

مقایسه حساسیت روش فرمل - دتر جنت با روش فرمالین - اتر و مستقیم در تشخیص انگل‌های روده‌ای

*مینو شاددل^۱، دکتر محمدرضا نظری پویا^۲، دکتر علیرضا ابدی^۳

چکیده

سابقه و هدف: جهت تشخیص بیماری‌های انگلی روشهای مختلف آزمایشگاهی وجود دارند که از حساسیت متفاوتی برخوردار می‌باشند، لذا انتخاب یک روش استاندارد و مناسب از اهمیت خاصی برخوردار است. در راستای دست یافتن به روشی حساس تر و ساده تر برای آزمایش مدفوع، روش فرمل - دترجنت با روش فرمالین - اتر و مستقیم در تشخیص انگل‌های روده‌ای مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه مقطعی (توصیفی - تحلیلی)، روی نمونه مدفوع ۵۰۱ نفر از اهالی روستاهای بیلقان و سرودار واقع در اطراف شهرستان کرج هر سه روش آزمایش مدفوع فرمل - دترجنت، فرمالین - اتر و مستقیم انجام شد.

یافته‌ها: حساسیت روش فرمالین - اتر بالاتر است و در تشخیص کیست ژیا ردیا لامبلیا، بلاستوسیستیس هومینیس و تخم هیمنولیپیس نانا نسبت به روش فرمالین - اتر بالاتر است و در تشخیص سایر موارد حساسیت روش فرمالین - اتر نسبت به روش فرمالین - دترجنت بالاتر است و حساسیت هر دو روش در تشخیص عوامل انگلی یافت شده نسبت به روش مستقیم بالاتر است و فقط در تشخیص کیست ژیا ردیا لامبلیا و بلاستوسیستیس هومینیس فواصل اطمینان بین روش فرمالین - اتر و مستقیم با هم تداخل دارد.

نتیجه‌گیری: با اطمینان ۹۵٪، بازدهی روش فرمالین - دترجنت در تشخیص کیست ژیا ردیا لامبلیا و بلاستوسیستیس هومینیس و تخم هیمنولیپیس نانا نسبت به روش فرمالین - اتر بیشتر است و این اختلاف معنی‌دار است، به ویژه در مورد تشخیص انگل ژیا ردیا لامبلیا و در شرایط صحرائی استفاده از این روش توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: انگل‌های روده‌ای، تکنیک فرمالین - دترجنت، فرمالین - اتر، مستقیم

مقدمه

بدن خود بوده و به این ترتیب علاوه بر اینکه سلامتی خود را به خطر می‌اندازند، به دلیل انتقال آن به سایر افراد، سلامتی عمومی را نیز تهدید می‌کنند.

از آنجائیکه حساسیت هر روش تشخیصی بر حسب نوع انگل متفاوت است، لذا انتخاب یک روش استاندارد و مناسب بر اساس نوع انگل مشخص می‌شود (۱). در مناطقی که از لحاظ داشتن امکانات

برای کاهش شیوع بیماری‌های انگلی، تشخیص آزمایشگاهی این بیماری‌ها از گام‌های اساسی و اولیه است. استفاده از روش‌های غیر حساس در شناسایی و تشخیص آلودگی به عوامل انگلی در بسیاری از موارد، مسئله درمان را دچار پیچیدگی خواهد کرد و بسیاری از بیماران مدت‌ها دچار عوارض ناشی از حضور انگل در

۱- مربی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی (*نویسنده مسئول)
تلفن: ۰۹۱۲۳۳۶۱۴۳۴ دوزنگار: ۹۸۲۱۴۴۸۱۴۹۷۷ آدرس الکترونیک: min_shad@yahoo.com

۲- استاد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی
۳- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه بهداشت و پزشکی اجتماعی

می‌نمایم (۲ و ۶). دترجنت مصرفی در این تحقیق مایع ظرفشویی ریکا با فرمول شیمیایی: دودسیل بنزن + کوکونات دی اتانل آمید + آنتی باکتریال + ماده ویسکوزکننده + اسانس + اوره + رنگ بود. موارد مثبت و منفی حاصل از هر یک از روش‌ها به طور جداگانه ثبت شد. نتیجه نهایی حاصل مجموع موارد مثبت هر سه روش است. (موارد مثبت مشترک هر سه روش + موارد مثبت فقط روش مستقیم + موارد مثبت فقط روش فرمالین - اتر + موارد مثبت فقط روش فرمل - دترجنت) و سپس حساسیت یک نمونه مثبت محاسبه شد (۷). فاصله اطمینان برای آنها (با اطمینان ۹۵٪) بدست آمد، تا مشخص شود که اختلاف حساسیت‌ها معنادار است یا خیر؟ (۷). محاسبات جهت هر عامل انگلی یافت شده در این مطالعه، انجام شد و با توجه به نتایج، مقایسه بین روش‌های آزمایش صورت گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در تکنیک فرمالین - اتر در مورد کیست‌های کیلوماستیکس مسنیلی، آنتامبا هیستولیتیکا، آنتامبا کلی، یدامبا بوتچلی، آندولیماکس نانا و تخم انتریبیوس ورمیکولاریس نسبت به دو تکنیک دیگر موارد مثبت بیشتری مشاهده شد و در تکنیک فرمل - دترجنت در مورد کیست‌های ژیاردیالامبلیا، آنتامبا هارتمانی، بلاستوسیسیتیس هومینیس، تخم‌های هیمونولپیس نانا و آسکاریس نسبت به دو تکنیک دیگر، موارد مثبت بیشتری مشاهده شد و در تکنیک مستقیم در هیچکدام از انگل‌ها، موارد مثبت بیشتری دیده نشد (جدول ۱). با توجه به فواصل اطمینان بدست آمده، حساسیت روش فرمل - دترجنت در تشخیص کیست ژیاردیالامبلیا، بلاستوسیسیتیس هومینیس و تخم هیمونولپیس نانا نسبت به روش فرمالین - اتر بالاتر است و در تشخیص سایر موارد حساسیت روش فرمالین - اتر نسبت به روش فرمل - دترجنت بالاتر است و فواصل اطمینان آنها نیز با هم تداخل ندارند. حساسیت هر دو روش در تشخیص عوامل انگلی ذکر شده نسبت به روش مستقیم بالاتر است و فقط در تشخیص کیست ژیاردیالامبلیا و بلاستوسیسیتیس هومینیس، فواصل اطمینان بدست آمده بین روش فرمالین - اتر و مستقیم با هم تداخل دارند.

آزمایشگاهی مناسب، محروم هستند، لزوم به کارگیری یک روش آزمایش مدفوع ارزان و ساده که در عین حال دارای حساسیت بالا باشد، ضروری به نظر می‌رسد. هدف این بررسی، مقایسه حساسیت روش فرمل - دترجنت در تشخیص انگلهای روده‌ای با دو روش مستقیم و فرمالین - اتر است، با توجه به این که روش فرمل دترجنت به دلیل سادگی در بررسی‌های صحرایی به کار می‌آید (۲ و ۳) و به دلیل استفاده از مایع شستشو دهنده (به عنوان دترجنت) در آن، بی خطر، ارزان و در دسترس است (۲) نسبت به روش فرمالین - اتر که اتر مورد استفاده در آن قابل انفجار و نسبتاً گران است (۴)، ترجیح دارد.

مواد و روشها

این مطالعه به صورت مقطعی (توصیفی - تحلیلی) انجام گرفت و از ۵۰۱ نفر از اهالی روستاهای بیلقان و سرودار (از روستاهای اطراف شهرستان کرج) بین اردیبهشت ماه الی شهریور ماه سال ۱۳۷۲ نمونه مدفوع گرفته شد. نمونه‌ها بلافاصله پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی منتقل شد و سه روش آزمایش مدفوع مستقیم (۵)، فرمالین - اتر (۵) و فرمل - دترجنت (۲ و ۶) به طور جداگانه روی هر نمونه انجام شد. قابل اشاره است که مکانیسم روش فرمل - دترجنت بدین صورت است که مقدار مشخصی از مدفوع با محلول فرمل - دترجنت که وزن مخصوص کمی دارد، مخلوط می‌شود. بعد از صاف کردن محلول، بدون هیچ تکانی به حال خود گذاشته می‌شود تا کیست‌ها، تخم‌ها و لاروها (بدون حرکت) تحت تأثیر وزن خود رسوب نمایند. در این مرحله برای تخم‌های سنگین نظیر تخم شیستوزوما تنها یک ساعت زمان نیاز است اما برای تخم‌های سبک‌تر و کیست‌ها، یک شبانه روز (۲۴ ساعت) زمان نیاز است تا رسوب نمایند در حالی که انگل‌ها رسوب می‌کنند، دترجنت موجود در محلول، مواد زاید مدفوع را تمیز کرده و تنها یک رسوب صاف و شفاف که حاوی کیست‌ها، تخم‌ها و لارو می‌باشد، باقی می‌گذارد (۲).

جهت بدست آوردن حجم ۵۰۰ میلی لیتر محلول فرمل - دترجنت، ۴۸۰ میلی لیتر آب مقطر را در درون ظرف ریخته و با ۱۰ میلی لیتر محلول دترجنت و ۱۰ میلی لیتر فرمالین - خالص مخلوط

جدول ۱- فراوانی موارد مثبت انگل‌های روده‌ای حاصل از سه روش (فرمل - دترجنت، فرمالین - اتر و مستقیم) به طور جداگانه و موارد مثبت حاصل از سه روش

نوع انگل	روش	فرمل - دترجنت	فرمالین - اتر	مستقیم	مجموع موارد مثبت هر سه تکنیک
زیاردیالامبلیا (کیست)	۱۰۳	۶۴	۶۶	۱۱۸	
کیلوماستیکس مسنیلی	۱	۷	۰	۸	
آنتامباهیستولیتیکا (کیست)	۱۵	۲۰	۱	۲۶	
آنتامباکلی (کیست)	۵۱	۶۷	۳۰	۸۰	
آنتامباهارتمانی (کیست)	۱۳	۱۲	۵	۲۳	
یدامباپوتچلی	۳۶	۵۰	۱۴	۶۳	
آندولیماکس نانا	۲	۷	۰	۸	
بلاستوسیسیتیس هومینیس	۲۱	۱۶	۱۵	۳۹	
تخم هیمنولپیس نانا	۸	۵	۰	۸	
تخم انترویوس و رمیکولاریس	۲	۳	۰	۵	
تخم آسکاریس لومبریکوئیدس	۲	۱	۰	۳	

جدول ۲- حساسیت و فاصله اطمینان ۹۵٪ سه روش فرمل - دترجنت، فرمالین - اتر و مستقیم در تشخیص انگل‌های روده‌ای به تفکیک نوع انگل

نوع انگل	فرمل - دترجنت		فرمالین - اتر		مستقیم	
	حساسیت	فاصله اطمینان ۹۵٪	حساسیت	فاصله اطمینان ۹۵٪	حساسیت	فاصله اطمینان ۹۵٪
زیاردیالامبلیا (کیست)	۸۷/۲۹٪	۰/۸۴۲-۰/۹۰۱	۵۴/۲۴٪	۰/۴۹۸-۰/۵۸۵	۵۵/۹۳٪	۰/۵۱۵-۰/۶۰۲
کیلوماستیکس مسنیلی (کیست)	۱۲/۵٪	۰/۰۹۶-۰/۱۵۳	۸۷/۵٪	۰/۸۴۶-۰/۹۰۳	۰٪	۰
آنتامبا هیستولیتیکا (کیست)	۵۷/۶۹٪	۰/۵۳۲-۰/۶۱۹	۷۶/۹۲٪	۰/۷۳۲-۰/۸۰۵	۳/۸۵٪	۰/۰۲۱-۰/۰۵۴
آنتامبا کلی (کیست)	۶۳/۷۵٪	۰/۵۹۴-۰/۶۷۹	۸۳/۷۵٪	۰/۸۰۴-۰/۸۶۹	۳۷/۵٪	۰/۳۳۲-۰/۴۱۷
آنتامبا هارتمانی (کیست)	۵۶/۵۲٪	۰/۵۲۱-۰/۶۰۸	۵۲/۱۷٪	۰/۴۷۷-۰/۵۶۴	۲۱/۷۴٪	۰/۱۸۰-۰/۲۵۳
یدامبا بوتچلی (کیست)	۵۷/۱۴٪	۰/۵۲۷-۰/۶۱۴	۷۹/۳۷٪	۰/۷۵۷-۰/۸۲۸	۲۲/۲۲٪	۰/۱۸۵-۰/۲۵۸
آندولیماکس نانا	۲۵٪	۰/۲۱۲-۰/۲۸۷	۸۷/۵٪	۰/۸۴۶-۰/۹۰۳	۰٪	۰
بلاستوسیسیتیس هومینیس	۵۳/۸۵٪	۰/۴۹۴-۰/۵۸۱	۴۱/۰۳٪	۰/۳۶۶-۰/۴۵۳	۳۸/۴۶٪	۰/۳۴۱-۰/۴۲۶
تخم هیمنولپیس نانا	۱۰۰٪	۱	۶۲/۵٪	۰/۵۸۲-۰/۶۶۷	۰٪	۰
انترویوس و رمیکولاریس (تخم)	۴۰٪	۰/۳۵۷-۰/۴۴۲	۶۰٪	-/۵۵۷-۰/۶۴۲	۰٪	۰
آسکاریس لومبریکوئیدس (تخم)	قابل ارزیابی نیست	—	قابل ارزیابی نیست	—	قابل ارزیابی نیست	—

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده در تکنیک فرمل - دتر جنت عمدتاً جهت از بین بردن چربی در مدفوع است و همچنین به دلیل ارزانی، در دسترس بودن و کم خطری آن در مقابل گرانی و خطرناک بودن اتر مورد استفاده در

فرمالین مورد استفاده در تکنیک‌های فرمالین - اتر و فرمل - دترجنت جهت ثابت نگه داشتن شکل ظاهری عوامل انگلی و دترجنت مورد

تشخیص تخم هیمنولیپیس نانا و کیست ژیا ردیا لامبلیا مشابه نتیجه بررسی سال ۱۹۹۰ توسط Lon kightlinger و همکاران (۲) است. لازم به ذکر است که حساسیت ۱۰۰٪ که برای روش فرمل-دترجنت در تشخیص تخم هیمنولیپیس نانا بدست آمده است بیش از حد انتظار است که این امر احتمالاً به دلیل تعداد کم افراد آلوده به تخم انگل از جمله تخم هیمنولیپیس نانا در این بررسی است و در مورد تخم انتروبیوس و رمیکولاریس روش فرمالین-اتر نسبت به سایر روش‌های مورد بررسی دارای نتیجه بهتری بود و این برخلاف نتیجه بررسی انجام گرفته در سال ۱۹۹۰ توسط Lon kightlinger و همکاران (۲) است اما از آنجائیکه روش‌های اختصاصی در تشخیص تخم این انگل وجود دارد، هیچکدام از روش‌های آزمایش مدفوع این بررسی جهت تشخیص تخم این انگل قابل توصیه نیست. بنابراین بر حسب نتایج این بررسی علی‌رغم مزایای نسبی روش فرمل-دترجنت نسبت به روش فرمالین-اتر اما به دلیل عدم موفقیت روش فرمل-دترجنت در تشخیص بعضی از عوامل انگلی نسبت به روش فرمالین-اتر، نمی‌تواند در تمامی موارد یک روش جایگزین برای فرمالین-اتر باشد، هر چند در مواردیکه مشکوک به نوع بخصوصی از عامل انگلی هستیم که روش فرمل-دترجنت در تشخیص آن حساس تر است (به ویژه ژیا ردیا لامبلیا) و یا همانطور که در بررسی‌های سال ۱۹۹۰ توسط Lon kightlinger و همکاران (۲)، ۱۹۹۱ توسط Ramsay و همکاران (۳) و ۱۳۷۹ توسط شاددل (۱۰) اشاره شده است، در شرایط صحرائی و زمانی که از نظر امکانات محدودیتی وجود داشته باشد انجام این روش پیشنهاد می‌شود و در شرایطی که در دادن جواب فوریت وجود دارد و یا اینکه هدف دیدن حرکت ترفوزوئیت تک یاخته‌ها است، استفاده از روش مستقیم توصیه می‌شود (۱۱).

تکنیک فرمالین-اتر، یک ماده جایگزین مناسب و مفید می‌تواند باشد (۳ و ۲). در این راستا بررسی‌ای روی مقایسه بازدهی روش‌های فرمل-دترجنت، فرمالین-اتر و مستقیم در تشخیص انگل‌های روده‌ای انجام گرفت و با توجه به فواصل اطمینان بدست آمده، حساسیت روش فرمل-دترجنت در تشخیص کیست ژیا ردیا لامبلیا، بلاستوسیسیتیس هومینیس و تخم هیمنولیپیس نانا نسبت به روش فرمالین-اتر بالاتر است و با اطمینان ۹۵٪ این اختلاف معنی‌دار است اما اختلاف حساسیت بدست آمده در تشخیص کیست آنتامبا هارتمانی با توجه به تداخل فواصل اطمینان آنها، معنی‌دار نیست و در تشخیص سایر موارد حساسیت روش فرمالین-اتر نسبت به روش فرمل-دترجنت بالاتر است و با توجه به عدم تداخل فواصل اطمینان آنها و با اطمینان ۹۵٪ این اختلاف معنی‌دار است. حساسیت هر دو روش در تشخیص عوامل انگلی یافت شده (جدول ۲) نسبت به روش مستقیم بالاتر است و با اطمینان ۹۵٪ اختلاف معنی‌دار، دارند به استثناء تشخیص کیست ژیا ردیا لامبلیا و بلاستوسیسیتیس هومینیس علی‌رغم اینکه روش فرمالین-اتر نسبت به روش مستقیم دارای حساسیت بالاتری است اما به دلیل تداخل فواصل اطمینان آنها، این اختلاف معنی‌دار نیست. در بررسی سال ۱۹۹۰ توسط Lon kightlinger و همکاران (۲) اشاره به بازدهی بالاتر روش فرمل-دترجنت در تشخیص تخم انگل‌های روده‌ای و کیست تک یاخته‌ها نسبت به روش فرمالین-اتیل استات شده است و طی بررسی‌های متعدد بین سال‌های ۱۹۷۹ تا ۱۹۸۱ (۴، ۸ و ۹) به برتری نسبی روش فرمالین-اتیل استات نسبت به روش فرمالین-اتر در تشخیص انگل‌های روده‌ای اشاره شده است. بنابراین نتایج این بررسی نیز هماهنگ با بررسی‌های قبل است و در

References

- 1- Melvin DM. Intestinal parasitic infections: Part 1 Problem in laboratory Diagnosis. Lab Med 1979; 10(4) : 207- 10.
- 2- Kightlinger L. Examination of faecal specimens by the formalin-detergent technique. Tran Royal Soc

Trop Med Hyg 1990;84:417-8.

- 3- Ramsay A. A field evaluation of the formol-detergent method for concentrating faecal parasites. J Trop Med Hyg 1991; 94:210-3.
- 4- Garcia LS. Comparison of clinical results for the

use of Ethyl Acetate and Diethyl Ether in the Formalin – Ether Sedimentation Technique performed on Polyvinyl Alcohol – Preserved Specimens . J Clin Mic 1981; 13(4) : 709 –13.

5- Brown HW. Basic Clinical Parasitology. Prentice – Hall International Editions. 1993;pp: 317 – 20.

6- Chessbrough M. Medical Laboratory Manual for Tropical Countries. Torontoweellington1987;pp: 178 – 88 .

7- Moyses S . Epidemiology (Beyond the Basics). Gaithersburg, Maryland.2000 ;pp :453.

8- Erdman DD. Clinical Comparison of Ethyl Acetate and Diethyl Ether in the Formalin – Ether

Sedimentation Technique . J Clin Mic 1981; 483-5.

9- Young KH. Ethyl Acetate as a Substitute for Diethyl Ether in the Formalin – Ether Sedimentation Technique . J Clin Mic 1979; 10(6): 852-53.

۱۰- شاددل مینو، مقایسه بازدهی دو دترجنت مایع ظرفشویی و صابون در تکنیک فرمل - دترجنت جهت تشخیص انگل‌های روده‌ای، سومین کنگره سراسری انگل شناسی پزشکی ایران، ساری، ۹-۱۱ اسفند ماه ۱۳۷۹، ۱۱۹.

11- Engels D, Nahimana S, Gryseels B. Comparison of the direct faecal smear and two thick smear techniques for the diagnosis of intestinal parasitic infections. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996; 90(5): 523-25.

Comparative sensitivity of formol- detergent technique with formalin- ether and direct technique for detection of intestinal parasite

* Shaddel M;MSc¹, Nazari Pouya MR; PhD², Abadi AR; PhD³

Abstract

Background: In an attempt to achieve the easier and more sensitive faecal examination, in this study the ability of formol- detergent (FD) technique for detection of intestinal parasites was compared with the direct examination and the formalin – ether (FE) sedimentation technique.

Methods and Materials: In this cross – sectional(descriptive-analitic) study faecal specimens were collected from 501 people of the Bilaghan and Sarvadar Villages in the vicinity of karaj city and examined by direct, FE and FD technique.

Results: Sensitivity of formol- detergent technique in detection of Giardia lamblia cyst, Blastocystis hominis and Hymenolepis nana egg is more than formalin-ether technique,whereas in detection of the other parasite, the sensitivity of FE is more than FD. The sensitivity of FE and FD in detection of parasite obtained by this study is more than direct technique and only about Giardia lamblia cyst, Blastocystis hominis the difference between FE and direct technique is not significant (Confidence interval %95).

Conclusions: FD technique offered an advantage over the FE technique for the detection of Giardia lamblia cyst, Blastocystis hominis and Hymenolepis nana egg and this difference was significant (Confidence interval %95). This study provides evidence that FD technique is an important tool for the diagnosis of Giardia lamblia and is suitable for performing under field condition and should be considered in situations where resources are scarce.

Keywords: Direct technique, Formalin Ether technique, Formol – detergent technique,Intestinal Parasite

1- (Corresponding author) Instructor, Army University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Department of Parasitology and Mycology. Tel:09123361434 Fax: 982144814977 E-mail:min_shad@yahoo.com

2- Professor, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Department of Parasitology and Mycology.

3- Assistant Professor, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Department of Health and Social Medicine.