

## کنترل کیفیت در انگل‌شناسی

نویسنده: محمدرضا یزدانی کارشناسی ارشد ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

علت اصلی درخواست انجام آزمایش خون در مدفوع توسط پزشکان، غربالگری (Screening) زخم‌های دستگاه معده- روده‌ای است. در بررسی‌های انجام‌شده در آمریکا ۶-۲٪ افراد، دارای آزمایش OB مثبت بوده‌اند که از این تعداد در ۱۰-۵٪ موارد، بیماری کارسینوما و در ۴۰-۲۰٪ موارد، بیماری آدنوما تشخیص داده شده است. کانسر کولورکتال شایع‌ترین کانسر در آمریکا بوده و بیشترین علت مرگ‌ومیر را تشکیل می‌دهد، بنابراین تشخیص کانسر کولورکتال در مراحل اولیه با انجام تست‌های غربالگری سبب کاهش میزان مرگ‌ومیر می‌گردد. برای اطمینان از درستی آزمایش‌های انگل‌شناسی باید مراحل جمع‌آوری نمونه، آماده‌سازی، نگهداری معرف‌ها و ارائه گزارش نهایی تحت کنترل بوده و آزمایش به روش استاندارد انجام شود.

### الف) نمونه‌برداری:

- نمونه‌برداری باید به نحوی انجام پذیرد که امکان تشخیص و جداسازی هر انگلی وجود داشته باشد.
- نمونه‌ها باید در یک ظرف دهان گشاد تمیز پلاستیکی یا مومی جمع‌آوری گردد. درپیچ ظرف باید کاملاً محکم باشد تا رطوبت نمونه حفظ گردد.
- نمونه‌ها نباید با آب یا ادرار مخلوط شود زیرا سبب بی‌حرکت شدن تروفوزوئیت تک‌یاخته و یا موجب از بین رفتن آن می‌گردد.
- آلودگی اتفاقی نمونه با خاک و یا آب ممکن است باعث شود که نمونه به ارگانسیم‌های دارای زندگی آزاد که موجود در آب و یا خاک می‌باشند، آلوده شوند.
- جمع‌آوری نمونه از توالت فرنگی و غیره نیز مناسب نیست.

### ب) تداخل مواد:

عدم مصرف مواد غذایی از قبیل گوشت قرمز و ماهی، سبزیجات، داروها به‌خصوص ویتامین C، ترکیبات آهن‌دار و داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی به مدت ۳ روز قبل از آزمایش ضروری است. بعضی از مواد مانند روغن‌های معدنی، باریوم (بلوره‌ها مانع مشاهده انگل به‌خصوص تک‌یاخته‌ها می‌گردند)، بیسموت، آنتی‌بیوتیک‌ها (تتراسیکلین)، داروهای ضد مالاریا و مواد غیرقابل جذب ترکیبات ضداسهالی در جداسازی انگل‌های روده‌ای تداخل می‌کنند. بعد از مصرف مواد فوق به‌وسیله بیمار ممکن است برای مدت یک تا چند هفته نتوان انگل را تشخیص داد.

### ج) ثبت مشخصات نمونه:

هر نمونه باید دارای مشخصات نام بیمار، نام پزشک، شماره آزمایشگاه، تاریخ و زمان جمع‌آوری نمونه باشد. برگه درخواست پزشک باید ضمیمه شده و در آن اطلاعات اضافی مانند تشخیص احتمالی بیماری با توجه به علائم آن و یا تاریخچه مسافرت به منطقه خاص و اطلاعات مورد لزوم دیگر درج گردیده باشد.

#### (د) تعداد نمونه

حداقل سه نمونه، به صورت هرروز یا یک روز در میان باید جمع‌آوری گردد. (به دلیل اینکه معمولاً بعضی از تک‌یاخته‌ها و تخم کرم‌ها به صورت تناوبی دفع می‌گردند).

در مواردی که بیمار اسهال و درد شکم نداشته باشد می‌توان دو نمونه را به‌طور معمول و یک نمونه را بعد از استفاده از یک مسهل مانند سولفات منیزیم و غیره جمع‌آوری نمود. از مسهل‌های روغنی نباید استفاده کرد زیرا روغن باعث کندی حرکت تروفوزوئیت شده و به علت تغییر شکل انگل، تشخیص را مشکل می‌سازد.

در صورت مثبت بودن آزمایش انگل در نوبت اول، حتماً دو نوبت دیگر نیز باید مورد بررسی قرار گیرد، چون ممکن است بیمار به دو یا چند انگل مختلف آلوده باشد.

#### (ه) زمان جمع‌آوری:

اگر نمونه‌های مدفوع به صورت یک روز در میان جمع‌آوری گردد، ۳ نمونه را باید حداکثر در فاصله زمانی ۱۰ روز جمع‌آوری کرد. اگر منظور جمع‌آوری ۶ نمونه (تشخیص آمیبیاز) باشد، باید آن‌ها را حداکثر در فاصله زمانی ۱۴ روز جمع‌آوری کرد.

#### (و) زمان صحیح آزمایش نمونه بعد از جمع‌آوری:

بستگی به روش جمع‌آوری نمونه در آزمایشگاه دارد، چون بعضی از آزمایشگاه‌ها از مواد نگهدارنده استفاده می‌کنند. زمان صحیح به شرح زیر است:

**Liquid (Watery):** باید در فاصله زمانی ۳۰ دقیقه بعد از جمع‌آوری نمونه آزمایش شود.

**Soft:** باید در فاصله زمانی ۳۰ دقیقه بعد از جمع‌آوری نمونه آزمایش شود.

**Semi formed:** باید در فاصله زمانی ۶۰ دقیقه بعد از جمع‌آوری نمونه آزمایش شود.

**Formed:** همان روز یا روز بعد می‌تواند آزمایش شود.

می‌توان نمونه را در یخچال ۳-۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمود که در این حالت، تخم‌ها، لاروها و کیست‌های تک‌یاخته‌ها تا چند روز بدون تغییر شکل حفظ می‌شود، اما باید مراقب بود که نمونه‌ها یخ نزنند، چون در اثر نگهداری در دمای زیر صفر، خصوصیات ظاهری انگل تغییر می‌کند. نمونه نگهداری شده در یخچال برای انجام آزمایش مستقیم به‌هیچ‌وجه مناسب نیست چون تروفوزوئیت

تک‌یاخته از بین می‌رود. همچنین نمونه‌ها را به‌هیچ‌وجه نباید در انکوباتور قرار داد، به علت اینکه دمای آن باعث تخریب انگل می‌گردد.

ذکر این نکته لازم است که تست OB را می‌توان تا ۶ روز پس از جمع‌آوری نمونه‌های مدفوع انجام داد به شرط آن‌که در این مدت نمونه‌ها در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شوند.

### قوام نمونه

قوام نمونه ممکن است از آبکی تا کاملاً شکل‌دار و حتی سخت (**hard**) متغیر باشد که می‌توان در موقع نمونه‌گیری آن‌ها را بررسی نمود و در ابتدا نمونه‌های آبکی و شل را آزمایش نمود. طبق نظریه سازمان جهانی بهداشت، بیشتر تقسیمات زیر مدنظر بوده و باید ثبت و گزارش گردد.

### Watery, Loose, Soft. Formed

تروفوزوئیت آمیب‌ها و تاژک‌داران بیشتر در نمونه‌های آبکی یا شل دیده می‌شود و سریعاً در درجه حرارت اتاق از بین می‌روند. همچنین ممکن است در نمونه نرم (**soft**) نیز تروفوزوئیت تک‌یاخته‌ها مشاهده گردد. معمولاً خصوصیات ظاهری کیست‌های موجود در نمونه شکل‌دار، در درجه حرارت اتاق و در فاصله زمانی یک روز تغییر نمی‌کند. تخم‌ها و لاروها در هر نمونه‌ای با هرگونه قوام ممکن است مشاهده گردند اما در نمونه‌های آبکی به علت رقیق بودن نمونه، شانس یافتن آن‌ها کم می‌شود.

### بررسی خصوصیات ظاهری نمونه:

اصولاً بررسی ظاهر مدفوع و گزارش کامل آن به پزشک اهمیت بسیار زیادی جهت تشخیص بیماری دارد. این بررسی کمک بسیار زیادی به تشخیص عفونت‌های انگلی، یرقان‌ها، خونریزی‌های دستگاه گوارش، اسهال، سوءجذب و غیره می‌نماید، بنابراین باید شکل و قوام، رنگ، وجود موکوس، خون، مواد غذایی هضم‌نشده و سایر موارد بررسی و به پزشک گزارش گردد. بررسی خصوصیات ظاهری نمونه مدفوع باید روی نمونه‌های تازه انجام شود و نمی‌توان این بررسی را در نمونه‌های موجود در ماده نگهدارنده انجام داد.

### کنترل کیفی در انگل‌شناسی

برای انجام کنترل کیفی در بخش انگل‌شناسی رعایت نکات ذیل ضروری است:

مراحل جمع‌آوری نمونه باید به روش استاندارد انجام شود.

انجام آزمایش کامل مدفوع و گزارش کامل از نظر رنگ، قوام، خون، موکوس، غذای هضم‌نشده، WBC، RBC و ... ضروری است.

کیفیت معرف‌ها باید در موقع استفاده یا به‌صورت هفتگی بررسی گردد. محلول‌ها باید عاری از هرگونه آلودگی باکتریایی یا قارچی باشند.

محلول ید به رنگ چای پررنگ بوده و در صورت کم‌رنگ شدن باید دور ریخته شود. برای کنترل کیفیت محللول ید می‌بایست نمونه مدفوع حاوی گلبول سفید و عاری از انگل را با محللول ید مورد آزمون، رنگ‌آمیزی نمود. اگر گلبول‌های سفید توانایی جذب رنگ ید را داشته باشند، تک‌یاخته‌ها نیز قادر به جذب محللول ید خواهند بود. در رنگ‌آمیزی با محللول ید، سیتوپلاسم تک‌یاخته باید به رنگ زرد طلایی و مواد نشاسته‌ای به رنگ قهوه‌ای و کروماتین هسته به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره مشاهده شود.

جهت کنترل کیفیت آزمایش تغلیظ با فرمالین-اتیل استات (اتر) و روش سولفات روی باید به نکات زیر توجه داشت:

۱- برداشت نمونه از قسمت‌های مناسب مدفوع (قسمت‌های حاوی موکوس، خون) انجام پذیرد.

۲- مواد و محللول‌ها به روش استاندارد تهیه شوند.

۳- سرعت و زمان سانتریفوژ رعایت شود.

۴- گسترش با غلظت مناسب تهیه شود.

۵- لوله محتوی رسوب تا پایان مراحل انجام آزمایش و گزارش نهایی نگهداری شود. معرف‌های مورد استفاده باید در زمان آزمایش بررسی گردند. محللول سرم فیزیولوژی، سولفات روی و فرمالین باید شفاف و بدون آلودگی مرئی باشند. برای کنترل کیفیت آزمایش تغلیظ باید نمونه‌های مثبت شناخته شده تغلیظ و کیفیت مطلوب ارگانسیم‌ها بررسی گردد. این اقدام می‌بایست حداقل هر سه ماه (خصوصاً پس از کنترل سرعت سانتریفوژ) انجام پذیرد.

وزن مخصوص سولفات روی باید به‌طور ماهانه بررسی شود. وزن مخصوص در نمونه‌های تازه ۱/۱۸ و در نمونه‌های نگهداری شده در فرمالین ۱/۲۰ است، در غیر این صورت با اضافه کردن سولفات روی یا آب مقطر تنظیم می‌شود. در صورت خرید سولفات روی، باید نمونه‌های شناخته شده حاوی انگل مورد آزمایش قرار گرفته و کیفیت مطلوب انگل‌ها بررسی گردد.

در مرحله گزارش نهایی باید تمامی سطح لامل با عدسی با بزرگنمایی  $\times 10$  بررسی گردد. در صورت عدم مشاهده مورد مشکوک در بزرگنمایی  $\times 10$ ، حداقل یک سوم لام با بزرگنمایی  $\times 40$  بررسی گردد. از آنجائی که تک‌یاخته‌ها باعث انعکاس نور می‌شوند، نباید برای بررسی از نور زیاد استفاده شود.

برای کنترل تست خون مخفی می‌توان مقداری خون را در آب مقطر حل کرده و با نمونه مخلوط و برای آزمایش ارسال نمود. بعضی از منابع ذکر می‌کنند برای کنترل کیفی تست OB از چهار لوله استفاده شود و در لوله اول خون کامل در لوله دوم رقت ۱/۱۰ در اوله سوم رقت ۱/۱۰ و در لوله چهارم رقت ۱/۱۰۰۰ از خون کامل ریخته شود و تست OB روی آن انجام گردد.

## رفرنس:

کنترل کیفیت در آزمایشگاه، دکتر فریده رضی

انتشارات آزمایشگاه مرجع سلامت، دکتر شهلا فارسی، سال ۱۳۸۷

بررسی و مقایسه حساسیت روش‌های شیمیایی رایج در تشخیص خون مخفی در مدفوع، دکتر لامع اخلاقی