Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

سنجش کارآیی روش کشت نوترینت آگار پلیت و روش رسوبی فرمالین–اتر در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس انسانی

بهاره نجمی(MSc)[1]- *عشرت بیگم‌کیا(PhD)[1]- مصطفی حسینی(PhD)[2]- ایرج موبدی(PhD)[1]- بهاره کامران رشانی(MSc)[1]

*نویسنده مسئول: گروه اتگل شناسی وقارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

پست الکترونیک: keiaeshr@tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۰۸/۳۰ تاریخ ارسال: ۹۵/۰۲/۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۱۷

چکیده

مقدمه: تریکوسترونژیلیازیس (trichostrongyliasis) بیماری مشترک انسان و دام بوده و نماتود تریکوسترونژیلوس(*Trichostrongylus*) که عمدتا انگل نشخوارکنندگان اهلی و وحشی است آن را ایجاد می‌کند. عفونت‌های خفیف در آزمایشگاه ممکن است نادیده گرفته شوند. تا کنون روش کشت نوترینت آگار پلیت که روش تشخیصی مناسبی در عفونت استرونژیلوئیدیازیس (strongyloidiasis) است، برای تشخیص تریکوسترونژیلیازیس ارزیابی نشده است.

هدف: ارزیابی کارایی روش کشت نوترینت آگار پلیت در تشخیص تریکوسترونژیلیازیس انسانی در مقایسه با روش رسوبی فرمالین-اتر.

مواد و روش‌ها: در سال های ۹۳-۱۳۹۲، روی هم ۹۷۰ نمونه مدفوع تازه انسانی از استان‌های مازندران، گیلان، خوزستان و مراجعان به آزمایشگاه کرم‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران گردآوری شد و به روش کشت در محیط نوترینت آگارپلیت و روش رسوبی فرمالین-اتر مطالعه شد.

نتایج: با در نظر گرفتن روش‌های انگل‌شناسی به عنوان استاندارد طلایی، کشت آگار ٤٥ مورد مثبت واقعی را شناسایی کرد. حساسیت روش کشت نوترینت آگارپلیت و روش رسوبی فرمالین-اتر به ترتیب ۸۸/۲۳ ٪و ٦٢/٧٥ ٪ و ویژگی آنها به ترتیب ۹۸/۱۲ ٪و ۱۰۰ ٪تعیین شد.

نتیجه‌گیری: روش کشت نوترینت آگار پلیت می‌تواند برای جداسازی لارو تریکوسترونژیلوس و تشخیص آلودگی بکار رود. حساسیت این روش از روش فرمالین-اتر بیشتر اما ویژگی آن کمتر است.

کلید واژه‌ها: تریکوسترونژیلوس /فرمالین-اتر/ کشت نوترینت آگارپلیت

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و پنجم، شماره ۱۰۰، صفحات: ٦٥-٥٧

مقدمه

تریکوسترونژیلیازیس(trichostrongyliasis) بیماری مشترک انسان و دام است که توسط نماتد روده‌ای جنس تریکوسترونژیلوس(*Trichostrongylus*) ایجاد می‌شود. تریکوسترونژیلوس عمدتاً انگل نشخوارکنندگان اهلی و وحشی است. بیش از ۳۰ گونه از این انگل در سراسر دنیا برای پستانداران آلوده‌کننده هستند که ۱۰ گونه از آنها در انسان نیز گزارش شده‌اند(۱). در ایران نیز گونه‌های گوناگونی از این نماتود در دام ها (۲) و همچنین انسان(۳) گزارش شده‌است. عفونت‌های انسانی در افرادی که تماس نزدیک با حیوانات آلوده دارند بیشتر است. نزدیک بودن محل نگهداری چارپایان با مسکن انسان‌ها سبب آلودگی بیشتر در ساکنان روستا می‌شود(٤). بیشینه آلودگی در دنیا در نواحی خاور نزدیک (مانند ایران، عراق و مصر)، خاور دور، کشورهای استقلال یافته شوروی سابق، استرالیا، افریقا و آمریکای جنوبی است (٥).

در انسان چنانچه تعداد کرم‌ها زیاد باشد اختلال روده‌ای به شکل اسهال و دردهای شکمی بروز می کند و ائوزینوفیلی گاهی به۸۰٪ نیز می‌رسد (٥). همچنین، گاهی سردرد، سرگیجه، تهوع و بی‌اشتهایی نیز وجود دارد (٤). در ایران هم درصد بالایی از موارد

۱.گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت،دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

انسانی این انگل گزارش شده‌است و هم گوناگونی گونه‌های زئونوز زیاد است(۵). گرچه در سالیان اخیر کاهش چشمگیر شیوع کرم‌های منتقل شونده از خاک در ایران مشهود است(٦)، اما تریکوسترونژیلوس به دلیل زئونوز بودن همچنان در جمعیت در معرض خطر وجود دارد و موارد انسانی در مطالعات اخیر در کشور گزارش شده‌است(۹-۷).

استفاده از روش‌های غیرحساس برای تشخیص آزمایشگاهی منجر به نادیده گرفته شدن برخی از موارد آلودگی به ویژه در عفونت‌های خفیف می‌شود یا ممکن است با بیماری‌های دیگر اشتباه شود. کارایی روش کشت مدفوع در محیط نوترینت آگار پلیت در مقایسه با دیگر روش‌های انگل‌شناسی در تشخیص استرونژیلوئیدیازیس(strongyloidiasis) ارزیابی شده و برتری این روش تایید شده‌است(۱۳-۱۰) اما کارایی این روش در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس انسانی تاکنون بررسی نشده است. بنابراین، این مطالعه با هدف مقایسه کارایی روش کشت مدفوع در محیط نوترینت آگار پلیت با روش رسوبی فرمالین-اتر، که کاربرد آن در آزمایشگاه‌های تشخیصی رایج است، برای تشخیص تریکوسترونژیلیازیس انسانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

گردآوری نمونه: این پژوهش ازنوع مقایسه تست‌ها بود و برای مقایسه دوروش کشت نوترینت آگارپلیت و روش رسوبی فرمالین-اتر در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلوس انسانی انجام شد. استاندارد طلایی نتایج روش‌های انگل‌شناسی بود. در جمع‌آوری نمونه‌های انسانی، استان‌هایی از ایران که بر پایه گزارش‌های گذشته(۵) آلودگی بالای تریکوسترونژیلیازیس انسانی در آنها وجود داشت در نظر گرفته شد و از افراد درمعرض خطربه ویژه دامداران روستاهای استان‌های مازندران، گیلان، خوزستان و همچنین مراجعان به آزمایشگاه کرم‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران اقدام به جمع‌آوری نمونه‌های مدفوع شد. مجموعاً ۹۷۰ نمونه از سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ جمع‌آوری و با هر دو روش آزمایش شد.

نمونه‌های تازه مدفوع نخست درپلیت‌های حاوی نوترینت آگار کشت داده شد وبخش دیگر نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰٪ در ظرف‌های درپیچ‌دار مناسب اندوخته شد. محیط‌های کشت و ظروف فرمالین‌دار پس از بسته‌بندی هرچه زودتر به آزمایشگاه کرم‌شناسی روده‌ای دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل شد. در صورتی که امکان انجام روش فرمالین-اتر در شهرستان محل نمونه‌گیری وجود داشت، رسوب‌گیری انجام و رسوب به دانشکده بهداشت برده می‌شد. در مورد نمونه‌های بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه کرم‌شناسی روده‌ای دانشکده بهداشت نیز آزمایش‌های تغلیظ فرمالین-اتر و کشت انجام شد. محیط‌ها از روزهای سوم تا هفتم بعد از کشت، روزانه به کمک استریومیکروسکوپ بررسی و نتایج ثبت می‌شد. نمونه‌های نگهداری شده در فرمالین ۱۰٪ نیز به کمک تکنیک رسوبی فرمالین-اتر بررسی شد.

روش کشت در محیط نوترینت آگار پلیت: حدود ۳ گرم نمونه مدفوع تازه بیمار در مرکز پلیت حاوی نوترینت آگار کشت داده شد. برای پیشگیری از برون‌رفت لاروها، پلیت‌ها داخل کیسه فریزر قرار داده شده و بسته می‌شد. در نمونه‌های قوام یافته و سفت، به آنها آب مقطر استریل اضافه شد.

پلیت‌ها در دمای ۳۲-۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفت. از روز سوم تا هفتم پس از کشت روزانه محیط‌ها بررسی شده و در صورت وجود لارو و ردپای آن، سطح پلیت با PBS شستشو داده شده و بعد از سانتریفوژ در دور ۵۰۰ به مدت دو دقیقه، لاروها رسوب داده می‌شدند. لاروهای جدا شده تا هنگام بررسی میکروسکوپی در الکل اتانول ۷۰ درجه نگهداری شدند.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

برای جداسازی لارو تریکوسترونژیلوس از لارو نماتودهای دیگر مانند گونه‌های رابدیتیس (*Rhabditis*)، استرونژیلوئیدس و کرم‌های قلابدار، لاروها بر روی لام قرار داده شده و چند قطره لاکتوفنل ساده یا رنگی بر روی آنها ریخته می‌شد. پس از آن که لاروها شفاف می‌شدند، با میکروسکوپ نوری خصوصیات مورفولوژی آن بررسی می‌شد.

بررسی مورفومتری لاروها و تخم‌ها، به کمک میکروسکوپ نوری کالیبره شده انجام و از آنها عکسبرداری شد. بر پایه ویژگی‌های مورفولوژی و مورفومتری لاروها و تخم‌ها و با استفاده از منابع معتبر کرم‌شناسی(۵و۱٤) تریکوسترونژیلوس از سایرنماتودها جدا شد.

تعیین پارامترهای اعتبار سنجی: دراین مطالعه نتایج آزمایش‌های کشت آگار و فرمالین–اتر براساس مثبت یا منفی بودن از نظر آلودگی به تریکوسترونژیلوس ثبت و با نرم‌افزارStata STATA Version 11.0) Corp, College Station, TX, USA) متغیرهای اعتبارسنجی دربردارنده حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی، درستی کلی، احتمال یا درست‌نمایی مثبت(Likelihood Ratio+) که به اختصار LR+ نامیده می‌شود و نسبت احتمال یا درست‌نمایی منفی(Likelihood Ratio-) که با اختصار LR- نامیده می‌شود، تعیین شد.

نتایج

نتایج در دو قسمت شامل ویژگی‌های مورفولوژی و متغیرهای اعتبارسنجی ارائه می‌شود.

ویژگی‌های مرفولوژی: در آزمایش فرمالین–اتر تنها تخم انگل دیده‌شد. بیشتر تخم‌ها در مرحله مورولا بودند. تخم در این گام بیضی شکل، ناقرینه و مانند تخم مرغ یک قطب آن باریک‌تر است و نسبت طول تخم به عرض آن نزدیک دو برابر است(شکل ۱). در برخی موارد در آزمایش فرمالین–اتر تخم حاوی لارو کامل نیز دیده‌شد(شکل ۲).

در کشت مدفوع در محیط نوترینت آگار در شرایط دمایی ۲۸ تا ۳۲ درجه سلسیوس لاروها در داخل تخم رسیده شده و از تخم خارج می‌شوند و بر محیط کشت حرکت می‌کنند. برای ارزیابی محیط‌های کشت، نخست ردپای احتمالی لاروها بر محیط کشت بررسی شد. این ردپا به صورت منحنی سینوسی در سطح محیط کشت دیده‌شد(شکل ۳). پس از شستشوی محیط با PBS و گردآوری و شفاف یا رنگ‌آمیزی لاروها، بررسی میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰و ٤۰ انجام شد که براساس آن لاروها به دو فرم رابدیتوئید (شکل ٤ و۵) یا فیلاری‌فـــرم(شکل ٦) دیده شدند. بیشتر لاروهای جدا شده از محیط کشت لارو فیلاری‌فرم بودند. لارو رابدیتوئید تریکوسترونژیلوس بدون غلاف و حدود ۳۰۰ میکرون طول دارد. مری ۱/٤ طول کل بدن است و در انتها تکمه مانند است(شکل ٤ و۵). لارو فیلاری‌فرم تریکوسترونژیلوس ٦۰۰ الی ۷۰۰ میکرون طول دارد. لارو دارای غلاف و انتهای نوک تیز دارد(شکل ٦).

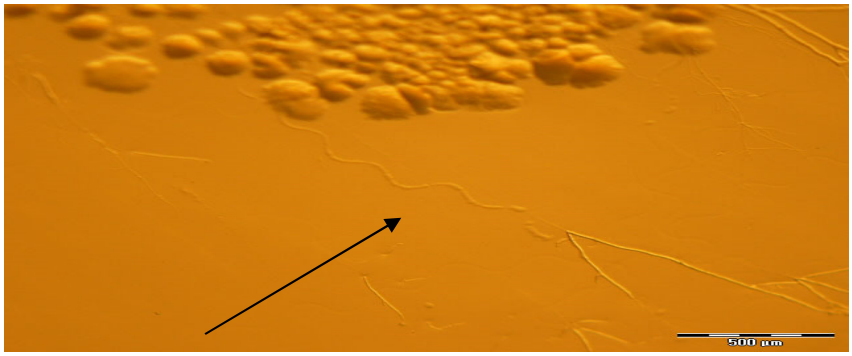
متغیرهای اعتبارسنجی: از مجموع ۹۷۰ نمونه‌آزمایش شده تعداد ۵۳ نمونه با روش کشت در محیط نوترنیت آگار و ۳۲ نمونه با روش فرمالین–اتر مثبت شدند. همچنین، ٤۵ نمونه به روش استاندارد طلایی(نتایج روش‌های انگل شناسی) مثبت واقعی شناسایی شدند. جدول ۱ مقایسه پارامترهای اعتبارسنجی روش کشت نوترینت آگارپلیت و روش رسوبی فرمالین–اتر در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس انسانی را نشان می‌دهد. بر اساس این جدول روش کشت نوترینت آگارپلیت حساسیت‌تر و روش فرمالین–اتر ویژگی بالاتری دارد.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

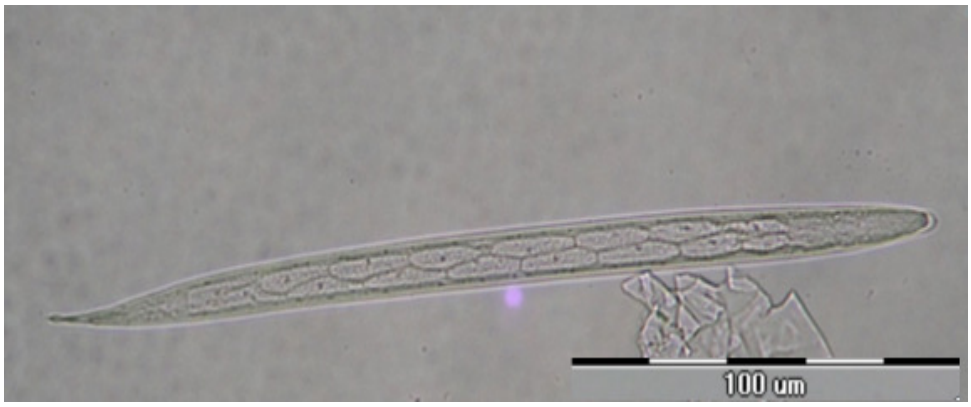
Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

شکل ۱. تخم تریکوسترونژیلوس در مرحله مورولا در رسوب فرمالین-اتر

شکل ۲. تخم تریکوسترونژیلوس حاوی لارودررسوب فرمالین-اتر

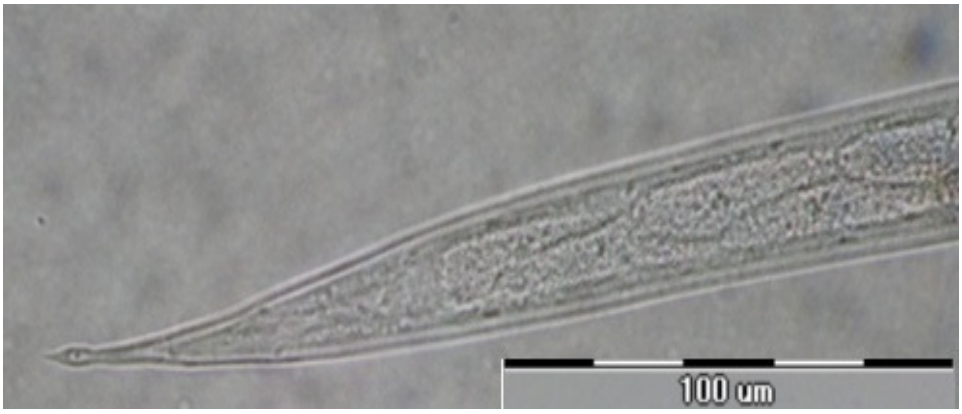


شکل ۳. ردپای سینوسی لارو تریکوسترونژیلوس در محیط کشت نوترینت آگار

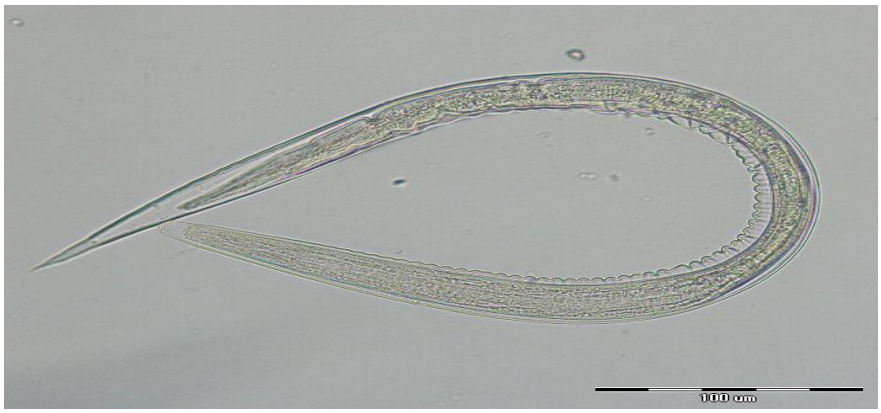


شکل ۴. لارو رابدیتوئید تریکوسترونژیلوس

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020



شکل ۵. قسمت خلفی لارو رابدیتوئید تریکوسترونژیلوس با انتهای تکمه‌ای مانند



شکل ۶. لارو فیلاریفرم تریکوسترونژیلوس دارای غلاف

جدول ۱. مقایسه متغیرهای اعتبارسنجی روش کشت نوترینت آگار و روش رسوبی فرمالین–اتر در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس انسانی

متغیر اعتبارسنجی / روش آزمایشگاهی	حساسیت (٪)	ویژگی (٪)	ارزش اخباری مثبت (٪)	ارزش اخباری منفی (٪)	صحت کلی(٪)	درستنمایی مثبت (٪)	درستنمایی منفی (٪)
کشت نوترینت آگار	۸۸,۲۳	۹۸,۱۲	۸۴,۹۰	۹۹,۳۴	۹۸,۶	۸۸	۰,۱۲
تغلیظ فرمالین–اتر	۶۲,۷۵	۱۰۰	۱۰۰	۹۷,۹۷	۹۸,۰۴	بسیار بالا	۰,۳۸

تعداد نمونه آزمایش شده = ۹۷۰

بحث ونتیجه‌گیری

تریکوسترونژیلوس یکی از نماتودهای انگلی زوئونوز است که انتشار جغرافیایی گسترده در جهان دارد. گونه-های متعددی از این انگل در حیوانات بیماری‌زا هستند. علفخواران نقش مهمی در انتقال تریکوسترونژیلوس به انسان دارند و افرادی که با دام سروکار دارند بیشتر در معرض ابتلای به تریکوسترونژیلیازیس هستند(٤). کشور ما یکی از مناطقی شایع تریکوسترونژیلوس است و

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

مطالعه در مورد این انگل در ایران پیشینه دارد(۱٦-۳،۱٤-۲). ایران یکی از کشورهایی است که تریکوسترونژیلوس انسانی با شیوع بالا از آن گزارش شده(۵) و تعداد گونه‌های گزارش شده در انسان نیز بالاست(۳). به سبب زوئونوز بودن تریکوسترونژیلوس و وجود منابع حیوانی عفونت، هنوز آلودگی در انسان به ویژه در افراد در معرض خطر که در تماس با محل نگهداری احشام هستند گزارش می‌شود. مطالعات سال-های اخیر مبنی بر رخداد عفونت‌های انسانی در استان-های خوزستان(۷و۱۷)، مازندران(۸) و گیلان(۹) دلیلی بر لزوم بکارگیری روش حساس در تشخیص تریکوسترونژیلیازیس است. بنابراین، در این مطالعه کارایی روش کشت مدفوع در محیط نوترینت آگار پلیت با روش رسوبی فرمالین-اتر سنجیده شده است. روش کشت نوترینت آگار ابتدا برای تشخیص استرونژیلوئیدیازیس شناسانده شد(۱۸) و سپس توسط محققان مختلف با روش های انگل شناسی مقایسه شد(۲۱-۱۹،۱۳-۱۰).در حال حاضر این روش یکی از روش‌های موثر در تشخیص استرونژیلوئیدس استرکورالیس است.

در این مطالعه ۹۷۰ نمونه مدفوع انسان از لحاظ وجود عفونت تریکوسترونژیلوس به روش‌های فرمالین-اترو کشت در محیط نوترینت آگار پلیت بررسی و حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت، منفی و صحت کلی روش-ها محاسبه و مقایسه شد. حساسیت و ویژگی روش کشت در محیط نوترینت آگار به ترتیب ۸۸/۲۳٪و ۹۸/۱۲٪ و برای روش رسوبی فرمالین-اتر به ترتیب ٦۲/۷۵٪ و ۱۰۰٪ تعیین شد. ارزش اخباری مثبت در روش کشت نوترینت آگار۸٤/۹۰٪ و در روش فرمالین-اتر ۱۰۰٪ بود. ارزش اخباری منفی در روش کشت نوترینت آگار ۹۹/۳٤٪ و در روش فرمالین-اتر ۹۷/۹۷٪ بدست آمد. صحت کلی روش نوترینت آگار ۹۸/٦٪ و روش فرمالین اتر ۹۸/۰٤٪ بود.

حساسیت روش نوترنیت آگاردر مطالعه حاضر بیش از حساسیت روش فرمالین- اتر بود که این نتیجه با نتایج حاصل از سایر مطالعات بر روی استرونژیلوئیدس همخوانی داشته‌است(۱۳-۱۰). Arakaki و همکاران (۱۲) در سال ۱۹۹۰ برای تشخیص استرونژیلوئیدس استرکورالیس روش‌های فرمالین-اتر را با روش کشت نوترینت آگار در دو منطقه از شهر Okinawa درژاپن مقایسه کردند. در مطالعه این محققان حساسیت روش کشت نوترینت آگار 4-2 بیشتر از روش فرمالین-اتر بوده است. آنان روش کشت نوترینت آگار را روشی مناسب برای مطالعات اپیدمیولوژی وکلینیکی معرفی کردند و اذعان داشتند که می‌توان از روی ردپای لارو، آلودگی به کرم‌های قلابدار و استرونژیلوئیدس استرکورالیس را از هم افتراق داد. این محققان بر این باورند که ردپای لاروهای قلابدار در محیط کشت نوترینت آگار ضخیم‌تر از ردپای لارو استرونژیلوئیدس استرکورالیس و نازک تر از کرم‌های آزادزی می باشد(۱۲). کیا و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که روش کشت در محیط نوترینت آگارپلیت ۲ برابر روش تغلیظ فرمالین-اتر در تشخیص استرونژیلوئیدس استرکورالیس حساس‌تر است(۱۳). Rayan و همکاران در سال ۲۰۱۲ (۲۰)، از روش‌های تغلیظ فرمالین-اتر، کشت هارادا-موری، تکنیک برمن، کشت در محیط نوترینت آگار پلیت و روشReal-time PCR برای تشخیص عفونت استرونژیلوئیدس استرکورالیس استفاده کردند. در آن مطالعه که ۱۱۵ نمونه مدفوع ارزیابی شده بود، ۱۱ نمونه(۹/٦٪) به روش‌هارادا-موری، ۱۳ نمونه(۱۱/۳٪) به روش فرمالین-اتر، ۱٦ نمونه(۱۳/۹٪) به کمک تکنیک برمن و ۱۸ نمونه(۱۵/۷٪) بوسیله کشت در محیط نوترینت آگارپلیت و ۲۳ نمونه(۲۰٪) به کمک روش Real-time PCR مثبت گزارش شد. در مطالعه آنان روش نوترینت آگار پلیت در بین روش‌های انگل‌شناسی حساسیت بیشتری داشت(۲۰). Intapan و همکاران در سال ۲۰۰۵ دو روش فرمالین-اتر و کشت نوترینت آگار

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

را در تشخیص استرونژیلوئیدس استرکورالیس مقایسه کردند. آنان روش کشت را برای مطالعات اپیدمیولوژی برتر یافتند و روش فرمالین-اتر را برای تایید تشخیص کلینیکی مناسب دانستند(۲۱).

در مطالعه ما ویژگی روش کشت در محیط نوترینت آگار۹۸/۱۲٪و برای روش فرمالین-اتر ۱۰۰٪ تعیین شد. این بدین معنی است که در تشخیص عفونت‌های توأم(mix-infections) قدرت فرمالین-اتر بیشتر از کشت نوترینت آگار است. در مطالعه حاضر ارزش اخباری مثبت در روش کشت ۸٤/۹۰٪ و در روش فرمالین-اتر ۱۰۰٪ می‌باشد. ارزش اخباری منفی در روش کشت ۹۹/۳٤٪ و در روش فرمالین-اتر ۹۷/۹۷٪ می‌باشد. صحت روش‌های مورد بررسی نشان‌داده‌است که صحت آزمون آگار پلیت(۹۸/٦٪) بیشتر از صحت روش تغلیظی فرمالین-اتر(۹۸/۰٤٪) است. در مجموع، حساسیت روش آگار پلیت بیشتر از روش فرمالین-اتر بوده و ویژگی روش فرمالین-اتر بیشتر از روش آگارپلیت بوده است.

در این مطالعه نسبت درست‌نمایی مثبت یا +LR با روش کشت ۸۸٪ و با روش فرمالین-اتر بسیار بالا بود. درست نمایی منفی یا-LR روش کشت ۰/۱۲٪ و روش فرمالین-اتر ۰/۳۸٪ بود. درست‌نمایی مثبت و منفی برخلاف ارزش اخباری، تحت تأثیر شیوع بیماری مربوطه قرار نمی‌گیرد و هر چه درست نمایی مثبت یک آزمایش بیشتر و درستنمایی منفی آن کمتر وبه صفر نزدیک‌تر باشد باشد دلیل بر مناسب بودن آن آزمایش است. لذا بر اساس نتایج این مطالعه روش کشت کارایی بیشتری از فرمالین-اتر در تشخیص تریکوسترونژیلیازیس انسانی دارد. روش آگار پلیت یکی از روش‌های تشخیصی می‌باشد که انجام آن آسان است، اما ممکن است در آلودگی‌های توأم افزون بر تریکوسترونژیلوس، آلودگی‌های دیگر منتقله از طریق خاک شامل استرونژیلوئیدس استرکورالیس، کرم‌های قلابدار و حتی نماتودهای آزادزی که در این محیط می‌توانند رشد کنند هم دیده‌شود. تمایز لارو این انگل‌ها به مهارت بالائی نیاز دارد. در صورت عدم تبحر در خواندن کشت، به ویژه در عفونت‌های توأم، ممکن است این نماتدها از یکدیگر افتراق داده نشود. روش کشت نمی‌تواند عفونت‌هایی را که انگل در نمونه آزمایش زنده نباشد را تشخیص دهد. دربرخی ازاین موارد روش فرمالین-اتر در افتراق تریکوسترونژیلیازیس از استرونژیلوئیدیازیس و سایر عفونت‌های منتقل شونده از خاک کمک کننده است.

با توجه به حساسیت بالای روش نوترینت آگارپلیت، پیشنهاد می‌شود که از این روش در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و در مطالعات اپیدمیولوژی به همراه روش‌های تغلیظ در یافتن موارد آلودگی به تریکوسترونژیلوس استفاده شود.

سپاسگزاری و سپاسداری

از افرادی که در این پژوهش همکاری داشته‌اند به‌ویژه جناب آقای دکتر میثم شریف‌دینی، سرکار خانم‌ها محبوبه سلیمی، مریم احمدی ودکتر زهرا حیدری تشکر می‌شود. این مقاله در قالب طرح پژوهشی با شماره ۲۳۳٤۲-۲۷-۰۲-۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی تهران تصویب و به انجام رسید. بدین وسیله از حمایت این دانشگاه در این طرح تشکر می‌شود. این مقاله حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد انگل‌شناسی پزشکی نویسنده اول در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران است.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

منابع

1. Anderson RC. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission.CABI; 2000.
2. Eslami A. Veterinary Helminthology: Nematoda & Acanthocephala.Tehran; Tehran University Publication, 2007.[Text in Persian]
3. Ghadirian E, Arfaa F. Present status of trichostrongyliasis in Iran. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1975; 24(6 Pt 1):935-41.
4. Saebi E. Clinical Parasitology. 3rd Edition .Volume 2. Tehran; Ayiizh Press, 2014.[Text in Persian]
5. Arfaa F. Medical Helminthology. Tehran; Khosravi Press;2012.[Text in Persian]
6. Rokni MB. The present status of human helminthic diseases in Iran. Annals of Tropical Medicine and Parasitology 2008; 102(4):283-95.
7. Mowlavi GR, MirAhmadi H, Rezaeian M, Kia EB, EbrahimiDaryani N, Rokni MB, et al. Prevalence of intestinal parasites in tribal parts of Khuzestan Province during 2005-07. Govaresh 2008; 12(4):219-228.
8. Gholami SH, Babamahmoodi F, Abedian R, Sharif M, Shahbazi A, Pagheh A, et al. *Trichostrongylus colubriformis*: Possible most common cause of human infection In Mazandaran Province, North of Iran. Iranian Journal of Parasitology 2015; 10(1):110-115.
9. Ashrafi K, Tahbaz A, Sharifdini M, Mas-Coma S. Familial *Trichostrongylus* infection misdiagnosed as acute fascioliasis. Emerging Infectious Diseases 2015; 21(10):1869-70.
10. Koga K, Kasuya S, Khamboonruang C, Sukavat K, Nakamura Y, Tani S, et al. An Evaluation of the agar plate method for the detection of *Strongyloides stercoralis* In Northern Thailand. The Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1990; 93(3):183-8.
11. Koga K, Kasuya S, Ohtomo H. How effective is the agar plate method for *Strongyloides stercoralis*? The Journal of Parasitology 1992; 78(1):155-6.
12. Arakaki T, Iwanaga M, Kinjo F, Saito A, Asato R, Ikeshiro T. Efficacy of agar-plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. The Journal of Parasitology1990; 425-8.
13. Kia E, Mahmoudi M, Zahabiun F, Meamar A. An Evaluation on the efficacy of agar plate culture for detection of *Strongyloides stercoralis*. Iranian Journal of Parasitology2007; 2(1):29-34.
14. Ghadirian E. Human Infection with *Trichostrongylus lerouxi* (Biocca, Chabaud, and Ghadirian, 1974) In Iran. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1977; 26(6):1212-1213.
15. Ghadirian E, Arfaa F, Sadighian A. Human infection with *Trichostrongylus capricola* In Iran. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1974; 23:1002- 1003.
16. Jamali R. Study and identification of intestinal helminth parasites common on human and domestic herbivores in Eastern Azarbaijan, Northwest of Iran. Ph.D Thesis of Tehran University of Medical Sciences, School of Public Health; 1991.[Text in Persian]
17. Keyhani A. Prevalence of intestinal parasites in north and north-west of Khuzestan Province with special reference to *Strongyloides stercoralis*. MSc dissertation of Tehran University of Medical Sciences, School of Public Health; 2013.[Text in Persian]
18. Arakaki T. A new method to detect *Strongyloides stercoralis* from human stool. The Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1988; 16:87-90.
19. Koga K, Kasuya S, Khamboonruang C, Sukhavat K, Ieda M, Takatsuka N, et al. A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1991; 45(4):518-21.
20. Rayan HZ, Soliman RH, Galal NM. Detection of *Strongyloides stercoralis* in fecal samples using conventional parasitological techniques and Real-Time PCR: A Comparative Study. Journal of the Egyptian Society of Obstetrics and Gynecology 2012; 5(1):27-34.
21. Intapan PM, Maleewong W, Wongsaroj T, Singthong S, Morakote N. Comparison of the quantitative formalin ethyl acetate concentration technique and agar plate culture for diagnosis of human strongyloidiasis. Journal of Clinical Microbiology2005; 43(4):1932-3.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 7:29 IRST on Tuesday September 29th 2020

Comparative Efficacy of Nutrient Agar Plate Culture and Formalin Ether Concentration Methods in the Laboratory Diagnosis of Human Trichostrongyliasis

Najmi B (M.Sc.) [1]- *Kia EB (Ph.D.) [1]- Hosseini M (Ph.D.) [2]-Mobedi I (Ph.D.) [1]-Kamranrashani B (M.Sc.) [1]

***Corresponding Address:** Department of Medical Parasitology & Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: keiaeshr@tums.ac.ir

Received: 21/Nov/2015 Revised: 25/Apr/2016 Accepted: 6/Jun/2016

Abstract

Introduction: Trichostrongyliasis is a zoonotic disease caused by Trichostrongylus species. This nematode is common among domestic and wild herbivores which can also infect human. Low rate infections may be missed during laboratory diagnosis. Nutrient agar plate culture is efficient for the diagnosis of strongyloidiasis, but it has not been evaluated for diagnosis of trichostrongyliasis.

Objective: This study was undertaken to compare the efficacy of agar plate culture and formalin-ether concentration methods in laboratory diagnosis of human trichostrongyliasis.

Materials and Methods: : During 2013-2014, a total of 970 fresh stool samples were collected from Giulan, Mazandaran and Khouzestan Provinces, and also from patients referred to Helminthological Laboratory of School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences. All samples were examined for infectivity with Trichostrongylus by nutrient agar plate culture and formalin ether concentration methods.

Results: Considering parasitological results as gold standard, agar plate culture could detect 45 true positive Trichostrongylus infected cases. The sensitivity and specificity of agar plate culture and formalin ether concentration were 88.23% and 62.75%; and 98.12% and 100%, respectively.

Conclusions: Agar plate culture can be used to detect Trichostrongylus larvae. Its sensitivity is higher than formalin-ether method, but its specificity is lower.

Conflict of interest: None declared.

Key words: Formalin ether \ Nutrient Agar Plate Culture \ *Trichostrongylus*

Please cite this article as Najmi B., Kia EB., Hosseini M., Mobedi I., Kamranrashani B., Comparative Efficacy of Nutrient Agar Plate Culture and Formalin Ether Concentration Methods in the Laboratory Diagnosis of Human Trichostrongyliasis. J of Guilan Univ of Med Sci 2016; 25(100):57-65. [Text in Persian]

1. Department of Medical Parasitology & Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Biostatistics & Epidemiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran