تشخیص زودرس فاسیولیازیس در انسان با روش رسوب‌گیری متاسرکر

دکتر هرمزد اورمزدی*
دکتر سیدکامران سلطانی‌عربشاهی†
دکتر لامع اخلاقی‡
دکتر ابراهیم مظفری§

چکیده

فاسیولیازیس یکی از بیماریهای شناخته‌شدهٔ انگلی کبد و مشترک بین انسان و دامهای علفخوار است. از آنجائی‌که آسیب‌های کبدی این بیماری چشم‌گیر است، لذا برای درمان به موقع آن، تشخیص هرچه سریعتر و صحیح‌تر الزامی‌است. عامل بیماری فاسیولاهپاتیکا (و ندرتاً فاسیولا ژایگانتیکا) می‌باشد. در ایران، اهمیت فاسیولیازیس در استانهای‌مرطوب شمال، بیش از سایر مناطق کشور است. بیماری از طریق بلع متاسرکرها به همراه آب آشامیدنی و سبزیجات خام (کاهو، پونه، خالواش، ترهٔ وحشی و ...) و استقرار کرم بالغ در مجاری صفراوی ایجاد می‌گردد. مهمترین علائم بیماری عبارتند از : تب، قولنج‌های صفراوی، ائوزینوفیلی و اختلالات گوارشی و آلرژیائی (Allergic). البته در انواع نابجا (Ectopic) علائم بیماری متغیر خواهدبود.

تشخیص بیماری معمولاً بر مبنای علائم بالینی و اطلاعات همه‌گیرشناختی است که برای تأیید از روش‌های انگل‌شناختی و سرم‌شناختی (Serologic) استفاده می‌شود. نظر به اینکه آزمونهای انگل‌شناختی فقط در ۳۰ درصد از موارد قطعیت دارند و در مقابل، روش‌های سرم‌شناختی دارای ضریب دقت تشخیص بسیار زیادی هستند، برای اولین بار در ایران از آزمون رسوب‌گیری (Precipitation) متاسرکر برای تشخیص فاسیولیازیس استفاده گردید. برای این منظور متاسرکرهای پرورش‌یافته در آزمایشگاه به عنوان آنتی‌ژن اصلی با نمونه‌های سرم بیماران فاسیولیائی و افراد سالم (شاهد) و با رقت‌های $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{10}$ به مدت ۲۴،۶ و ۴۸ ساعت، در شرایط آزمایشگاه خوابانده (Incubated) شدند. سپس چگونگی واکنش‌های رسوب‌گیری مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه حساسیت و ویژگی آزمون در رقت $\frac{1}{5}$ بیشتر از دیگر رقت‌ها بوده، به ترتیب ۹۵ و ۱۰۰ درصد بود. لذا نظر به سادگی کار و عدم نیاز به هزینه‌های گزاف و کمک به تشخیص زودرس بیماری، این آزمون می‌تواند در هر نقطه از کشور مورد استفاده قرار گیرد و حتی کیت آن ساخته شود. بیماران فاسیولیائی که با آزمون رسوب‌گیری متاسرکر مثبت تشخیص داده شدند، به سبب عدم دسترسی به نایتازوکساناید به ناچار با ترایکلابندازول درمان شدند.

کلید واژه‌ها: ۱- فاسیولا هپاتیکا ۲- فاسیولیازیس ۳- رسوب‌گیری متاسرکر

این مقاله بر اساس پایان‌نامه «مظفری، ابراهیم. تشخیص زودرس فاسیولیازیس با روش ترسیبی متاسرکر (پایان‌نامهٔ دکتری علوم آزمایشگاهی). به راهنمائی دکتر هرمزد اورمزدی. تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، دانشکدهٔ پیراپزشکی، ۱۳۷۷» تهیه و تنظیم شده‌است.

* استاد انگل‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران
† دانشیار داخلی ، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران
‡ استادیار انگل‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران
§ دکتر علوم آزمایشگاهی، درمانگاه آستانهٔ حضرت عبدالعظیم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Saturday, October 15th 2022

مقدمه

فاسیولا هپاتیکا یکی از ترماتودهای انگلی مشترک بین انسان و دام (بخصوص دام‌های علخوار نشخوارکننده) است. آلودگی به این انگل از طریق مصرف آب، سبزیجات خام، سالادی و آبزی آلوده ایجاد می‌شود. فاسیولیازیس در بسیاری از نقاط جهان، بخصوص در نقاطی که دامداری به روش به اصطلاح سنتی و محلی رایج است، به عنوان یکی از معضلات بیماریهای انگلی انسان و دام گزارش شده‌است.

در ایران، استانهای شمالی کشور را می‌توان از مناطق مساعد برای گسترش و ابتلا به بیماری دانست. زیرا دما و رطوبت مناسب محیط، چرای آزاد دام‌ها و آلودگی آب آشامیدنی، سبزیجات و علوفه به متاسرکر (مرحلهٔ عفونت‌زائی فاسیولا هپاتیکا)، شرایط آلودگی و آلوده‌سازی مکرر را فراهم آورده‌است [۱،۵،۶].

از آنجائی که تأخیر در تشخیص و درمان به موقع می‌تواند آسیب‌های جدی به کبد میزبان وارد نماید، بیماری از نظر پزشکی و دامپزشکی حائز اهمیت فراوان می‌باشد. اگرچه در زمینهٔ تشخیص، مطالعات گسترده‌ای صورت گرفته است[۱۳،۱۵]، اما هنوز روش تشخیص آزمایشگاهی مرسوم، جستجوی تخم‌نگل در مدفوع است که دارای خطاهای چشم‌گیری به شرح زیر می‌باشد:

۱) تخم‌انگل معمولاً زودتر از هفته‌های ششم تا هشتم پس از آلودگی در مدفوع یافت نمی‌شود و این مستلزم استقرار کرم بالغ در مجاری صفراوی و تخم‌ریزی است.

۲) در انسان به سبب کمی تعداد کرم‌ها در مجاری صفراوی و در نتیجه کم‌بودن تعداد و ریزش تخم، معمولاً تخم‌انگل در مدفوع میزبان در بیش از ۳۰٪ موارد مشاهده نمی‌شود[۵]. در یک مطالعه، پژوهشگران توانستند تخم انگلی را فقط در مدفوع ۷ نفر از ۱۶ بیمار مبتلا به فاسیولیازیس قطعی پیدا کنند، در حالی که آزمونهای سرم‌شناختی *(Serologic)* در هر ۱۶ نفر مثبت بود.

۳) اگر انگل در اعضائی به غیر از مجاری صفراوی مستقر باشد (یعنی نابجا *[Ectopic]* باشد)، با آزمایش مدفوع نمی‌توان به تشخیص قطعی رسید.

۴) اگر تخم انگل در مدفوع بیمارانی که جگر خام خورده‌اند یافت شود، نمی‌تواند دال بر تشخیص فاسیولیازیس باشد و نیاز است تا بیمار چند روز قبل از مراجعه به آزمایشگاه، از گوشت و جگر استفاده نکند.

با توجه به نواقص آزمایش مدفوع در تشخیص فاسیولیازیس، ضرورت استفاده از آزمونهای سرم‌شناختی *(Serologic)* جهت تشخیص این بیماری مورد توجه متخصصان می‌باشد. در این راستا از آزمونهای تثبیت مکمل *(CFT)*، هماگلوتیناسیون غیرمستقیم *(IHA)* و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم *(IIFT)* استفاده شد. پاسخهای سرم‌شناختی مناسبی از این آزمونها در برابر آنتی‌ژنهای دفعی - ترشحی *(E/S)* کرم بالغ، در گوسفندانی که به طور تجربی به فاسیولا هپاتیکا آلوده شده بودند، بدست آمد[۸]. در این مطالعات کلیهٔ آزمونها از هفته‌های دوم و سوم پس از آلودگی مثبت بودند. پژوهشگران نشان دادند که میزان عیار پادتن در سرم بیماران در هفته‌های ششم تا هشتم به حداکثر می‌رسد، تا ۱۵ هفته ادامه می‌یابد و پس از درمان قطعی سیر نزولی به خود می‌گیرد.

به دنبال پژوهش برای تشخیص فاسیولیازیس با روشهای ایمونوسرولوژیکی، در یک بررسی، روشهای الایزا، کانترایمونوالکتروفورز و آزمایش مدفوع با روش کاتو *(Kato)* بر روی موشهاو خرگوشهای آلوده شده به فاسیولا هپاتیکا مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داده شد که تشخیص فاسیولیازیس با آزمونهای سرم‌شناختی *(serologic)* یادشده بسیار حساس‌تر و دقیق‌تر از روش آزمایش مدفوع برای دیدن تخم انگل است[۱۴]. در این پژوهش نشان داده شده‌است که میزان پادتن *(Antibody)* موجود در سرم میزبان آلوده با شدت آلودگی رابطهٔ مستقیم دارد و با روش الایزا حداکثر میزان جذب پادتن در هفته‌های ششم و هشتم پس از آلودگی است. در مطالعه‌ای دیگر که پادتنهای *(Antibodies)* دفعی - ترشحی *(Excretory-secretory[E/S])* انگل با روش الایزا مورد ارزیابی قرار گرفت، نشان داده شد که روش تشخیص با الایزا کاملاً اختصاصی است و از حساسیت و ویژگی ۹۵٪ به بالا برخوردار است [۱۰].

در بین روش‌های سرم‌شناختی *(Serologic)*، آزمون

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349_1.html on Saturday, October 15th 2022

رسوب‌گیری با استفاده از متاسرکرهای فاسیولاهپاتیکا (Fasciola Hepatica metacercaria precipitaton test) برای اولین‌بار، در ایران برای تشخیص فاسیولیازیس طراحی شد. این آزمون قبلاً به وسیلهٔ Hillyer [۱۲] برای تشخیص شیستوزوما مانسونی و Roth[۲] برای تشخیص ترشینوز مطرح شده‌بود. طراحی آزمون فوق در ایران برای دستیابی به اهداف زیر می‌باشد:

الف) تشخیص زودرس فاسیولیازیس

ب) اقتصادی بودن این روش در مقایسه با سایر روش‌ها

ج) امکان غربال‌گری بیماری در انسان و دام

د) امکان تهیه کیت‌های تشخیصی

روش بررسی

به طور کلی برای انجام دادن این آزمایش به متاسرکر، سرم بیماران حقیقی مبتلا به فاسیولیازیس و سرم افراد سالم (به عنوان شاهد) نیاز بود.

الف) متاسرکر: در این مطالعه، متاسرکر مورد نیاز از بخش انگل‌شناسی موسسهٔ رازی حصارک تهیه شد، اما باید دانست که پرورش متاسرکر در هر آزمایشگاهی قابل اجرا است. به همین دلیل در اینجا چگونگی پرورش و آماده‌سازی متاسرکرهای مورد استفاده به طور خلاصه توضیح داده می‌شود.

بعد از تهیهٔ کبدهای گوسفندی آلوده به فاسیولا هپاتیکا از کشتارگاهها، کرمها از مجاری صفراوی آنها استخراج شدند. کرمها پس از شتسشو، به یک ظرف پتری (Petri dish) حاوی سالین فیزیولوژیائی منتقل شدند. کرمها در زیر لوپ (استریومیکروسکوپ) با روش میکروآناتومی باز شدند. سپس تخمها از رحم کرمها خارج‌شده در ظرف پتری دیگری که حاوی آب تمیز است، جمع‌آوری شدند. ظرف پتریِ حاوی تخمهای فاسیولا هپاتیکا در گرمخانه‌ای (Incubator) با دمای ۲۵ درجهٔ سانتیگراد نگهداری شدند. هر روز ظرف پتری برای مشاهدهٔ خروج میراسیدیوم از تخمها مورد بررسی قرار می‌گرفت. از روز پانزدهم، میراسیدیوم‌ها از تخم خارج شده، در آب ظاهر می‌شدند. مرحلهٔ بعد آلوده‌سازی حلزونهائی بود که میزبان واسطه هستند (از نوع لیمنهآ [Lymnaea] ترونکاتولا و گدروزیانا). برای این کار از لوله‌های همولیز، که تا دوسوم حجم آن آب بود، استفاده شد و در هر لوله، یک عدد حلزون گذاشته شد. برای آلوده‌کردن هر لوله، باکمک پیپتهٔ (Pipette) پاستور، دو تا سه عدد میراسیدیوم از طرف پتری برداشته، به آن انتقال داده می‌شد. میراسیدیوم‌ها در عرض ۲-۳ ساعت وارد بدن حلزون می‌شدند. سپس حلزونهای آلوده‌شده به تشتک آب جداگانه‌ای انتقال داده می‌شدند. هر ۲ روز یکبار، آب تشتک تعویض شده، از پودر کاهو یا جلبک سترون (Sterile) برای تغذیهٔ آنها استفاده شد. حلزونها در دمای مناسب زیست که ۲۱±۲ درجهٔ سانتی‌گراد است، نگهداری می‌شدند.

اولین گروه سرکرها ۷۱ وز پس از آلودگی حلزون‌ها آزاد شدند. برای جمع‌آوری متاسرکرها، از بشرهای شیشه‌ای به قطر ۱۵ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر استفاده شد. برای راحتی کار، قبلاً به دیوارهٔ بشر یک ورقهٔ نازک نایلونی چسبانده شد تا متاسرکرها به آن بچسبند. در پایان کار، ورقهٔ نایلونی مذکور از داخل بشر خارج شده، پس از شمارش متاسرکرها، در داخل یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده می‌شد. متاسرکرها تا هنگام نیاز در این یخچال نگهداری می‌شدند. در حین پرورش متاسرکر نکات زیر مورد توجه قرار گرفت:

۱- تمام مراحل پرورش به وسیلهٔ لوپ (استریومیکروسکوپ) تحت نظر بودند.

۲- اولین متاسرکر ۷۱ روز پس از آلودگی مشاهده شد.

۳- میزان تلفات حلزون‌ها ۱۷٪ بود.

۴- میانگین متاسرکرهای جمع‌آوری شده از هر حلزون ۳۲۳۲ عدد بود.

۵- متاسرکرها در شرایط نگهداری شده بیش از یکسال زنده بودند.

ب) تهیهٔ سرم: در طی یکسال مطالعه (۱۳۷۶-۱۳۷۷) از ۲۰ بیمار مبتلا به فاسیولیازیس قطعی، ساکن در بندر انزلی و تهران، که دارای علائم بیماری، علائم بالینی اختصاصی، دفع تخم انگل و آزمون سرم‌شناختی (Serologic) مثبت بودند خونگیری به عمل آمد. سپس سرم آنها جداشده، تا قبل از

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349.html on Saturday, October 15th 2022

آزمایش در فریزر نگهداری شد. تعداد ۲۰ نمونه سرم خون نیز از افرادی که از هر جهت سالم و عاری از آلودگی تشخیص داده شده بودند، به عنوان شاهد تهیه شده، تا قبل از آزمایش در فریزر نگهداری شد.

ج) روش آزمایش : ابتدا سرم‌ها را به نسبت $\frac{1}{15}$ و $\frac{1}{10}$ با سالین فیزیولوژیائی *(Normal saline)* رقیق نمودیم. سپس تعداد ۱۰ عدد متاسرکر را به کمک انبرک *(Forceps)* و لوپ آزمایشگاهی جدا نموده، پس از شستشو با سالین فیزیولوژیائی در داخل لام گوددار *(Glass cavity slide)* قرار دادیم. برای این کار از دستکش‌های یکبار مصرف استفاده شد و دقتهای لازم به کار گرفته شد تا موجبات آلودگی فراهم نشود.

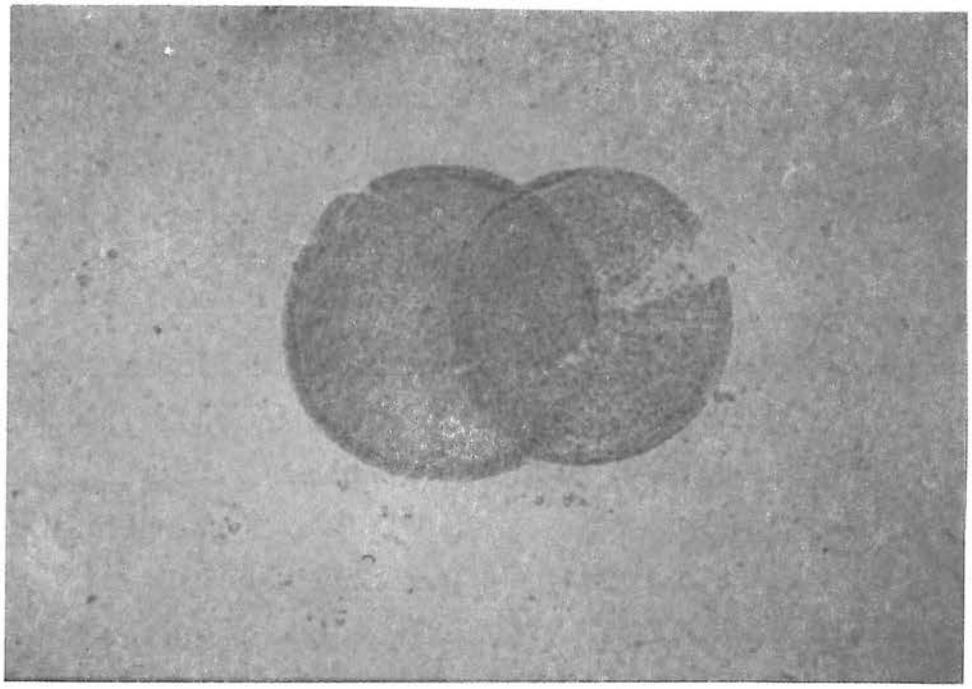
از سرم‌های رقیق‌شده (به رقت‌های $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{10}$ افراد بیمار و شاهد به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه‌گیر *(Sampler)* به لام‌های گوددار حاوی متاسرکر اضافه کردیم. لام‌ها را در داخل اطاقک مرطوب و در دمای آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت نگهداری کردیم. لام‌ها را پس از ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت، برای مشاهدهٔ رسوب در اطراف متاسرکرها در زیر میکروسکوپ نوری معمولی با بزرگنمائی ۱۰ و ۴۰ مورد بررسی و ارزشیابی قرار دادیم.

یافته‌ها

از آزمایش رسوب‌گیری *(Precipitation)* متاسرکرها در بیماران و گروه شاهد به یافته‌های زیر دست پیدا کردیم:

۱) گروه شاهد: از ۲۰ نمونه سرم شاهد متعلق به افراد سالم در هر دو رقت $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{10}$ پس از ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت خواباندن *(Incubation)*، ۱۹ مورد کاملاً منفی بود و تنها یک مورد مشکوک مشاهد شد که با تکرار آزمایش گرایش منفی آن مشخص شد. لذا در هر ۲۰ مورد پاسخ منفی تأیید شد (تصویر ۱).

۲) بیماران : به طور کلی رسوب اطراف متاسرکرها در رقت $\frac{1}{10}$ به مراتب کمتر از رقت $\frac{1}{5}$ بود (تصویرهای ۲ و ۳). پس از ۲۴ ساعت خواباندن *(Incubation)* رسوب در اطراف متاسرکرها در هر دو رقت قابل ملاحظه بود که با ادامهٔ خواباندن تا ۴۸ ساعت، میزان رسوب به حداکثر خود می‌رسید (تصویر ۴).



تصویر ۱- نمونهٔ منفی متاسرکر با رقت $\frac{1}{5}$ از سرم شاهد سالم با عدسی ۱۰ میکروسکوپ نوری پس از ۴۸ ساعت خواباندن *(Incubation)*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349_1.pdf on Saturday, October 15th 2022

از ۲۰ نمونه سرم افراد مبتلا به فاسیولیازیس قطعی، ۱۹ مورد در هر ۳ زمان، یعنی ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از خواباندن *(Incubation)*، مثبت بودند و تنها یک مورد در هر ۳ زمان فوق منفی بود. محاسبات آماری و تعیین میزان حساسیت و ویژگی آزمایش به قرار زیر می‌باشد:

الف – حساسیت: همان طور که گفته شد، از ۲۰ بیمار مورد مطالعه، آزمایش رسوب‌گیری در ۱۹ مورد مثبت بود و تنها یک مورد منفی کاذب مشاهده گردید. حساسیت *(Sensitivity)* آزمایش با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{حساسیت} = \frac{\text{مثبت حقیقی (مث ح)}}{\text{مثبت حقیقی (مث ح) + منفی کاذب (من ک)}} \times ۱۰۰$$

مث ح = ۱۹، من ک = ۱، مث ح + من ک = ۲۰

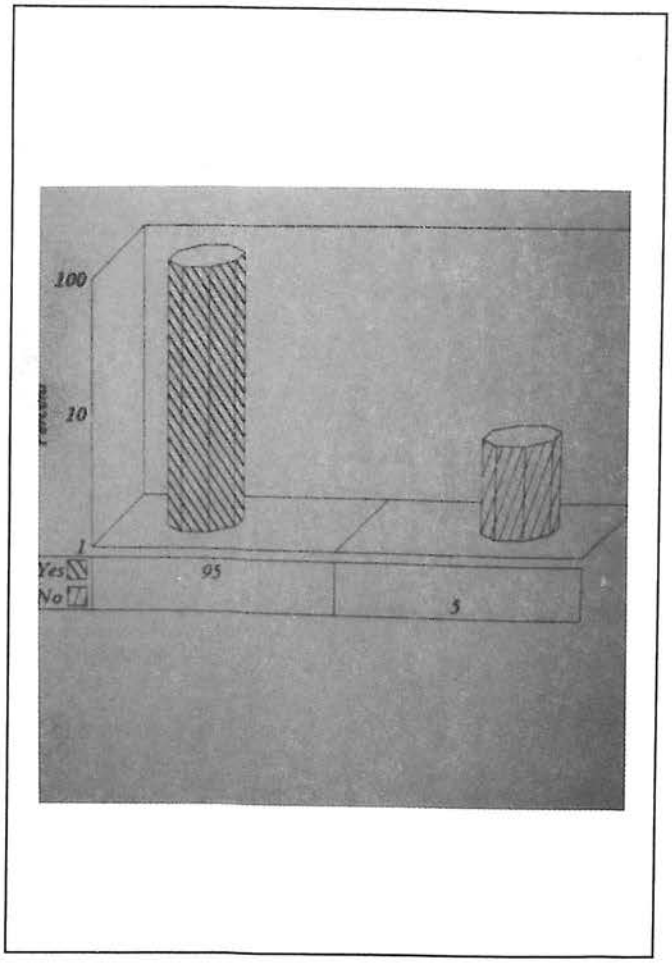
لذا حساسیت آزمایشهای انجام‌شده برابر ۹۵٪ می‌باشد (نمودار ۱).

ب – ویژگی : همان‌طور که گفته شد از ۲۰ نفر شاهد سالم مورد مطالعه، آزمایش رسوب‌گیری در ۱۹ مورد منفی و در یک مورد مشکوک بود که با تکرار آزمایش گرایش منفی آن مشخص شد. ویژگی *(Specificity)* آزمایش با فرمول زیر محاسبه می‌شود.

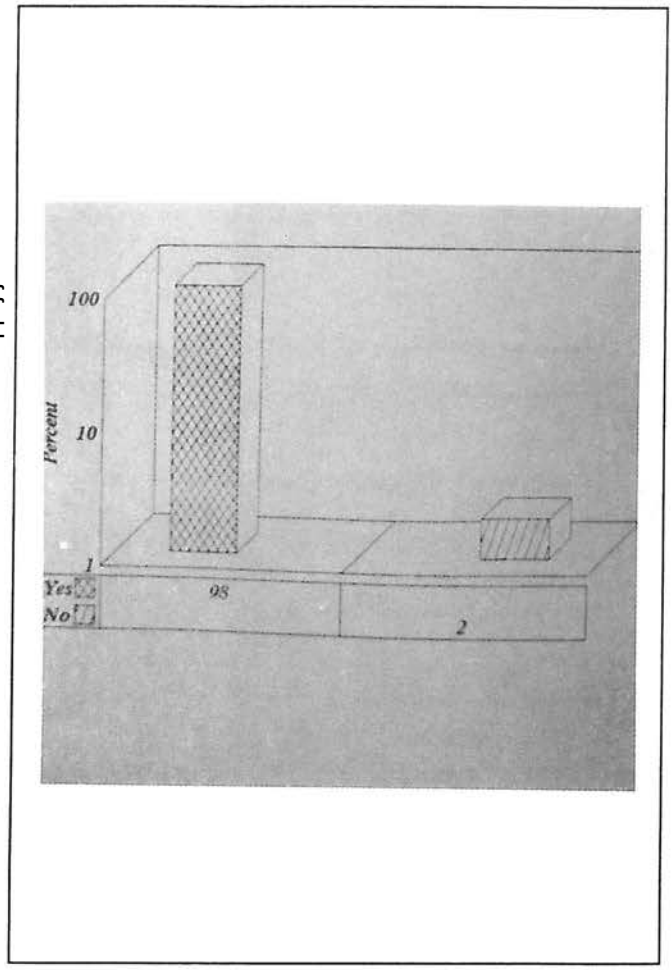
$$\text{ویژگی} = \frac{\text{منفی حقیقی (من ح)}}{\text{منفی حقیقی + مثبت کاذب (مث ک)}} \times ۱۰۰$$

من ح = ۲۰، مث ک = ۰، من ح + مث ک = ۲۰

لذا ویژگی آزمایش انجام‌شده برابر ۱۰۰٪ است. اگر یک مورد مشکوک (مثبت کاذب) با گرایش منفی را در محاسبه بگنجانیم ویژگی این آزمایش برابر ۹۸٪ می‌شود (نمودار ۲).

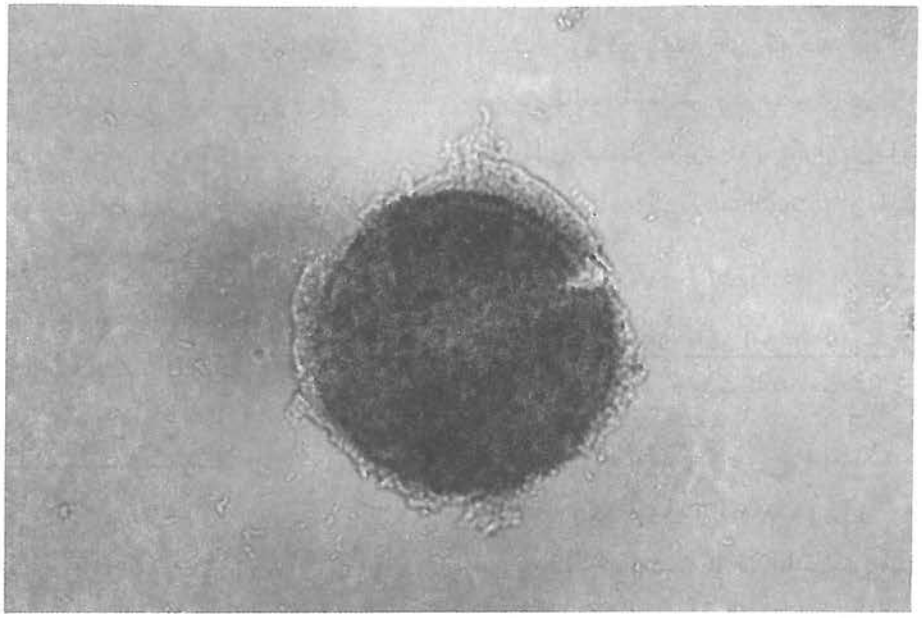


نمودار ۱- حساسیت آزمون رسوب‌گیری *(Precipitation)* متاسرکر فاسیولا هپاتیکا در تشخیص فاسیولیازیس انسانی

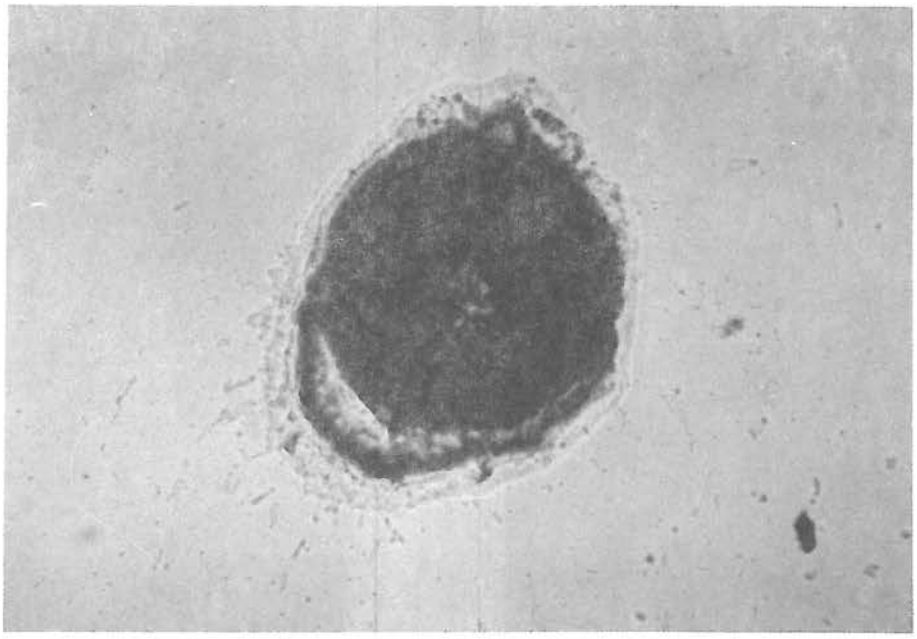


نمودار ۲- ویژگی آزمون رسوب‌گیری *(Precipitation)* متاسرکر فاسیولا هپاتیکا در تشخیص فاسیولیازیس انسانی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349.html on Saturday, October 15th 2022

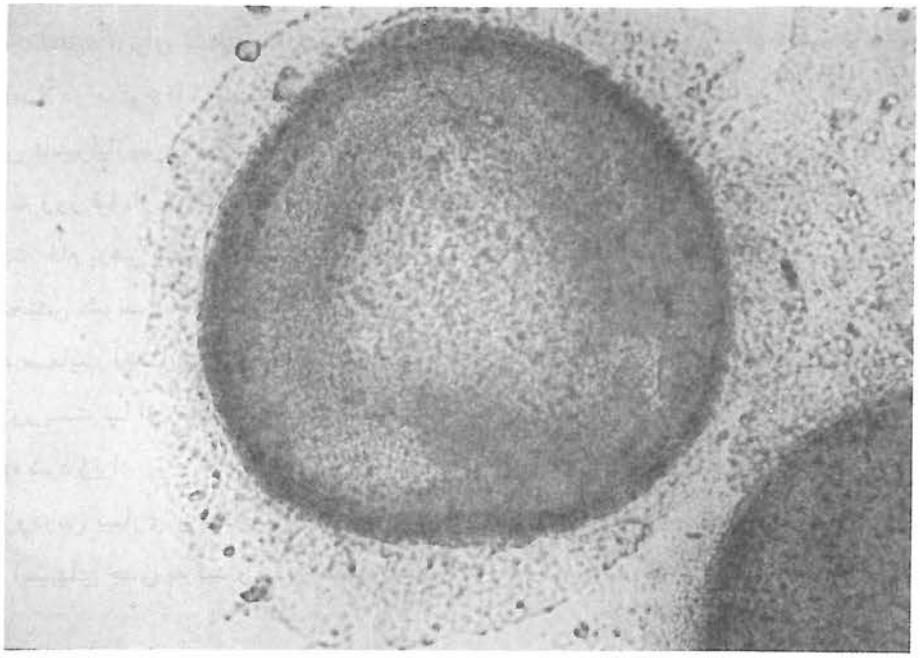


تصویر ۲- نمونهٔ مثبت متاسرکر با رقت $\frac{۱}{۱۰}$ سرم بیمار با عدسی ۱۰ میکروسکپ نوری پس از ۲۴ ساعت خواباندن *(Incubation)*



تصویر ۳- نمونهٔ مثبت متاسرکر با رقت $\frac{۱}{۵}$ سرم بیمار با عدسی ۱۰ میکروسکپ نوری پس از ۲۴ ساعت خواباندن *(Incubation)*

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349_1.pdf on Saturday, October 15th 2022
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]



تصویر ۴- نمونهٔ مثبت متاسرکر با رقت $\frac{۱}{۵}$ سرم بیمار سالم با عدسی ۴۰ میکروسکپ نوری پس از ۴۸ ساعت خواباندن *(Incubation)*

بحث

فاسیولا هپاتیکا یکی از مهمترین ترماتودهائی است که میزبان واسطه دارد. این ترماتود در مجاری صفراوی انسان و دام ساکن‌شده، ایجاد فاسیولیازیس کبدی می‌کند. در صورتی که این انگل به بافتهائی خارج از جایگاه طبیعی خود مانند مغز، نخاع، ریه‌ها، غدد تیروئید، عضلات چشم و غیره تهاجم کند، موجب فاسیولیازیس نابجا *(Ectopic)* می‌شود[۲،۱].

طول عمر کرم قابل توجه است، به طوری که در گوسفند تا ۵ سال و در انسان تا ۱۳ سال گزارش شده است. همچنین نسبت بیماری در سفیدپوستان، به ویژه در بزرگسالان و زنان بیشتر است. تعداد کرم در کبد گوسفند خیلی زیاد است اما در انسان بسیار معدود است و تنها در یک گزارش تعداد آن ۲۲ عدد ذکر شده است[۱]. فاسیولیازیس انسانی سالها بود که در ایران به صورت تک‌گیر *(Sporadic)* وجود داشت[۴،۳]. اما از سال ۱۳۶۷ در استان گیلان، بخصوص در بندر انزلی و لاهیجان، به صورت همه‌گیر *(Epidemic)* در آمد[۶]. زیانهای اقتصادی ناشی از فاسیولا هپاتیکا به علت تلفات دامی ناشی از آن و تنزل کیفیت پشم، گوشت و اندرونه *(Viscera)* (بخصوص جگر) بسیار هنگفت و حائز اهمیت است [۱]. از نظر پزشکی نیز در کنگرهٔ سراسری انگل‌شناسی سال ۱۳۶۸ در رابطه با این بیماری اهمیت بیماری، تشخیص، درمان و پیشگیری به موقع فاسیولیازیس به خوبی نشان داده شده است[۶].

نکته‌ای که توجه به آن ضروری می‌باشد این است که در حال حاضر در اکثریت قریب به اتفاق آزمایشگاههای دانشگاه ایران از روشهای انگل‌شناختی *(Parasitologic)* برای تشخیص این انگل استفاده می‌شود (مشاهدات یکی از نگارندگان در بازدید از آزمایشگاههای دانشگاه علوم پزشکی ایران) در حالی که روشهای سرم‌شناختی *(Serologic)* به دلایل ذیل بر روشهای انگل‌شناختی برتری دارند [۱۵].

۱) روش‌های انگل‌شناختی برای تشخیص زودرس بیماری مناسب نمی‌باشند زیرا تخم انگل زودتر از هفتهٔ ششم تا هشتم در مدفوع بیمار مشاهده نمی‌شود.

۲) به سبب کم بودن تعداد انگل در مجاری صفراوی (۱-۲ کرم بالغ در مجاری صفراوی انسان)، تعداد تخمهای دفع‌شده اندک است و معمولاً در کمتر از ۳۰ درصد موارد، آن هم ۶-۸ هفته پس از آلودگی یافت می‌شود[۹].

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349.html on Saturday, October 15th 2022

۳) در فاسیولیازیس نابجا (Ectopic) نمی‌توان از روشهای انگل‌شناختی (Parasitologic) برای تشخیص آلودگی استفاده کرد زیرا تخم انگل اصلاً در مدفوع قابل جستجو نیست.

۴) برای تشخیص فاسیولیازیس با روشهای انگل‌شناختی، بیمار موظف است سه روز قبل از مراجعه به آزمایشگاه از خوردن جگر و گوشت خام پرهیز کند تا تخم‌انگلهای گذری موجب اشتباه در تشخیص نشوند.

با توجه به معایب آزمایش مدفوع در تشخیص فاسیولیازیس، ضروریست تا از روش‌های سرم‌شناختی (Serologic) استفاده شود زیرا:

الف) تشخیص زودرس بیماری و متعاقب آن درمان به موقع مانع از بروز آسیبهای جدی به کبد و سایر اعضای بدن می‌شود.

ب) روش‌های سرم‌شناختی (Serologic) می‌توانند میزان حساسیت و ویژگی تشخیص را در مقایسه با روشهای انگل‌شناختی افزایش داده، به حدود صددرصد برسانند. این موضوع از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

ج) در تشخیص فاسیولیازیس نابجا (Ectopic) می‌توان با روشهای سرم‌شناختی به تشخیص قطعی دست یافت، در حالی که آزمایش مدفوع کمکی به تشخیص این نوع از فاسیولیازیس نمی‌کند.

د) با استفاده از روش‌های سرم‌شناختی، احتیاج به رعایت دستور غذائی خاص و حضور مکرر بیمار در آزمایشگاه نیست (جدول ۱).

با توجه به برتریهای روشهای سرم‌شناختی (Serologic) در تشخیص فاسیولیازیس، آزمایش رسوب‌گیری (Precipitation) با متاسرکر در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این روش از حساسیت و ویژگی بسیار زیادی ــ به ترتیب ۹۵٪ و ۱۰۰٪ ــ برخوردار است. لذا می‌توان با اطمینان خاطر از این روش در مطالعات غربالگری استفاده کرد. نتایج بدست آمده توسط روت[۲] و عثمان [۱۵] در مورد تشخیص فاسیولیازیس با استفاده از الایزا و تولیدات دفعی – ترشحی (E/S) این انگل با نتایج بدست آمده در مطالعهٔ حاضر همخوانی دارند. مزیت روش ارائه شده در مطالعهٔ حاضر بر روشهای سرم‌شناختی دیگر این است که این روش ارزانتربوده، نیاز به تهیهٔ کیت‌ها و دستگاههای گرانقیمت ندارد؛ به علاوه، در هر جائی قابل اجرا است. با استفاده از روش رسوب‌گیری متاسرکر می‌توان فاسیولیازیس حاد و مزمن را در ۴ هفته اول بیماری تشخیص داد. بنابراین می‌توان از این روش در مطالعات همه‌گیرشناسی (Epidemiology) و بیماریابی استفاده کرد.

جدول ۱- مقایسهٔ روشهای تشخیص انگل‌شناختی با سرم‌شناختی در فاسیولیازیس

روشهای انگل‌شناختی	روشهای سرم‌شناختی
برای تشخیص زودرس بیماری نمی‌توان از این روشها استفاده کرد	برای تشخیص زودرس بیماری بسیار مناسب هستند
با این روشها می‌توان حداکثر تا ۳۰٪ از موارد به تشخیص بیماری رسید	تقریباً در ۱۰۰٪ موارد با این روشها می‌توان به تشخیص رسید
برای تشخیص فاسیولیازیس نابجا از این روشها نمی‌توان استفاده کرد	برای تشخیص فاسیولیازیس نابجا بسیار مناسب هستند
احتیاج به چندین بار نمونه‌گیری دارد	فقط به یک بار نمونه‌گیری احتیاج است
احتیاج به دستور غذائی خاصی دارد	احتیاج به دستور غذائی خاصی ندارد

مطالعات انجام شده در تشخیص فاسیولیازیس انسانی و دامی با استفاده از پادتنهای (Antibodies) مونوکلونال و آنتی‌ژنهای دفعی – ترشحی [۱۱،۱۲،۱۵] نشان می‌دهند که پلی‌پپتیدهای ۱۷،۱۲/۴ و ۱۹/۴ کیلو دالتونی موجود در ترشحات متابولیکی متاسرکرها برای تشخیص مرحلهٔ حاد بیماری و پلی‌پپتیدهای ۲۵ و ۲۷ کیلودالتونی برای تشخیص مرحلهٔ مزمن بیماری حائز اهمیت هستند. در این مطالعات، واکنش آنتی‌ژنهای مذکور با سرم بیماران مبتلا به کرمهای گرد، پهن و برخی از تک یاختگان هم مورد آزمایش قرار گرفت و در هیچ مورد، نشانی از واکنشهای متقاطع مشاهده نشد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349_1.pdf on Saturday, October 15th 2022

در مطالعهٔ حاضر هم تنها یک مورد، پاسخ مثبت کاذب در گروه شاهد (افراد سالم) مشاهده شد که با تکرار آزمایش، گرایش منفی آن مشخص شد. پاسخ مثبت کاذب مذکور احتمالاً به سبب ضعف در مهارت و کمی دقت در انجام دادن عملیات آزمایشگاهی بوده‌است. درگروه بیماران هم یک مورد پاسخ منفی کاذب مشاهده شد. به نظر نویسندگان این مقاله ممکن است پاسخ منفی کاذب فوق به سبب ضعف در دستگاه ایمنی بیمار بوده باشد یعنی بیمار به علت ضعف در دستگاه ایمنی خود نتوانسته پادتنهای لازم را تولید کند. با این حال برای بررسی موارد مثبت و منفی کاذب به مطالعات و پژوهشهای بیشتری نیاز است.

قبل از درمان بیماران، تصمیم بر این بود تا برای اولین بار از قرص‌های ۵۰۰ میلی‌گرم نایتازوکساناید (Nitazoxanide) به عنوان داروی انتخابی (هر ۱۲ ساعت یکبار به مدت ۷ روز) استفاده شود[۱۶]. اما به سبب در دسترس قرار نگرفتن این دارو، به اجبار از داروی دامی ترایکلابندازول (Triclabendazole) استفاده شد (به مقدار ۱۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن در یک دوز) و بیماران بدون بروز عوارض جانبی، به ظاهر درمان شدند.

اینکه تا چه مدت پس از درمان کامل، آزمون رسوب‌گیری (Precipitation) با متاسرکر منفی می‌شود و همچنین به منظور تعیین میزان برتری داروی نایتازوکساناید به داروهای دیگر در درمان فاسیولیازیس، نیاز به مطالعهٔ گسترده‌ای است که در گروه انگل‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران تحت بررسی است.

تقدیر و تشکر

لازم می‌دانیم از همکاری کارکنان بخش انگل‌شناسی مؤسسهٔ رازی حصارک برای در دسترس قرار دادن متاسرکر فاسیولا هپاتیکا سپاسگزاری کنیم.

منابع

۱) ارفع، فریدون. کرم‌شناسی پزشکی. ج ۱، کرمهای مسطح. چاپ دوم . تهران، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۵۵. صص ۲۵-۳۶.

۲) اورمزدی، هرمزد. انگل‌شناسی پزشکی. ج ۲، کرم‌شناسی. چاپ دوم. تهران، انتشارات جهاد دانشگاهی مرکزی، ۱۳۷۴. صص ۱۱۴-۱۲۶، ۳۶۴-۳۷۴، ۴۰۴-۴۱۴.

۳) صائبی، اسماعیل. بیماریهای انگلی در ایران. ج ۲، بیماریهای کرمی. تهران، شرکت سهامی انتشارات و آموزش انقلاب اسلامی، ۱۳۷۲. صص ۵-۲۴.

۴) عزیزی، فریدون. اپیدمیولوژی بیماریهای شایع در ایران. تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۱۳۷۲. صص ۱۴۶-۱۴۸.

۵) مجموعهٔ سخنرانیهای بیماریهای عفونی و گرمسیری. تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، مهر ۱۳۷۷.

۶) مجموعهٔ مقالات اولین کنگره سراسری بیماریهای انگلی ایران. گیلان، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، ۱۳۶۸.

۷) مجموعهٔ مقالات دومین کنگره سراسری بیماریهای انگلی ایران. تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۶.

8) Bennett, CE, Jashua GW, Hughes DL: Demonstration of juvenile-specific antigens of Fasciola hepatica. Parasitol 68(5): 791-795, 1982.

9) el-Shabrawi M, el-Karaksy H, Okasha S, et al: Human fascioliasis associated with liver abscess. Korean J Parasitol 33(4): 395-398, 1997.

10) Epsino AM, Finaly CM: Sandwich enzyme-Linked immunosorbant assay for detection of excretory secretory antigens in humans with fascioliasis [published erratum appears in J Clin Microbiol 32(3): 860, 1994]. J Clin Microbiol 32(1):190-193, 1994.

11) Fagbeni BO, Aderilbighe OH, Guolbadia EE:The use of monoclonal antibody for the immunodiagnosis of Fasciola gigantica infection in cattle. Vet Parasitol 69(3-4): 231-240, 1997.

12) Hillyer GV: Identification of 17-kilodalton Fasciola hepatica immnodiagnostic antigent by the

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]
Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/article_10349.html on Saturday, October 15th 2022

enzyme-linked immunoelectrotransfer bolt technique J Clin Microbiol 26(10): 2048-2053, 1988.

13) Kim JB, Kim DJ, Huh S, et al: A human case of invasive fascioliasis associated with liver abscess. Korean J Pasasitol 33(4): 395-398, 1995.

14) Levine DM: Comparison of counter electrophoresis, ELISA and Kato fecal examination for the diagnosis of fascioliasis in infected mice and rabbits. Am J Trop Med Hyg 29(4): 602-608, 1980.

15) Osman MM, Shehab AY, el-Masry SA, et al: Evaluation of fasciola (E/S) product in diagnosis of acute human fascioliasis by IgM-ELISA. Trop Med Parasitol 46(2): 115-118, 1995.

16) Rossignol JF, Abaza H, Friedman H: Successful treatment of human fascioliasis with nitazoxanide. Trans R Soc Trop Med Hyg 92(1):103-104, 1998.

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on October 15th 2022

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]

EARLY DIAGNOSIS OF HUMAN FASCIOLIASIS BY METACERCARIA PRECIPITATION METHOD

*H. Oormazdi, PhD** *S. Soltani Arabshahi, MD†* *L. Akhlaghi, PhD ‡* *I. Mozafarie, PhD§*

Downloaded from http://jiums.tums.ac.ir/article_10349_en.html on Saturday, October 15th 2022

ABSTRACT

Fascioliasis is a cosmopolitan parasitic disease common between human and herbivorous animals. Since the disease leads to significant liver damage, it should be diagnosed and treated more quickly and more accurately. The etiologic agent is Fasciola hepatica (and rarely Fasciola gigantica).

In Iran Fascioliasis is more prominent in the humid north provinces as compared to other areas. The disease initiates with ingestion of drinking water and raw vegetables (lettuce, watercress and ...) that harbor metacercariae. Then, the larvae reside and mature in biliary ducts.

The most common symptoms are fever, right upper quadrant abdominal pain, eosinophilia, gastrointestinal disorders and allergic reactions.

Diagnosis is usually based on clinical symptoms and epidemiologic informations. It is confirmed by parasitologic and serologic methods. As parasitologic tests are only definitive in 30% of cases, and serologic methods are highly diagnostic and accurate, we used metacercaria precipitation test for early diagnosis of human fascioliasis for the first time in Iran. We used in vitro-bred metacercariae as major antigens. They were incubated with serum samples of fasciola-infected patients and healthy individuals (control group). Different dilutions of 1/5 and 1/10 were used. Precipitation reactions were assessed after 6,24 and 48 hours. In this study, the sensitivity and specificity of the test at 1/5 dilution were higher than other dilutions and were 95% and 100% respectively. Due to the simplicity and the lack of heavy expenditure, and since the test helps early diagnosis of disease, we suggest that this be used at any part of the country. Due to unavailabillity of nitazoxanide, our patients, with positive metacercaria precipitation test, were treated with triclabendazole which was fully effective.

Key Words: 1) Fasciola hepatica **2) Human fascioliasis**

3) Metacercaria

* *Professor of Parasitology, Iran University of Medical Sciences and Health Services*

† *Associate Professor of Medicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services*

‡ *Assistant Professor of Parasitology, Iran University of Medical Sciences and Health Services*

§ *Member of Clinical Laboratory, Astane-ye Hazrat-e Abdolazim Clinic*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-01]