیک

اکثر موارد آمیبیاز روده‌ای بصورت عفونت‌های غیرمهاجم یا حاملین بدون علائم ظاهرمی شود که این دسته افراد فقط کیست انگل را دفع می کنند. در حال حاضر هیچ روش سریع و ساده‌ای برای شناسایی کیست‌های گونه پاتوژن (انتامبا‌هیستولیتیکا) از گونه غیرپاتوژن (انتامبادیسپار) در دسترس نمی‌باشد و این دوگونه از نظر مرفولوژیک کاملا یکسان هستند، لذاآلودگی به این تک‌یاخته تحت عنوان E. histolytica / E. dispar ذکر می گردد (۶). آزمایش نمونه مدفوع تازه ، متدی است که برای تشخیص آلودگی به کیست این تک‌یاخته بکار می رود.نمونه مدفوع تازه با تکنیک‌های متفاوتی مورد بررسی قرار می گیرد. مقایسه چندین تکنیک متفاوت نشان داده است که روش تغلیظ فرمالین-اتر ۴۰تا ۵۰درصد بیشتر از تکنیک آزمایش مستقیم مدفوع با سرم فیزیولوژی یا محلول لوگل منجر به کشف موارد مثبت می‌شود. بررسی دیگری نشان داده است که اگر روش‌های تغلیظ فرمالین-اتر یا روش تغلیظ MIF بارنگ آمیزی دائمی تری کروم همراه گردد حساسیت بیشتری خواهد داشت. ترکیب این دو روش (تغلیظ و رنگ آمیزی موارد مشکوک)می‌تواند ۸۴تا ۹۲درصد موارد مثبت را نشان دهد (۴).

بعلت متناوب بودن دفع کیست‌ها، آزمایش بیش از سه نوبت مدفوع فرد مبتلا درروزهای مجزا برای جداسازی بیش از ۸۰تا ۹۰ درصد موارد آلوده لازم است و فقط یکبار آزمایش مدفوع با نتیجه منفی نمی تواند بیانگر عدم ابتلاء شخص باشد (۲).یکبار آزمایش مدفوع باروش‌های تغلیظ فقط ۴۰ تا ۵۰ درصد افراد آلوده را مشخص می کندو بالطبع اگر روش آزمایش مستقیم مدفوع بکار رود موارد شناسایی شده به مراتب کمتر خواهد بود. آزمایش سه نوبت درروزهای مجزا باروشهای تغلیظ باعث شناسایی ۶۰تا ۸۰درصد افراد آلوده خواهد شد. امابرای شناسایی بیش از ۹۰درصد افراد آلوده به بیش از ۵بار آزمایش در روزهای مجزا نیاز خواهد بود(۱۴). در بیماران مبتلا به کولیت حاد معمولا تعداد زیادی ارگانیسم دفع می‌شود لذا تشخیص معمولاً می تواند با بررسی تعدادنمونه کمتری صورت گیرد (۴).

لازم به ذکر است که مهارت فرد میکروسکپیست یکی از مهمترین عوامل در شناسایی کیست‌های انتامباهیستولیتیکاوافتراق آن از سایر تک‌یاخته‌های روده‌ای و آرتیفکت‌ها می‌باشد.مطالعات نشان داده حتی در کشورهایی نظیر ایالات متحده،بیش از $\frac{1}{3}$ افراد آزمایشگاهی قادربه شناسایی صحیح انتامباهیستولیتیکا نیستند (۹).

اگر چه گاهی برای مشاهده آرایشات جدار هسته، موقعیت هستک و ساختارهای سیتوپلاسمیک استفاده از رنگ آمیزی دائمی‌تری کروم و یا هماتوکسیلین -آهن ضروری است اما یک میکروسکپیست ماهر معمولا با بزرگنمایی ۴۰۰ قادر به مشاهده این آرایشات وساختمانهای درونی مورد نیاز می باشد. وجود کروماتوئیدال بار از مهمترین اندکس‌های تشخیص کیست‌های انتامباهیستولیتیکا می‌باشد که در تعدادی از نمونه‌ها بسیار واضح است. وجودکاریوزوم ظریف و مرکزی در هسته و آرایشات منظم غشاء هسته نیز از دیگر اندکس‌های تشخیص انتامباهیستولیتیکا و افتراق آن از سایر آمیب‌های دستگاه گوارش انسان می‌باشد.کیستهای انتامباکلی با چهار هسته و کمتر و تک‌یاخته‌های انتامباهارتمانی ، دی انتامبافراژیلیس ،اندولیماکس نانا و بلاستوسیستیس مهمترین ارگانیسم‌هایی هستند که با کیست‌های انتامباهیستولیتیکا اشتباه می‌شوند و منجر به تشخیص مثبت کاذب می گردند (۹).کیست‌های تک هسته‌ای انتامباهیستولیتیکا گاه به اشتباه بعنوان یدامبابوچلی گزارش می گردند.

نکته دیگر اینکه برای آسانتر شدن تشخیص و جلوگیری از دژنره شدن انگل وبهم خوردن آرایشات درونی آن بهتر است بیمار روز قبل از آزمایش از خوردن آنتی بیوتیک‌هایی نظیر تتراسیکلین و سولفانامیدها و نیز داروهای ضدتک‌یاخته‌ها و همچنین موادی مثل بیسموت،سولفات باریوم، ترکیبات کائولین، روغن کرچک و هیدروکسید منیزیم خودداری کند.

اغلب موارد تهاجم آمیب هیستولیتیکا به بافت‌های روده میزبان

بصورت دیسانتری ظاهر می شود. در تشخیص آزمایشگاهی، دیسانتری آمیبی اغلب با دیسانتری باسیلر اشتباه می شود که منجر به گزارش های مثبت کاذب یا منفی کاذب می گردد. تشخیص دیسانتری آمیبی درآزمایشگاههای تشخیص طبی مبتنی بر جستجو و یافتن آمیب در گسترش مرطوب تهیه شده ازنمونه مدفوع فرد مبتلا می باشد. در این روش مهمترین فاکتور در شناسایی صحیح و دقیق آمیب، مهارت و تجربه فرد آزمایش کننده می باشد. حتی در کشورهایی که آمیبیاز و دیگرآلودگی های انگلی شایعتر از سایر مناطق است موارد تشخیص غلط به وفور مشاهده می گردد.برای مثال در یک بررسی که توسط مرکز کنترل بیماریها(CDC) در السالوادر صورت گرفته از ۲۶۸ مورد دیسانتری آمیبی گزارش شده توسط آزمایشگاهها تنها ۲۵٪ آنها در بررسی مجددمورد تأیید قرار گرفته است (۱۰).

استفاده به موقع از تکنیک مناسب جایگاه ویژه‌ای در تشخیص دیسانتری آمیبی دارد. دراین حالت چون بطور معمول فقط ترفوزئیت دفع می شود و کیست های آمیب مشاهده نمی شود،لذا بکارگیری روش های تغلیظ مدفوع نظیر روش رسوبی فرمالین اتر نه تنها سودبخش نمی باشد بلکه می تواند ترفوزوئیت ها را دژنره کرده واز بین ببرد. آزمایش مستقیم مدفوع باسرم فیزیولوژیک روش بسیار مناسبی برای دیدن ترفوزوئیت‌ها و حرکت آنها در مواردیسانتری می باشد. در این حالت توجه به وضعیت حرکت آمیب و نوع پاهای کاذب و وضعیت سیتوپلاسم راهنمای مفیدی در تشخیص انتامباهیستولیتیکا و افتراق آن از سایر آمیب های دستگاه گوارش می باشد.

توصیه می گردد برای افزایش کارایی تشخیص، بیش از یک گسترش مرطوب تهیه گرددو لامها با دقت، صرف وقت و حوصله تمام بصورت کامل بررسی گردد.

یکی از عوامل مهم در تشخیص صحیح ترفوزوئیت های هماتوفاژ انتامباهیستولیتیکا،افتراق آنها از سلولهایی مانند لکوسیت‌ها و خصوصاً ماکروفاژها می باشد. ماکروفاژها چون قادر به بلع گلبولهای قرمز هستند و اندازه نسبتا بزرگی دارند بطور شایعی به غلط ترفوزوئیت هماتوفاژقلمداد می گردند. در این مورد دقت در سیتوپلاسم، هسته و نیز حرکت می تواند از موارد اشتباه بکاهد. لکوسیت‌هانیز گاهی به اشتباه آمیب فرض می شوند. قابل ذکر است که لکوسیت‌ها تقریباهیچ حرکتی ندارند و سیتوپلاسم و حتی اندازه آنها بطور مشخصی با آمیب متفاوت است. ترفوزوئیت های انتامباکلی نیز مکرراً با انتامباهیستولیتیکا اشتباه می شوند. حرکت ترفوزوئیت‌های انتامباکلی حرکتی کندوبطئی است و پاهای کاذب آن پهن و لوبی شکل هستنداما پاهای کاذب انتامباهیستولیتیکا انگشتی شکل و حرکت معمولا پیشرونده می باشد(۹).بنظر می رسد پاهای کاذب در آنتامباکلی بیشتر به منظور جذب مواد غذایی تشکیل می شود تا حرکت(۱۱).سیتوپلاسم انتامباکلی نیز متراکم تر و حاوی مقادیر بیشتری باکتریها و سایر مواد بعلیده شده می باشد. موقعیت هستک و آرایشات غشاء هسته نیز اندکس مهمی برای افتراق این دوآمیب از همدیگر می باشد.

سلولهای پلی مرفونکلئور خصوصاً در حال دژنره شدن که هسته آنها بصورت وزیکولر وگرانوله دیده می شود بسیار شبیه کیست انتامباهیستولیتیکا می شود. اما باید دانست که در حالت دیسانتری آمیبی فقط ترفوزئیت دفع می گردد و غالباً کیست مشاهده نمی شود (۹).

بررسی سریع نمونه بلافاصله پس از دفع می تواند در تشخیص صحیح جایگاه ویژه‌ای داشته باشد. زیرا در اثر ماندن نمونه ترفوزئیت‌ها سریعاً بی حرکت یا اتولیز می گردند. باید تلاش گردد تا اولاً در صورت امکان نمونه گیری از بیمار در محیط آزمایشگاه صورت گیرد و یاسریعاً نمونه به آزمایشگاه منتقل گردد و ثانیاً نمونه ها در حداقل زمان ممکن پس از دفع موردآزمایش قرار گیرند تا حرکت آمبوئید ویژه ترفوزوئیت های انتامباهیستولیتیکا مشاهده گردد.اگر تأخیر اجتناب ناپذیر باشد نمونه ها بایستی سرد نگه داشته شود. گزارش شده که حتی پس از ۴ ساعت نگهداری نمونه در یخچال ۴ درجه، ترفوزوئیت‌ها دوباره پس از گرم کردن فعال خواهند شد (۴).

وضعیت نمونه فرد مبتلا به دیسانتری نیز در تشخیص آمیبیاز می تواند تا حدودی راهنماباشد. برای مثال در ۲۵٪ موارد دیسانتری آمیبی کریستال های شارکوت لیدن قابل مشاهده است. در حالیکه در دیسانتری باسیلر این کریستالها دیده نمی شوند. گلبولهای قرمز دردیسانتری آمیبی فراوان و بصورت آگلوتینه هستند و تعداد کمتری از نوتروفیل ها، لکوسیت ها وماکروفاژ دیده می شود. همچنین pH نمونه مدفوع در دیسانتری آمیبی اسیدی و در

دیسانتری باسیلر قلیایی است (۲).

استفاده از محیط کشت سرم منعقده اصلاح شده(Hsr+S) برای تشیخص دیسانتری آمیبی از اعتبار قابل توجهی برخوردار است. حقیقی و رضائیان حساسیت و ویژگی این روش رابرای شناسایی انتامباهیستولیتیکا به ترتیب ۸۵٪و ۱۰۰٪گزارش کرده‌اند (۱۱). با توجه به‌ارزان بودن و ساده بودن ساخت این محیط کشت و همچنین حساسیت و ویژگی بالای آن می‌تواند همراه با روش آزمایش مستقیم مدفوع بعنوان یک استراتژی مناسب در تشخیص آزمایشگاهی دیسانتری آمیبی مدنظر و مورد استفاده قرار گیرد. رنگ آمیزی تری کروم وهماتوکسیلین ـ آهن نیز خصوصاً در موارد مشکوک می‌تواند در تشخیص قطعی کاربرد داشته باشد. این روش برای دیدن جزئیات آرایشات غشاء هسته و کاریوزوم بسیار مناسب است.

سیگموئیدسکوپی و بیوپسی نیز برای تشخیص دیسانتری آمیبی بسیار مفید و دقیق است. با این وجود این روش‌ها را نمی‌توان در مطالعات اپیدمیولوژی و در آزمایشگاهها بطور روتین استفاده کرد. آزمایش با این روش تشخیص ۸۵٪موارد را میسر می‌سازد. مهمترین قسمت سیگموئیدسکوپی آزمایش محتویات تازه گرفته شده مدفوع، مخاط و ترشحات زخم‌ها برای مشاهده حرکت ترفوزوئیت، کشت و یا رنگ آمیزی آن می‌باشد. شکل زخم‌ها و حالت قمقمه مانند آنها نیز می‌تواند راهنمایی در تشخیص باشد. در دیسانتری آمیبی در نقاط سالم بافت بین مخاط ملتهب و چرکی مشاهده می‌شود ولی در دیسانتری باسیلر، مخاط بصورت کامل عفونی و ملتهب است. با این وجود این روش احتیاج به بستری کردن بیماران دارد (۲ و ۴).

روش هایی همچون روش(V.A.T(Vafai Amoebiasis Test نیز در تشخیص کولیت‌های مزمن آمیبی ابداع شده‌است. این روش بر اساس استفاده از شیاف‌های زیاد کننده حرکات دودی روده نظیر شیاف بیزاکودیل(Bisacodyl) و تحریک دفع مخاط و سپس آزمایش مخاط و موکوس دفع شده یا کشت آنهامیباشد (۱۲). اما بررسی بهروز و رضائیان نشان داد این روش ارزشی برابر و یکسان با روش تغلیظ دارد (۱۳).

ب: روشهای ایمنودیاگنوزیس:

تهاجم آمیب هیستولیتیکا به بافت باعث تحریک پاسخ ایمنی هومورال می‌گردد و میزان آنتی بادی تشکیل شده علیه آمیب قابل اندازه‌گیری می‌باشد. اصولا کلنیزه شدن گونه‌های پاتوژن در روده به علت تماس مستقیم بیشتر با بافت و یا تهاجم به مخاط ایجاد پاسخ می‌کند ولی کلنیزه شدن گونه‌های غیرپاتوژن بندرت سبب تحریک و راه انداختن پاسخ می‌گردد. امروزه چندین روش آزمایش ایمنودیاگنوزیس برای نشان دادن آنتی بادی علیه انتامباهیستولیتیکا وجوددارد. این روشها معمولا هنگامی مفید هستند و بکار گرفته می‌شوند که:

الف: عامل اتیولوژیک را به آسانی نتوان نشان داد(نظیر کولیت مزمن آمیبی و آبسه آمیبی)

ب: هنگامی که تست‌های روتین تشخیصی قادر به شناسایی ارگانیسم نباشد..(مثلادربیمارانی که داروی ضد آمیب خورده‌اند).

ج: بعنوان یک ابزار اپیدمیولوژیک در تعیین پروالانس بیماری در جمعیت‌ها

عمده‌ترین نوع تست‌های ایمنولوژیک برای تشخیص آمیبیازیس بر اساس جداسازی ونشان دادن آنتی بادی اختصاصی در سرم می‌باشد. تست‌های اصلی بکار گرفته شده در نقاط مختلف جهان شامل:

Bnentonite Flocculation ,(BF),
Counterimmunoelectrophoresis (CIE),
Indirect immunofluorescence assay (IFA) ,
Indirect hemagglutination(IHA) Immunodiffusion (ID) ,
Enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa),
Latex agglutination (LA),
Cellulose acetate membrane percipitation (CAP)

می باشند(۱۴). مواد مداخله کننده در آزمایش مدفوع نظیر آرتیفکت‌ها و نیز داروهای دژنره کننده تک یاخته‌ها سبب شده است که امروزه روش‌های سرولوژیک بعنوان یک ابزار تشخیصی مورداستقبال قرار گیرد. عمده‌ترین مواد مداخله‌کننده در آزمایش مدفوع برای جستجوی آمیبهاعبارتند از ترکیبات داروهای ضد اسهال نظیر بیسموت، سولفانامیدها، آنتی بیوتیک‌ها و نیزداروهایی مانند آنتی اسیدها، ترکیبات سولفات باریوم، ملین‌های روغنی، محلولهای تنقیه و غیره. از طرفی میلیونها نفر در سرتاسر جهان به آسانی اقدام به خوددرمانی می‌کنند و بسیاری از این مواد مورد استفاده در خود درمانی می‌توانند اثرات ضد آمیب داشته باشند (۱۵).

روش‌های سرولوژیک برای شناسایی آنتی بادی ضد آمیب در مراحل اولیه آمیبیاز حادممکن است منفی شوند. ولی طی یک هفته

پس از ظهور علائم مثبت می شوند، لذا در یک نمونه مشکوک با نتیجه اولیه منفی بهتر است آزمایش چند روز بعد تکرار شود (۱۶). حساسیت تستهای سرولوژیک در بیماری مهاجم روده‌ای بین ۸۵ تا ۹۵٪ گزارش شده است. حساسیت وویژگی این تست‌ها در کسانی که حاملین سالم هستند و فقط کیست دفع می کنند بطور متغیری وابسته به کشورو جمعیت مورد مطالعه باشد، در مناطقی که آمیبیاز اندمیک است و درصدبالایی از افراد سرم مثبت هستند اغلب این تست‌ها برای آمیبیازیس ویژگی بالایی نشان می دهند و حتی وجود آنتی بادی باواکنش متقاطع در سایر بیماریهای التهابی شکم ایجاد مشکل نمی کند. چون معمولاً عیار آنتی بادی اختصاصی علیه آمیب بالا است (۱۵).

در تشخیص کولیت‌های مزمن آمیبی چون معمولاً ارگانیسم دفع نمی شود استفاده ازتست هماگلوتاسیون غیرمستقیم IHA حساسیت بسیار بالایی دارد و در ۹۸٪ موارد مثبت می گردد. اما این تست می تواند سالها پس از بیماری مثبت باقی بماند که ارزش اخباری آن راپائین می آورد، لذا در تفسیر عیار آنتی بادی حتماً باید وجود علائم کلینیکی نیز مد نظر قرارگیرد. این تست در بررسی های شیوع و سرواپیدمیولوژی یکی از بهترین تست ها می باشد. تست الیزا نیز ارزش و مشکلاتی نظیر تست IHA دارد.

آزمایش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم IFA در مناطقی که آلودگی مجدد کمتر اتفاق می افتد تست مفیدی می باشد. معمولا در دیسانتری آمیبی با این تست عیار آنتی بادی از $\frac{1}{320}$ بالاتر رفته که در این صورت مثبت تلقی می گردد. در کولیت آمیبی با تست IFA عیار $\frac{1}{160}$ به بالا مثبت تلقی می شود (۲). تست ایمنوفلورسانس غیرمستقیم نسبت به تست IHA ازحساسیت کمتری برخوردار است ولی تهیه آنتی ژن آن ساده بوده و از طرفی در بیش از نصف بیماران در طی یکسال پس از بهبودی این تست منفی می گردد (۴).

از بررسی کوپروآنتی بادیها در مدفوع نیز برای تشخیص کولیت آمیبی استفاده شده است. در این روش مدفوع بیمار با سرم فیزیولوژی رقیق شده و پس از صاف کردن و غیرفعال کردن فاکتورهای ممانعت کننده می توان با روش هایی مانند IFA و یا IHA و الیزا وجود آنتی بادی اختصاصی را در آن بررسی کرد (۱۷).

امروزه با روش های پیشرفته تر و با استفاده از آنتی بادیهای منوکلنال قادر به تشخیص آنتی ژنهای آمیبی در مدفوع و در سرم بیمار می باشیم. بعنوان مثال Haque و همکارانش موفق شده‌اند مستقیماً آنتی ژن اختصاصی انتامباهیستولیتیکا بنام adhesin Galactose را در نمونه مدفوع با کمک آنتی بادی منوکلنال و روش الیزا تشخیص دهند. با این روش حتی می توان گونه پاتوژن را از گونه غیرپاتوژن انتامباهیستولیتیکا مجزا کرد (۱۸). از آنجایی که این آنتی ژن‌ها حتی قبل از ظهور آنتی بادی در سرم قابل شناسایی هستند. لذا استفاده از این روش ها در مناطق اندمیک برای تشخیص سریع و زودهنگام مفید می باشند (۱۶). تعدادی از کیت‌های تجارتی همانند کیت Techlab امروزه برای شناسایی این آنتی ژنها در دسترس می باشند (۱۸و۱).

۲: تشخیص آمیبیاز خارج روده ای:

در تشخیص آمیبیاز خارج روده‌ای توصیه می شود از ترکیب چند روش برای تشخیص قطعی استفاده شود. وجود علائم کلینیکی و توجه به آن همراه با نتایج آزمایشات می تواند راهنمای مفیدی در تشخیص نهایی باشد. استفاده از نتایج تست های روتین هماتولوژی وبیوشیمیایی در آمیبیاز خارج روده‌ای چندان مفید نمی باشد. حدود $\frac{3}{4}$ بیماران مبتلا به آبسه آمیبی کبد دچار لکوسیتوز (بیش از ۱۰۰۰۰ سلول در هر میلی متر مکعب) بوده ولی ائوزینوفیلی مشاهده نمی شود. حتی در صورت وجود آبسه های بزرگ کبدی، آنزیم های کبد در حد طبیعی بوده و یا به میزان کمی افزایش نشان می دهند (۱۹). سطح آلکالن فسفاتاز در اکثر موارد افزایش می یابد و ممکن است برای ماهها بالا باقی بماند. اسکن کبد، اولتراسونوگرافی، توموگرافی کامپیوتری و عکس برداری با استفاده از رزونانس مغناطیسی (MRI) در تشخیص آبسه های آمیبی بسیار مفیدند.

گاهی در آزمایش مدفوع مبتلایان به آمیبیاز خارج روده‌ای می توان کیست و یاترفوزوئیت های انتامباهیستولیتیکا را یافت ولی عمومیت ندارد و نمی توان بعنوان یک معیار درنظر گرفت.

در مورد آبسه های کبدی بزرگ می توان آبسه ها را پونکسیون کرد و مایع آسپیره شده رامورد آزمایش قرار داد و یا آنرا کشت داد. مایع آبسه معمولاً شکلاتی رنگ و از نظر باکتری استریل می باشد. آمیب ها معمولا به دیواره آبسه چسبیده و لذا احتمال عدم مشاهده

آمیب درمایع آسپیره شده یا کشت آن بسیار زیاد است (۲). لازم به ذکر است که روش پونکسیون آبسه هایک روش تهاجمی بوده و علاوه بر خطر عفونت ثانویه، امکان پاره شدن آبسه وایجادپریتونیت یا آمیبیاز پوستی وجود دارد. لذا این روش امروزه توصیه نمی شود و کمتر بکار گرفته می شود.

گاهی آبسه ها در ریه هستند که در این صورت اغلب در اثر سرفه و یا ضربه آبسه پاره شده و آمیب همراه خلط دفع می شود ودر بررسی میکروسکوپی آن می توان آمیب هماتوفاژ رامشاهده کرد. در آزمایش خلط احتمال دارد انتامباژنژیوالیس که بصورت غیربیماریزا در کناردندانهای پوسیده و لثه های پیوره زندگی می کند اشتباهاً بعنوان فرم هماتوفاژ انتامباهیستولیتیکاگزارش گردد (۲ و ۲۰). در این موارد بایستی به آرایشات جدار هسته، موقعیت و اندازه کاریوزوم به دقت توجه شود.

در حال حاضر در تشخیص آمیبیاز خارج روده‌ای استفاده از روشهای سرولوژیک بسیارمفید و کاربردی هستند و حداقل در ۸۵تا ۹۰٪ موارد می توان با یکی از روش های سرولوژیکی آنتی بادی اختصاصی را در خون اندازه گیری کرد (۴). در بین این روش ها تست الیزا، IHA، ID وتست IFA از سایر تست ها ارزش کاربردی بیشتری دارند. در تست IFA عیارهای $\frac{1}{640}$ به بالادارای ارزش تشخیصی می باشند. عده‌ای از بیماران ممکن است عیار $\frac{1}{320}$ نشان دهند. لذا این عیار نیز نباید قطعاً منفی در نظر گرفته شود بلکه بهتر است پیگیری گردد. در تست های IHA والیزا چون حساسیت زیادی دارند و آنتی بادیهای گذشته را نیز نشان می دهند بایستی عیارهای بالاتر مثبت تلقی گردد. رضائیان و حمزوی (۲۱) تیترهای بالاتر از $\frac{1}{2560}$ را برای تست IHA در تشخیص آبسه آمیبی کبد مثبت و دارای ارزش تشخیصی اعلام کرده‌اند. این محققین حساسیت و ویژگی این تست را برای تشخیص آبسه های آمیبی کبد به ترتیب ۸۸/۸٪ و ۹۷/۲٪ بیان کرده‌اند. یکی از مزایای مهم این تستها عدم نیاز به تجهیزاتی همچون میکروسکوپ فلورسانس می باشد و بعلت دارا بودن حساسیت و ویژگی بالا، تستی مناسب برای مطالعات سرواپیدمیولوژی می باشند. اما تست IFA بعلت سهولت تهیه آنتی ژن، حساسیت و ویژگی بالا وسقوط نسبتا سریع آنتی بادی پس از بهبودی، برای تشخیص سرولوژیکی آمیبیاز خارج روده‌ای مناسب تر است (۲۲). در پایان قابل ذکر است، که بین میزان تیتر آنتی بادی و شدت بیماری رابطه‌ای وجود ندارد و حتی وجود آنتی بادی در تیترهای بالا، بدون وجود علائم بالینی ونشانه های کلینیکی آمیبیاز خارج روده‌ای ،هیچ ارزش تشخیصی نخواهد داشت (۲۱).

References:

1- Petri W.Jr. Haque R. Lyeriy D., et al. Estimating the impact of amoebiasis on health. *Parasitology today 2000: 16(8): 320-21.*

۲-رضائیان، م، آمیبیاز، نشریه شماره ۲۰۹۷، انتشارات دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۶۶.

3-Markell E.K., John D.T., Krotoski W.A., *Medical Parasitoloy (8 Th ed). W.B. Saunders company. Philadelphia 1999 pp: 22-42.*

4- Walsh J.A., Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: Estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. *Rev. Infect. Dis. 1986: 8(2): 228-238.*

۵- رضائیان، م: آمیبیاز: در عزیزی ف، اپیدمیولوژی بیماریهای شایع در ایران، چاپ اول، مرکز تحقیقات غدد درون ریز، تهران، ۱۳۷۲، صفحات ۱۵۵-۱۷۲.

6- World Health organization. Entamoeba taxonomy. *Bull. WHO 1997:75(3)291-292.*

7- Mathur T.N., Kaur J., The frequency of exretion of cyst of Entamoeba hisoltica in known cases of non-dysentric amoebic colitis based on 21 stool examinaions. *Indian. J.*

Med.Res. 1973:61:330-33.

8- Ruebush T.K, Juranek D.D, Brodsky R.E. Diagnosis of intestinal parasites by state and territorial public health laboratories.

۹- هوشیار، ح و رضائیان، م. بررسی تشخیص آزمایشگاهی دیسانتری آمیبی در آزمایشگاههای دولتی و خصوصی تهران و کرج. مجله نظام پزشکی ۱۳۷۹ دوره ۱۸ شماره ۳ صفحات ۱۹۸-۲۰۲.

10- Spencer H.C., Sullivan J.J., Mathews H.M., et al. Serologic and parasitologic studies of Entamoba histolytica in Elsalvador. *Am.J. Trop. Med. Hyg. 1981:30(1):63-68.*

۱۱- حقیقی، ع : رضائیان م. کشت ونگهداری انتامباهیستولیتیکا در محیط کشت سرم اسب، رینگر و نشاسته برنج (HSr+S) ، مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۸، دوره ۵ شماره ۲، صفحات ۶۰-۶۴.

12- Mostwfi I.L.,A Proposed technique for the diagnosis of non-dysenteric amoebic colitis. *Acta Medica Iranica 1993: 31(3)37-42.*

۱۳- بهروز، ن. بررسی روش V.A.T و آزمایش مدفوع در مقایسه با کشت موکوس روده در بیماران مشکوک به آمیبیاز مزمن روده‌ای پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۴-۷۵.

14- Healy R.G., Immunologic tools in the diagnosis of amebiasis: Epidemiology in the United States. *Rev. infect. Dis. 1986: 8(2) 239-249.*

15- Healy R.G., Kraft Sc., The indirect hemagglutination test for amebiasis in patients with inflammatory bowel disease. *Am. J. Digest. Dis 1972: 17:97-104.16.*

۱۶- حقیقی، ع. کشت آگزنیک انتامباهیستولیتیکا و تهیه آنتی ژن پیکره ای و محلول برای روش های IFA والیزا در تشخیص سرولوژی آمیبیازیس، پایان نامه دکتری انگل شناسی ـ دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۷-۷۸.

۱۷- باقری، ف. بررسی کوپروآنتی بادیهای آمیبیاز روده‌ای و کاربرد آن در تشخیص آزمایشگاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۶۸-۶۹.

18-Haque R, Neville L.M., Wood S., et al. Detection of Entamoba histolytica and Entamoeba Am.J. Trop.Med. Hyg 1994: 50(5): 595-96.

۱۹- هاریسون، ا. اصول طب داخلی، بیماریهای ناشی از تک یاخته‌ها و کرمها، ترجمه دکتر علی سرشاد، انتشارات شمال تهران، ۱۳۷۴. صفحات ۷۹-۸۵.

20- Radvin J.I, (ed) Amebiasis: Human infection by Entamoeba histolytica. Wiely Medical Publication NewYork 1988 pp: 141-142.

21- Rezaeian, M. Hamzavi, Y. Evaluation of IFA, IHA and BLA test in the serological diagnosis of amebic liver absess.

۲۲- حمزوی، ی. ارزشیابی سه روش سرولوژیکی IHA, IFA و LA در تشخیص آمیبیازیس، پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۰-۱۳۷۱.