

# سنجش کار آبی روش کشت نوترینت آگار پلیت و روش رسوبی فرمالین-اتر در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس انسانی

بهاره نجمی (MSc)<sup>۱</sup> - \*عشرت بیگم کیا (PhD)<sup>۱</sup> - مصطفی حسینی (PhD)<sup>۲</sup> - ایرج موبدی (PhD)<sup>۱</sup> - بهاره کامران رشانی (MSc)<sup>۱</sup>

\*نویسنده مسئول: گروه انگل 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 تریکوسترونژیلیوس (*Trichostrongylus*) که عمدتاً 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 استرونژیلیوزیس (*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 سال‌های 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 آگار پلیت و روش رسوبی فرمالین-اتر مطالعه شد.

**نتایج:** با در نظر گرفتن روش‌های انگل‌شناسی به عنوان استاندارد طلایی، کشت آگار ۴۵ مورد مثبت واقعی را شناسایی کرد. حساسیت روش کشت نوترینت آگار پلیت و روش رسوبی فرمالین-اتر به ترتیب ۸۸/۲۳٪ و ۶۲/۷۵٪ و ویژگی آنها به ترتیب ۹۸/۱۲٪ و ۱۰۰٪ تعیین شد.

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

**کلید واژه‌ها:** تریکوسترونژیلیوس / فرمالین-اتر / کشت نوترینت آگار پلیت

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و پنجم، شماره ۱۰۰، صفحات: ۶۵-۵۷

## مقدمه

نزدیک بودن محل نگهداری چارپایان با مسکن انسان‌ها سبب آلودگی بیشتر در ساکنان روستا می‌شود (۴). بیشینه آلودگی در دنیا در نواحی خاور نزدیک (مانند ایران، عراق و مصر)، خاور دور، کشورهای استقلال یافته شوروی سابق، استرالیا، آفریقا و آمریکای جنوبی است (۵).

در انسان چنانچه تعداد کرم‌ها زیاد باشد اختلال روده‌ای به شکل اسهال و دردهای شکمی بروز می‌کند و اتوزینوفیلی گاهی به ۸۰٪ نیز می‌رسد (۵). همچنین، گاهی سردرد، سرگیجه، تهوع و بی‌اشتهایی نیز وجود دارد (۴). در ایران هم درصد بالایی از موارد

تریکوسترونژیلیازیس (*trichostrongyliasis*) بیماری مشترک انسان و دام است که توسط نماتد روده‌ای جنس تریکوسترونژیلیوس (*Trichostrongylus*) ایجاد می‌شود. تریکوسترونژیلیوس 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 دام‌ها (۲) و همچنین انسان (۳) گزارش شده‌است. عفونت‌های انسانی در افرادی که تماس نزدیک با حیوانات آلوده دارند بیشتر است.

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 در پلیت‌های حاوی نوترینت آگار کشت داده شد و بخش دیگر نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰٪ در ظرف‌های درپوش‌دار مناسب انداخته 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 رد پای 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.

انسانی این انگل گزارش شده است و هم‌گوناگونی گونه‌های زئونوز زیاد است (۵). گرچه در سالیان اخیر کاهش چشمگیر شیوع کرم‌های منتقل شونده از خاک در ایران مشهود است (۶)، اما تریکوسترونزیلوس به دلیل زئونوز بودن همچنان در جمعیت در معرض خطر وجود دارد و موارد انسانی در مطالعات اخیر در کشور گزارش شده است (۷-۹).

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 استرونزیلوییدیازیس (strongyloidiasis) ارزیابی شده و برتری این روش تایید شده است (۱۰-۱۳) اما کارایی این روش در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونزیلیازیس 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 تریکوسترونزیلیازیس انسانی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

**گردآوری نمونه:** این پژوهش از نوع مقایسه تست‌ها بود و برای مقایسه دوروش کشت نوترینت آگار پلیت و روش رسوبی فرمالین-اتر در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونزیلوس انسانی انجام شد. استاندارد طلایی نتایج روش‌های انگل‌شناسی بود. در جمع‌آوری نمونه‌های انسانی، استان‌هایی از ایران که بر پایه گزارش‌های گذشته (۵) آلودگی بالای تریکوسترونزیلیازیس انسانی در آنها وجود داشت در نظر گرفته شد و از افراد در معرض خطر به ویژه دامداران روستاهای استان‌های مازندران، گیلان، خوزستان و همچنین مراجعان به آزمایشگاه

برخی موارد در آزمایش فرمالین-اثر تخم حاوی لارو کامل نیز دیده شد (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 دیده شد (شکل ۳). پس از شستشوی محیط با PBS و گردآوری و شفاف یا رنگ‌آمیزی لاروها، بررسی میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ انجام شد که براساس آن لاروها به دو فرم رابدیتوئید (شکل ۴ و ۵) یا فیلاری فرم (شکل ۶) دیده شدند. بیشتر لاروهای جدا شده از محیط کشت لارو فیلاری فرم بودند. لارو رابدیتوئید تریکوسترونژیلیوس بدون غلاف و حدود ۳۰۰ میکرون طول دارد. مری ۱/۴ طول کل بدن است و در انتها تکمه مانند است (شکل ۴ و ۵). لارو فیلاری فرم تریکوسترونژیلیوس ۶۰۰ الی ۷۰۰ میکرون طول دارد. لارو دارای غلاف و انتهای نوک تیز دارد (شکل ۶).

**متغیرهای اعتبارسنجی:** از مجموع ۹۷۰ نمونه آزمایش شده تعداد ۵۳ نمونه با روش کشت در محیط نوترینت آگار و ۳۲ نمونه با روش فرمالین-اثر مثبت شدند. همچنین، ۴۵ نمونه به روش استاندارد طلایی (نتایج روش‌های انگل شناسی) مثبت واقعی شناسایی شدند. جدول ۱ مقایسه پارامترهای اعتبارسنجی روش کشت نوترینت آگار پلیت و روش رسوبی فرمالین-اثر در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس انسانی را نشان می‌دهد. بر اساس این جدول روش کشت نوترینت آگار پلیت حساسیت‌تر و روش فرمالین-اثر ویژگی بالاتری دارد.

برای جداسازی لارو تریکوسترونژیلیوس 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 (۱۴ و ۵) تریکوسترونژیلیوس از سایر نماتودها جدا شد.

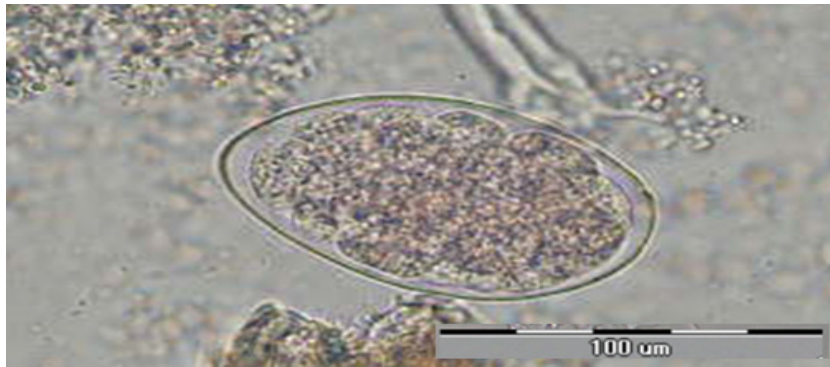
**تعیین پارامترهای اعتبارسنجی:** در این مطالعه نتایج آزمایش‌های کشت آگار و فرمالین-اثر براساس مثبت یا منفی بودن از نظر آلودگی به تریکوسترونژیلیوس ثبت و با نرم‌افزار (Stata STATA Version 11.0, College Station, TX, USA) اعتبارسنجی دربردارنده حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی، درستی کلی، احتمال یا 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 مورفولوژی: در آزمایش فرمالین-اثر تنها تخم انگل دیده شد. بیشتر تخم‌ها در مرحله مورولا بودند. تخم در این گام بیضی شکل، ناقصه و مانند تخم مرغ یک قطب آن باریک‌تر است و نسبت طول تخم به عرض آن نزدیک دو برابر است (شکل ۱). در

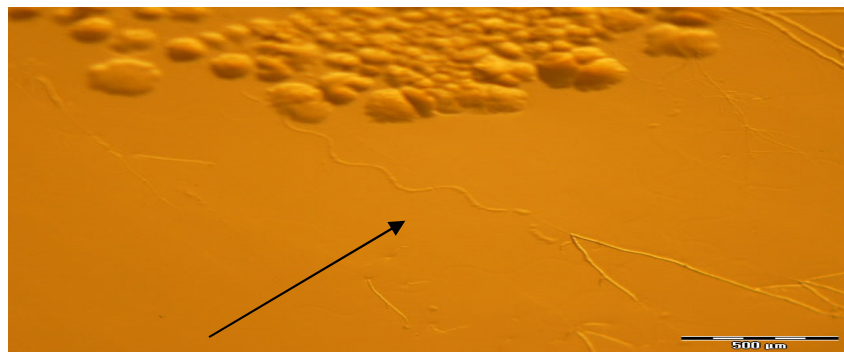




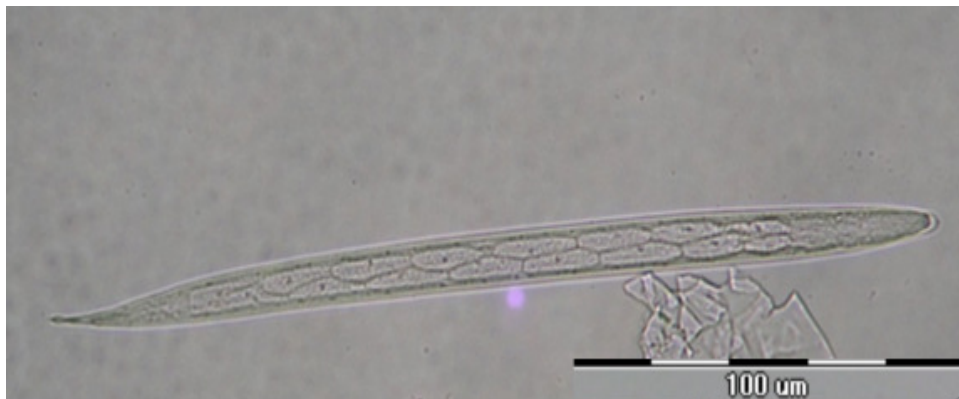
شکل ۱. تخم تریکوسترونژیلوس در مرحله مورولا در رسوب فرمالین-اتر



شکل ۲. تخم تریکوسترونژیلوس حاوی لارودر رسوب فرمالین-اتر



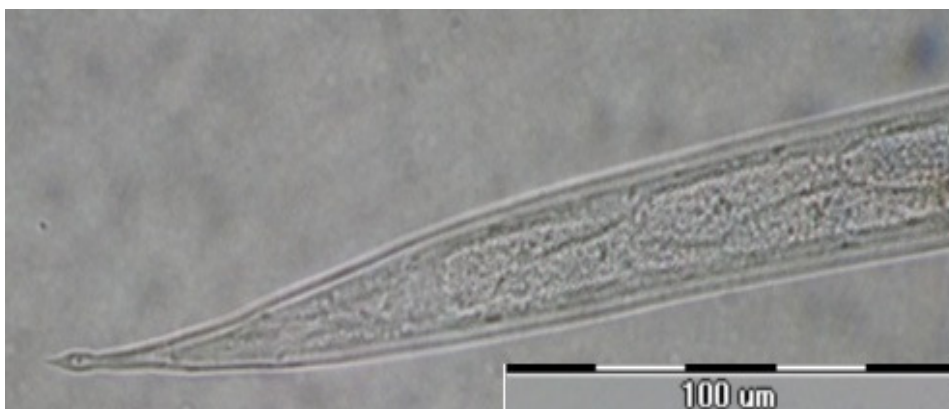
شکل ۳. ردپای سینوسی لارو تریکوسترونژیلوس در محیط کشت نوترینت آگار



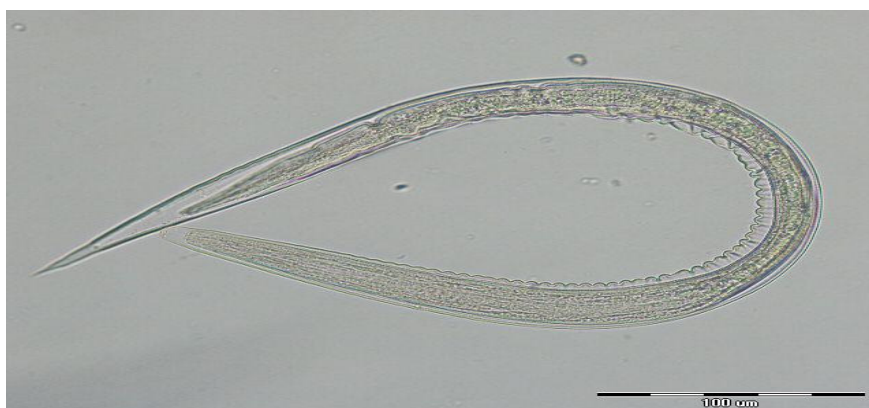
لارو

شکل ۴

رابدیتوتئید تریکوسترونژیلوس



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-اثر در تشخیص آزمایشگاهی

تریکوسترونژیلیازیس انسانی

متغیر اعتبارسنجی		روش آزمایشگاهی				
حساسیت (%)	ویژگی (%)	ارزش اخباری مثبت (%)	ارزش اخباری منفی (%)	صحت کلی (%)	درست‌نمایی مثبت (%)	درست‌نمایی منفی (%)
۸۸,۲۳	۹۸,۱۲	۸۴,۹۰	۹۹,۳۴	۹۸,۰۶	۸۸	۰,۱۲
۶۲,۷۵	۱۰۰	۱۰۰	۹۷,۹۷	۹۸,۰۴	بسیار بالا	۰,۳۸

تعداد نمونه آزمایش شده = ۹۷۰

### بحث و نتیجه گیری

علفخواران نقش مهمی در انتقال تریکوسترونژیلوس به انسان دارند و افرادی که با دام سروکار دارند بیشتر در معرض ابتلای به تریکوسترونژیلیازیس هستند (۴). کشور ما یکی از مناطقی شایع تریکوسترونژیلوس است و

تریکوسترونژیلوس یکی از نماتودهای انگلی زوئونوز است که انتشار جغرافیایی گسترده در جهان دارد. گونه‌های متعددی از این انگل در حیوانات بیماری‌زا هستند.

حساسیت روش نوترینت آگار در مطالعه حاضر بیش از حساسیت روش فرمالین- اتر بود که این نتیجه با نتایج حاصل از سایر مطالعات بر روی استرونیلوئیدس همخوانی داشته است (۱۳-۱۰). Arakaki و همکاران (۱۲) در سال ۱۹۹۰ برای تشخیص استرونیلوئیدس استرکورالیس روش های فرمالین- اتر را با روش کشت نوترینت آگار در دو منطقه از شهر Okinawa در ژاپن مقایسه کردند. در مطالعه این محققان حساسیت روش کشت نوترینت آگار ۲-۴ بیشتر از روش فرمالین- اتر بوده است. آنان روش کشت نوترینت آگار را روشی مناسب برای مطالعات اپیدمیولوژی و کلینیکی معرفی کردند و اذعان داشتند که می توان از روی رد پای لارو، آلودگی به کرم های قلابدار و استرونیلوئیدس استرکورالیس را از هم افتراق داد. این محققان بر این باورند که رد پای لاروهای قلابدار در محیط کشت نوترینت آگار ضخیم تر از رد پای لارو استرونیلوئیدس استرکورالیس و نازک تر از کرم های آزادی می باشد (۱۲). کیا و همکاران در مطالعه ای در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که روش کشت در محیط نوترینت آگار پلیت ۲ برابر روش تغلیظ فرمالین- اتر در تشخیص استرونیلوئیدس استرکورالیس حساس تر است (۱۳). Rayan و همکاران در سال ۲۰۱۲ (۲۰)، از روش های تغلیظ فرمالین- اتر، کشت هارادا-موری، تکنیک برمن، کشت در محیط نوترینت آگار پلیت و روش Real-time PCR برای تشخیص عفونت استرونیلوئیدس استرکورالیس استفاده کردند. در آن مطالعه که ۱۱۵ نمونه مدفوع ارزیابی شده بود، ۱۱ نمونه (۹/۶٪) به روش هارادا-موری، ۱۳ نمونه (۱۱/۳٪) به روش فرمالین- اتر، ۱۶ نمونه (۱۳/۹٪) به کمک تکنیک برمن و ۱۸ نمونه (۱۵/۷٪) بوسیله کشت در محیط نوترینت آگار پلیت و ۲۳ نمونه (۲۰٪) به کمک روش Real-time PCR مثبت گزارش شد. در مطالعه آنان روش نوترینت آگار پلیت در بین روش های انگل شناسی حساسیت بیشتری داشت (۲۰). Intapan و همکاران در سال ۲۰۰۵ دو روش فرمالین- اتر و کشت نوترینت آگار

مطالعه در مورد این انگل در ایران پیشینه دارد (۱۶-۳، ۱۴-۲). ایران یکی از کشورهای است که تریکوسترونزیلوس انسانی با شیوع بالا از آن گزارش شده (۵) و تعداد گونه های گزارش شده در انسان نیز بالاست (۳). به سبب زوئونوز بودن تریکوسترونزیلوس 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 می شود. مطالعات سال- های اخیر مبنی بر رخداد عفونت های انسانی در استان- های خوزستان (۷ و ۱۷)، مازندران (۸) و گیلان (۹) دلیلی بر لزوم بکارگیری روش حساس در تشخیص تریکوسترونزیلیازیس 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 استرونیلوئید یازیس 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 روش های موثر در تشخیص استرونیلوئیدس استرکورالیس است. در این مطالعه ۹۷۰ نمونه مدفوع انسان از لحاظ وجود عفونت تریکوسترونزیلوس به روش های فرمالین- اتر و 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 ۶۲/۷۵٪ و ۱۰۰٪ تعیین شد. ارزش اخباری مثبت در روش کشت نوترینت آگار ۸۴/۹۰٪ و در روش فرمالین- اتر ۱۰۰٪ بود. ارزش اخباری منفی در روش کشت نوترینت آگار ۹۹/۳۴٪ و در روش فرمالین- اتر ۹۷/۹۷٪ بدست آمد. صحت کلی روش نوترینت آگار ۹۸/۶٪ و روش فرمالین اتر ۹۸/۰۴٪ بود.

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. در برخی از این موارد روش فرمالین-اتر در افتراق تریکوسترونزیلیازیس از استرونزیلوئیدیازیس و سایر عفونت‌های منتقل شونده از خاک کمک کننده است.

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

#### سپاسگزاری و سپاسداری

از افرادی که در این پژوهش همکاری داشته‌اند به ویژه جناب آقای دکتر میثم شریف‌دینی، سرکار خانم‌ها محبوبه سلیمی، مریم احمدی و دکتر زهرا حیدری تشکر می‌شود. این مقاله در قالب طرح پژوهشی با شماره ۹۲-۰۲-۲۷-۲۳۳۴۲ 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 منافی ندارند.

را در تشخیص استرونزیلوئیدس استرکوریالس 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 آگار ۹۸/۱۲٪ 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 ۸۴/۹۰٪ و در روش فرمالین-اتر ۱۰۰٪ می‌باشد. ارزش اخباری منفی در روش کشت ۹۹/۳۴٪ و در روش فرمالین-اتر ۹۷/۹۷٪ می‌باشد. صحت روش‌های مورد بررسی نشان داده‌است که صحت آزمون آگار پلیت (۹۸/۶٪) بیشتر از صحت روش تغلیظی فرمالین-اتر (۹۸/۰۴٪) است. در مجموع، حساسیت روش آگار پلیت بیشتر از روش فرمالین-اتر بوده و ویژگی روش فرمالین-اتر بیشتر از روش آگار پلیت بوده است.

در این مطالعه نسبت درست‌نمایی مثبت یا LR+ با روش کشت ۸۸٪ و با روش فرمالین-اتر بسیار بالا بود. درست‌نمایی 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 درست‌نمایی مثبت یک آزمایش بیشتر و درست‌نمایی منفی آن کمتر و به صفر نزدیک‌تر باشد دلیل بر مناسب بودن آن آزمایش است. لذا بر اساس نتایج این مطالعه روش کشت کارایی بیشتری از فرمالین-اتر در تشخیص تریکوسترونزیلیازیس انسانی دارد. روش آگار پلیت یکی از روش‌های تشخیصی می‌باشد که انجام آن آسان است، اما ممکن است در آلودگی‌های توأم افزون بر تریکوسترونزیلوس، آلودگی‌های دیگر منتقله از طریق خاک شامل استرونزیلوئیدس استرکوریالس، کرم‌های قلابدار و حتی نماتدهای آزادی که در این محیط می‌توانند رشد کنند هم دیده شود. تمایز لارو این انگل‌ها به مهارت بالایی نیاز دارد. در صورت عدم تبحر در



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. 3<sup>rd</sup> 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. Govareh 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 Parasitology 1990; 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 Parasitology 2007; 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, Wongsarot J, 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 Microbiology 2005; 43(4):1932-3.

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

Najmi B (M.Sc.)<sup>1</sup> - \*Kia EB (Ph.D.)<sup>1</sup> - Hosseini M (Ph.D.)<sup>2</sup> - Mobedi I (Ph.D.)<sup>1</sup> - Kamranrashani B (M.Sc.)<sup>1</sup>

\*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 Gilan, 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