

مراقبت های لازم قبل از آزمایش در مورد آنها به عمل نیاید تشخیص دقیق عوامل آلودگی به خوبی امکان پذیر نیست. این امر به خصوص در مورد میکروارگانیسم های کوچکتر مانند تک یاخته-ها بیشتر صدق می کند.

ساختمان تروفوزوئیت تک یاخته ها 1-2 ساعت پس از خروج از بدن تخریب شده و تغییرات ظاهری آنها باعث اشتباه در تشخیص می شود. کیست تک یاخته ها نیز پس از گذشتن ساعت‌ها بخصوص در درجه حرارت های بالا از بین می روند و یا تغییر شکل می دهند. تخم کرم های قلابدار لاروی شده و تخم های آسکاریس نیز ممکن است مولتی سلولار شوند علاوه بر این ساختمان لاروها تخریب شده و تشخیص گونه آنها مشکل می شود.

برای جمع آوری صحیح نمونه مدفوع مراحل زیر ضروری است:  
- استفاده از یک قوطی درب دار و خشک و تمیز که درب آن محکم بسته شود. اگر قوطی یا لیوان پلاستیکی موجود نباشد می توان از ظروف پلاستیکی محکم دیگری استفاده کرد ولی به هیچ وجه نباید از قوطی کبریت و ظروف غیر ثابت نامناسب دیگر استفاده کرد.

- به بیمار تذکر داده شود که مدفوع را مستقیماً وارد ظرف نماید و یا نمونه را روی یک ورق کاغذ بگیرد و به وسیله اپلیکاتور چوبی آن را به ظرف منتقل نماید. جمع آوری نمونه از روی خاک یا لگن توالت مناسب نمی باشد، زیرا خاک و آلودگی مدفوع و یا مخلوط شدن آن با آب و ادرار موجب تغییر شکل انگل ها و دخالت عوامل مداخله گر در مدفوع شده و ارزش تشخیص را کاهش می دهد.

- روی ظرف مدفوع علاوه بر نام و کد بیمار، تاریخ گرفتن نمونه، محل گرفتن نمونه (منزل یا آزمایشگاه) و زمان نمونه گیری نیز یادداشت شود.

- نمونه مدفوع باید به اندازه کافی باشد (حداقل یک سانتیمتر مربع) همچنین نمونه های کهنه حاوی قارچ بوده و مناسب نمی باشد. اگر نمونه خیلی کم باشد و به ادرار و گرد و غبار آلوده باشد از پذیرفتن نمونه باید خودداری کرد و نمونه گیری مجدد صورت

تشخیص وجود انگل در نمونه مدفوع بیماران یکی از راه های ساده و در عین حال مهم جهت درمان بیماران مبتلا به انگل های روده ای می باشد. در آنالیز نمونه مدفوع در اولین گام، آگاهی از نحوه جمع آوری نمونه از ارزش بالایی برخوردار است. بنابراین حداقل 48 ساعت قبل از جمع آوری مدفوع به بیماران باید در مورد موارد زیر توصیه شود:

1. از مصرف روغن های معدنی و ملین های روغنی اجتناب کنید.
  2. بیسموت مصرف نکنید.
  3. داروهای ضد اسهال غیر جاذب مصرف نکنید.
  4. از مصرف داروهای ضد مالاریا خودداری کنید.
  5. بیمار نباید قبل از آزمایش مدفوع، بلع باریم انجام دهد.
  6. در مصرف آنتی بیوتیک ها یا مواد حاجب، قبل یا بعد از یک هفته نمونه گیری شود. این مواد اجسام ناشناخته تولید می کنند یا انگل ها را می پوشانند.
  7. مدفوع گرم برای تخم ها و انگل ها بهتر است.
  8. مدفوع حاوی تخم ها و انگل ها را می توان در فرمالین و پلی وینیل الکل (به عنوان تثبیت کننده) جمع آوری کرد.
  9. اگر خون یا مخاط وجود دارد، باید در ظرف مدفوع جمع آوری شود زیرا بیشتر عوامل بیماری زا در این ماده یافت می شود.
  10. از آلودگی ادرار خودداری کنید زیرا برخی از انگل ها توسط ادرار از بین می روند.
  11. آب، برخی از انگل ها مانند تخم های شیشستوزوم و تروفوزوئیت های آمیب را از بین می برد.
- نکته: تروفوزوئیت ها در مدفوع مایع به سرعت تخریب می شوند، بنابراین مدفوع را ظرف 30 دقیقه بررسی کنید.
- چنانچه نمونه های مدفوع به درستی جمع آوری نشده باشد و

گیرد.

- ظرف محتوی نمونه بهتر است در یخچال نگهداری شود و اگر این امر امکان‌پذیر نبود باید در خنک‌ترین قسمت آزمایشگاه قرار داده شود. از قرار دادن نمونه مدفوع در گرما و در مقابل نور خورشید باید **خودداری** کرد. همچنین نمونه مدفوع برای آزمایش نباید یخ زده باشد چون این حالت سبب متلاشی شدن انگل‌ها و اختلال در تشخیص می‌گردد.

با توجه به اینکه، دفع انگل (بخصوص در مورد تک یاخته‌ها) مستمر نبوده و بطور متناوب انجام می‌شود لذا سه بار نمونه‌گیری به فاصله هر دو یا سه روز یک بار و در مدت یک هفته تا ده روز به مراتب بهتر است تا نمونه‌گیری در سه روز متوالی.

در بیشتر موارد تعداد عناصر انگلی در مدفوع بسیار ناچیز است و به دلایل مختلف (علیرغم وجود بیماری) در مدفوع یافت نمی‌شوند (منفی کاذب) این علل می‌تواند ناشی از فاصله زمانی منفی مربوط به تخم‌گذاری بی نظم کرم‌ها و یا مربوط به انکیسته شدن تک یاخته‌ها باشد و یا اینکه پارازیت جوان‌تر از آن باشد که بتواند تخم‌گذاری نماید. بنابراین توصیه می‌شود که در طول 10 روز سه نوبت آزمایش به عمل آید، حتی اگر نوبت اول مثبت باشد نوبت‌های بعد حتماً مورد بررسی قرار گیرد چرا که بیمار ممکن است به چند نوع انگل آلوده باشد.

آزمایشات انگل‌شناسی باید در زمان معینی انجام بگیرد و این زمان در دو مورد زیر متفاوت است.

1. وقتی که هدف جستجوی تخم انگل باشد در این صورت مدفوع تا 24 ساعت قابل نگهداری است.

2. وقتی که هدف جستجوی فرم تروفوزوئیت تک‌یاختگان باشد این فرم چون حساس بوده و به سرعت از بین می‌رود بنابراین در همان ساعات اولیه بایستی آزمایش شوند.

### بررسی ماکروسکوپی مدفوع :

پس از دریافت نمونه مدفوع در آزمایشگاه باید از نظر شکل، قوام و رنگ مورد بررسی قرار گیرد. با یکی از کلمات زیر قوام نمونه مدفوع گزارش می‌شود. آبکی (watery)، شل (loose)، نرم (soft)، شکل‌دار (formed) همچنین نمونه‌ها از نظر موکوس و خون نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد.

در بررسی شکل ظاهری مدفوع به نکات مهم زیر توجه ویژه شود.

در آزمایشگاه انگل‌شناسی نمونه‌های مدفوع را بایستی به نمونه‌های آبکی، شل، نرم و قوام دار تقسیم کرده و ابتدا نمونه‌های آبکی و شل و نمونه‌های حاوی خون و موکوس مورد بررسی قرار بگیرند. این نمونه‌ها بیشتر حاوی تروفوزوئیت هستند که خیلی زود پس از گرفتن نمونه توسط بیمار از بین می‌روند و باید حداکثر ظرف مدت یک‌ساعت پس از گرفتن نمونه بررسی شوند ولی نمونه‌های قوام دار را می‌توان چندین ساعت پس از نمونه‌گیری مورد آزمایش قرار داد و این زمان نباید بیش از یک شب به درازا بکشد که در این صورت بایستی از فیکساتیو مناسب استفاده کرد.

بندهای بارور کرم‌های نواری، کرم بالغ آسکاریس، کرم بالغ اکسیور را بایستی بدون مشاهده میکروسکوپی گزارش نمود.

بسیاری از بیماری‌ها با گزارش صحیح ماکروسکوپی مدفوع تشخیص داده می‌شوند (پس همیشه نباید بخش میکروسکوپی مدفوع در اولویت قرار داده شود)

- رنگ خاکستری مدفوع به همراه دانه‌های خمیری شکل نشانه **استئاتوره** است.

- مدفوع دانه دار (شبه مدفوع بزغاله) نشانه مگاکولون بوده و گزارش آن ضروری است.

- رنگ خاک رس مدفوع به دلیل عدم حضور صفرا بوده و نشانه انسداد مجاری صفراوی می‌باشد. (در صورت مصرف ترکیبات باریم نیز ممکن است رنگ مدفوع به شکل خاک رس باشد و نیز در عدم ترشح صفرا چربی‌های هضم نشده افزایش یافته و مدفوع رنگ سفید گچی پیدا می‌کند.

- مدفوع سیاه‌رنگ (شبه قیر) نشانه خونریزی از قسمت‌های فوقانی دستگاه گوارش می‌باشد.

- در بیماری سیستیک فیبروزیس به علت آزاد شدن چربی‌های خنثی رنگ مدفوع مثل گریس می‌شود و به آن مدفوع روغنی می‌گویند.

- در بیماری سلیاک و اسپیرو، مدفوع رنگ نقره‌ای کدر به خود می‌گیرد.

- مدفوع حاوی خون روشن نشانه خونریزی از قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش و روده بزرگ و مقعد است.

- وجود خون و موکوس نشانه نئوپلاسم و آمیب می‌باشد.

- وجود سلول‌های چرکی (pus cell) بیشتر نشانه کولیت است.

روش های متعددی برای رنگ آمیزی مدفوع وجود دارد اما سه روش رنگ آمیزی تریکروم (تک یاخته روده‌ای)، آبرون هماتوکسیلین (بررسی ساختار هسته تک یاخته‌های روده‌ای)، رنگ آمیزی اسید فست (اغلب برای گونه های کوکسیدیا مثل کریپتوسپوریدیوم، سیکلوسپورا، سیتوایزوسپورا) از جمله آن هاست.

در بررسی میکروسکوپی مدفوع وجود سه نوع کریستال مهم بوده و بایستی گزارش شود:

1- کریستال شارکوت لیدن که بیشتر نمایانگر آلودگی های انگلی بخصوص کرم هاست.

2- کریستال اگزالات کلسیم که بیشتر در موارد کاهش ترشحات شیره معده تشکیل می شود.

3- کریستال هماتوئیدین که به رنگ زرد بوده و بعد از خونریزی دیده می شود.

در کولیت اولسراتیو و کولیت های آمیبی تعداد زیادی pus cell دیده می شود.

- وجود موکوس فراوان نشانه آدنوم ویروسی است.

### آماده سازی نمونه جهت بررسی میکروسکوپی مدفوع:

بررسی میکروسکوپی نمونه مدفوع با ظاهر ماکروسکوپی آن تناسب دارد به طوری که احتمال مشاهده تخم و خود کرم در هر نوع مدفوعی وجود دارد اما کیست تک یاخته‌ها اغلب در مدفوع formed و soft و تروفوزوئیت‌ها اکثرا در نمونه loose و watery مشاهده می شود.

روش های مختلف بررسی نمونه مدفوع در زیر میکروسکوپ به طور خلاصه به شرح زیر می باشد:

1- روش **wet mount**: در این روش لام مرطوب با استفاده از سرم

فیزیولوژی تهیه می شود. از لامل  $22\text{mm}^2$  استفاده می شود و زیر میکروسکوپ از نظر وجود تخم کرم، لارو و تروفوزوئیت بررسی می شود. اسمیر در این روش باید نازک تهیه شود تا روزنامه زیر میکروسکوپ دیده شود. بررسی نمونه زیر عدسی شیئی  $\times 10$  مهم است. با این کار، سلول ها، تخمک‌ها و کرم‌ها مشاهده می شود، سپس با کندانسور پایین جهت مشاهده بهتر انگل‌ها از عدسی  $\times 40$  استفاده می شود.

2- علاوه بر سرم فیزیولوژی می توان لام مرطوب تهیه شده در مرحله قبل را با **لوگول** با رقت 1:5 تهیه کرد که از نظر وجود واکوئل‌های گلیکوژنی کمک کننده می باشد. بهتر است از لوگل به طور مستقیم استفاده نشود چون احتمال تشکیل شکلی شبیه کلوخه وجود دارد.

3- روش **تغلیظ در فرمالین - اتر - استات**: این روش تخم های کرم و لاروها و به میزان کمتری تروفوزوئیت‌ها را بازیابی می کند. اساس وزن مخصوص است. پس از سانتریفیوژ، انگل های مدفوع سنگین تر می شوند و به صورت رسوب ته نشین می شوند.


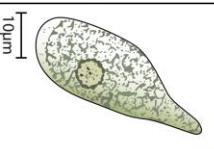
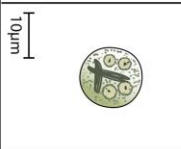
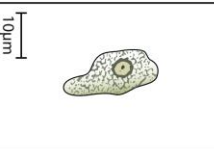

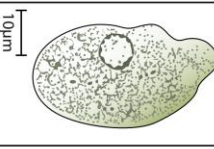
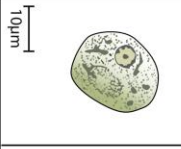

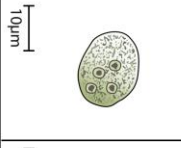
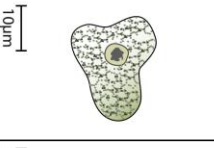
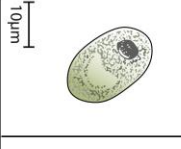
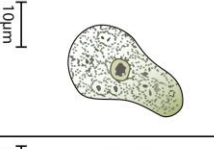

4- روش **تغلیظ شناورسازی روی**: روش مناسب برای تشخیص

تخم کرم‌ها و کیست انگل‌ها می باشد. در این روش سولفات روی منجر به قرار گرفتن تخم و کیست انگل در سطح می شود و سطح محلول بر روی لام جمع آوری و زیر میکروسکوپ بررسی می شود.

5- روش **تغلیظ شناورسازی sheather sugar**

6- رنگ آمیزی نمونه مدفوع:

روش های رنگ آمیزی برای مطالعه تخم و لارو انگل مناسب نیست اما برای بررسی تروفوزوئیت‌ها روش بسیار موثری می باشد.

Cyst	Trophozoite	
		<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>
		<i>Entamoeba hartmanni</i>
		<i>Entamoeba coli</i>
		<i>Entamoeba polecki</i>
		<i>Endolimax nana</i>
		<i>Iodamoeba bütschlii</i>
No cyst		<i>Dientamoeba fragilis</i>