

Comparison of Nutrient Agar Plate Culture and Formalin-Ethyl Acetate Concentration Methods in Diagnosis of Human Trichostrongyliasis

Saraei M^{1,2}, Ghanbarzadeh L², Hajjalilo E^{2,3}, Barghandan T², Amini F⁴, Sharifdini M^{*5}

1. Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

3. Student Research Committee, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

4. Department of Biostatistics, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +981333690884, Fax: +981333690036; E-mail: sharifdini5@gmail.com

Received: Nov 21, 2018 Accepted: Feb 19, 2019

ABSTRACT

Background & objectives: *Trichostrongylus* spp. are common parasites of herbivorous animals and trichostrongyliasis is an important zoonotic disease in Iran, especially in northern Iran. Routine laboratory methods for diagnosis of these infections are direct smear and formalin-ethyl acetate techniques. There is not enough evidence about the sensitivity of nutrient agar plate culture for detection of *Trichostrongylus* spp infections. The objective of this study was to compare the nutrient agar plate culture and the formalin-ethyl acetate sedimentation techniques for laboratory diagnosis of human trichostrongyliasis in an endemic area of northern Iran.

Methods: A total of 1553 fresh stool samples were collected from residents of 31 villages within the Fouman district in Guilan province during 2015–2016. All samples were examined using nutrient agar plate culture and formalin-ethyl acetate concentration techniques for detection of *Trichostrongylus* spp. infections.

Results: Overall, 71 cases were diagnosed with *Trichostrongylus* spp. by at least one of the methods. Considering parasitological results as the diagnostic gold standard, the sensitivity and specificity of nutrient agar plate culture were 90.1% and 100%, respectively. Also, the sensitivity and specificity of the formalin ethyl acetate concentration method were 95.8% and 100%, respectively.

Conclusions: According to the results of this study, the formalin ethyl acetate method is more sensitive than nutrient agar plate culture in the diagnosis of human trichostrongyliasis, especially in humid climate regions such as North of Iran.

Keywords: Formalin Ethyl Acetate Sedimentation; Nutrient Agar Plate Culture, *Trichostrongylus*

مقایسه روش کشت نوتریت آگار پلیت و روش فرمالین - اتیل استات در تشخیص تریکوسترونژیلیازیس انسانی

مهرزاد سرائی صحنه سرائی^۱، لاله قنبر زاده^۲، الهام حاجی علیلو^۳، طاهره برغندان^۴، فرزانه امینی^۵،
میثم شریف دینی^{*۵}

۱. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۴. گروه آمار زیستی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۵. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۱۳ ۳۳۶۹۰۸۸۴ فاکس: ۰۱۳ ۳۳۶۹۰۰۳۶ پست الکترونیک: sharifdini5@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: گونه های تریکوسترونژیلوس انگل شایع حیوانات علفخوار بوده و تریکوسترونژیلیازیس یک بیماری مهم مشترک بین انسان و دام است. روش معمول تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس آزمایش مدفوع به روش مستقیم یا تغلیظ است. شواهد کافی در خصوص حساسیت کشت مدفوع بر روی محیط نوترینت آگار برای تشخیص عفونت های تریکوسترونژیلوس وجود ندارد. این مطالعه به منظور مقایسه روش های کشت نوترینت آگار و فرمالین - اتیل استات برای تشخیص آلودگی به تریکوسترونژیلوس در ساکنان یکی از مناطق اندمیک شمال ایران انجام شد.

روش کار: در مجموع ۱۵۵۳ نمونه مدفوع تازه از ساکنان ۳۱ روستای منطقه فومن در استان گیلان در طی سال های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ جمع آوری گردید. تمامی نمونه ها جهت تشخیص آلودگی به گونه های تریکوسترونژیلوس با استفاده از روش های کشت نوتریت آگار پلیت و روش فرمالین - اتیل استات مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته ها: به طور کلی ۷۱ نمونه از نظر آلودگی به تریکوسترونژیلوس حداقل با یکی از روش ها مثبت بودند. میزان حساسیت و ویژگی روش کشت نوترینت آگار با در نظر گرفتن مجموع روش های انگل شناسی به عنوان استاندارد طلایی به ترتیب ۹۰/۱ و ۱۰۰ درصد ارزیابی شد. همچنین میزان حساسیت و ویژگی روش فرمالین - اتیل استات به ترتیب ۹۵/۸ و ۱۰۰ درصد تعیین شد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، روش فرمالین - اتیل استات در تشخیص تریکوسترونژیلیازیس انسانی به خصوص در مناطق مرطوب همانند شمال ایران حساسیت بیشتری نسبت به کشت نوتریت آگار پلیت دارد.

واژه های کلیدی: روش فرمالین - اتیل استات، کشت نوتریت آگار پلیت، تریکوسترونژیلوس

پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۳۰

دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۳۰

تریکوسترونژیلیازیس^۱ بیماری مشترک انسان و دام بوده و آلودگی انسانی در بسیاری از کشورها از جمله ژاپن [۱]، ایتالیا [۲،۳]، عراق [۱]، فرانسه [۴]، نیوزلند

مقدمه
نماتوئیدهای جنس تریکوسترونژیلوس انگل های علفخواران در سراسر جهان هستند.

^۱ Trichostrongylasis

[۵]، استرالیا [۶]، لائوس [۷]، تایلند [۸]، مصر [۱]، کره جنوبی [۱] و همچنین ایران [۹] گزارش شده است. در مطالعات اپیدمیولوژیک ایران گونه‌های مختلفی از جنس تریکوسترونژیلوس در انواع میزبان‌ها شامل علفخواران وحشی [۱۲-۱۰]، نشخوارکنندگان اهلی [۹، ۱۳] و انسان [۹، ۱۴-۱۷] گزارش شده است. تاکنون ۱۲ گونه از جنس تریکوسترونژیلوس در انسان در سرتاسر دنیا شناسایی شده که ۱۰ گونه آن نیز از ایران گزارش شده است. به استثناء تریکوسترونژیلوس اورینتالیس سایر گونه‌ها زئونوز بوده و به دلیل تماس نزدیک انسان با دام‌ها و کوددهی مزارع و باغات با مدفوع احشام به انسان منتقل می‌گردد [۹، ۱۶]. در دهه‌های گذشته این نماتود در اکثر مناطق ایران مانند مرکز، جنوب، جنوب غربی و شمال بسیار شایع بوده و در اکثر استان‌های کشور گونه‌های تریکوسترونژیلوس کولوبریفرمیس و تریکوسترونژیلوس اورینتالیس به عنوان گونه‌های غالب بودند [۹]. بر اساس مطالعات سال‌های اخیر، آلودگی به این کرم در استان‌های گیلان و مازندران قابل توجه بوده و تنها گونه غالب در این مناطق تریکوسترونژیلوس کولوبریفرمیس می‌باشد، اما گزارشی از گونه تریکوسترونژیلوس اورینتالیس نشده است [۱۶-۱۸]. آلودگی انسانی تریکوسترونژیلیازیس عمدتاً از طریق خوردن سبزیجات آلوده به لارو فیلاریفرم و یا به ندرت از طریق نفوذ پوستی ایجاد می‌گردد [۱۹]. عفونت‌های انسانی عمدتاً فاقد علائم بالینی می‌باشند اما در آلودگی‌های شدید ممکن است باعث بروز دردهای شکمی، حالت تهوع، اسهال، نفخ، سرگیجه، خستگی عمومی، آنمی و ائوزینوفیلی خفیف گردد [۲۰]. تشخیص تریکوسترونژیلوس عمدتاً بر مبنای مشاهده تخم‌های این کرم در نمونه مدفوع می‌باشد و در بین روش‌های انگل‌شناسی کاربرد روش رسوبی فرمالین اتر در آزمایشگاه‌های تشخیصی رایج تر است [۱]. مطالعات مختلف نشان داده است که روش کشت مدفوع در محیط نوترینت آگار پلیت در

مقایسه با سایر روش‌های انگل‌شناسی در تشخیص عفونت‌های استرونژیلوئیدس استرکوریالیس و کرم‌های قلابدار حساسیت بسیار بیشتری دارد [۲۳-۲۱]. اما، تا به امروز مطالعات اندکی در مورد مقایسه روش‌های تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلیازیس انسانی انجام شده است [۲۴]. این مطالعه به منظور ارزیابی روش کشت مدفوع در محیط نوترینت آگار پلیت با روش رسوبی فرمالین-اتیل استات جهت تشخیص تریکوسترونژیلیازیس انسانی در یک منطقه آندمیک شمال ایران انجام شد.

روش کار

جمع آوری نمونه

این مطالعه از نوع ارزیابی آزمون‌های تشخیصی بوده و برای مقایسه دو روش کشت نوترینت آگار پلیت و روش رسوبی فرمالین-اتیل استات در تشخیص آزمایشگاهی تریکوسترونژیلوس انسانی انجام شد. در این پژوهش با توجه فقدان روش استاندارد طلایی برای تشخیص این نماتود، مجموع نتایج روش‌های انگل‌شناسی (روش‌های فرمالین-اتیل استات و کشت در محیط نوترینت آگار) به عنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته شد. بطوری‌که نمونه‌ای با روش استاندارد طلایی، مثبت در نظر گرفته شد که حداقل با یکی از این روش‌ها مثبت می‌بود. نمونه‌های مدفوع مورد بررسی در این مطالعه، در طی یک پژوهش با هدف تعیین هویت و بررسی مولکولی گونه‌های تریکوسترونژیلوس انسانی در روستاهای شهرستان فومن جمع‌آوری گردید [۱۶]. در این مطالعه تعداد ۱۵۵۳ نمونه مدفوع از ۳۱ روستای این شهرستان در طی سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ جمع‌آوری و به مرکز بهداشت شهر فومن جهت انجام آزمایشات انگل‌شناسی منتقل گردید. لازم به ذکر است که در برخی از روستاها (آلیان و ماکلوان) که شیوع این انگل بالا بود، تعداد نمونه‌های مدفوع بیشتری جهت به‌دست آوردن موارد مثبت اخذ گردید. روش

نمونه‌گیری در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه علوم پزشکی قزوین نائید شد و با کد اخلاقی IR.QUMS.REC.1394.111 ثبت شد.

تکنیک‌های آزمون

روش فرمالین- اتیل استات: حدود یک گرم از مدفوع با ۱۰ میلی لیتر فرمالین ۱۰٪ مخلوط کرده و سوسپانسیون تهیه شد. به ۷ میلی لیتر از سوسپانسیون صاف شده، ۳ میلی لیتر اتیل استات افزوده و به شدت تکان داده و به مدت ۲ دقیقه در ۲۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. سپس تمام رسوب تحتانی از نظر وجود تخم‌های تریکوسترونزیلوس مورد بررسی قرار گرفت [۱].

روش کشت در محیط نوترینت آگار: حدود ۲-۳ گرم از نمونه مدفوع تازه را بر روی محیط کشت نوترینت آگار قرار داده شد و به نمونه‌های خشک چند قطره آب مقطر استریل اضافه گردید. سپس درب محیط‌های کشت را با پارافیل کاملاً بسته و در دمای ۲۶-۳۲°C نگهداری شدند. سپس این محیط‌ها از روزهای سوم تا پنجم بعد از کشت، روزانه به کمک استریومیکروسکوپ از نظر وجود لارو یا ردپای آن بررسی شدند [۱۶].

برای تایید و تشخیص قطعی لارو تریکوسترونزیلوس، محیط‌های کشت مثبت با سرم فیزیولوژی ولرم شستشو داده شد. سپس سرم فیزیولوژی روی سطح محیط کشت را سانتریفوژ کرده و رسوب به‌دست آمده از نظر وجود لارو بررسی گردید. سپس بر اساس ویژگی‌های مرفولوژیک از لاروها و کرم‌های بالغ استرونزیلوئیدس استرکوریاليس و نماتودهای آزادزی و همچنین لاروهای کرم‌های قلابدار تفکیک داده شدند [۱۶].

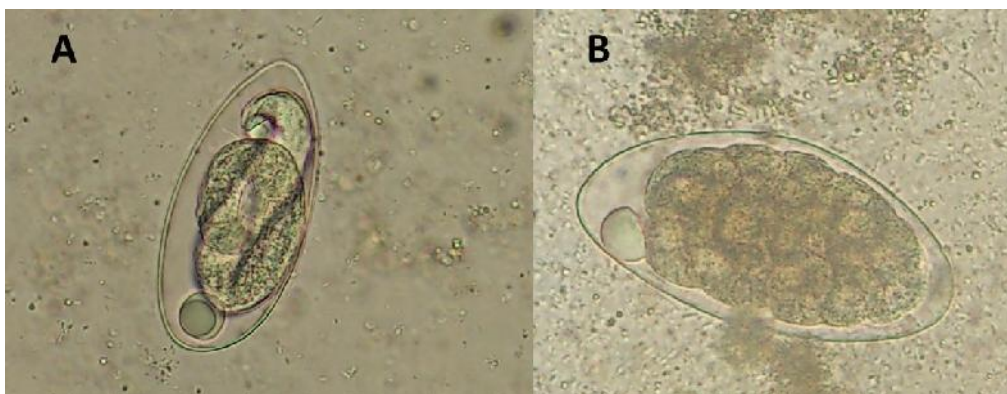
در نهایت نتایج روش‌های فرمالین- اتیل استات و کشت در محیط نوترینت آگار با استفاده از نرم افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت و حساسیت، ویژگی،

ارزش‌های اخباری مثبت و منفی و صحت کلی تعیین شد.

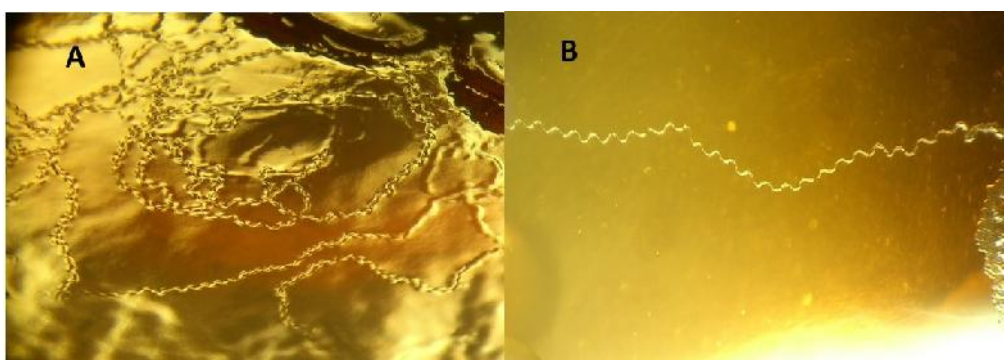
یافته‌ها

در این مطالعه از مجموع ۱۵۵۳ نمونه مدفوع ۷۱ نمونه از نظر آلودگی به تریکوسترونزیلوس با مجموع روش‌های انگل شناسی (روش‌های فرمالین- اتیل استات و کشت در محیط نوترینت آگار) مثبت بودند. از این تعداد ۶۸ نمونه با استفاده از روش فرمالین- اتیل استات و ۶۴ نمونه با روش کشت آگار مثبت تشخیص داده شدند (جدول ۱). در رسوب حاصل از روش فرمالین- اتیل استات اکثراً تخم‌ها در مرحله مورلا قرار داشتند اما در برخی موارد لارو در داخل تخم مشاهده گردید (شکل ۱). در روش کشت مدفوع در محیط نوترینت آگار ردپای سینوسی یا لارو بر روی سطح محیط کشت مشاهده شد (شکل ۲). محیط‌های کشت دارای رد پا یا لارو جهت تایید با سرم فیزیولوژی ولرم شسته شده و زیر میکروسکوپ لارو فیلاریفرم تریکوسترونزیلوس که دارای انتهای نوک تیز و مری کوتاه هستند مشاهده گردید (شکل ۳).

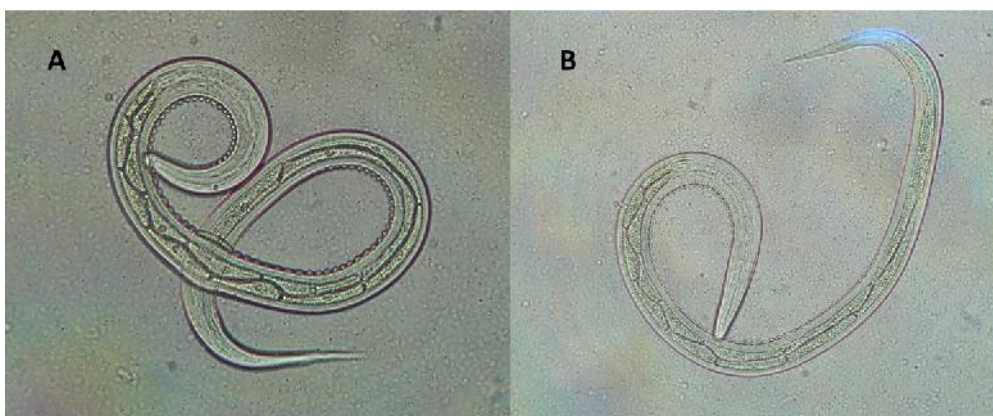
در این مطالعه میزان حساسیت و ویژگی روش فرمالین- اتیل استات با در نظر گرفتن مجموع روش‌های انگل شناسی به عنوان استاندارد طلایی به ترتیب ۹۵/۸ و ۱۰۰ درصد بود. همچنین میزان حساسیت و ویژگی روش کشت نوترینت آگار با در نظر گرفتن مجموع روش‌های انگل شناسی به عنوان استاندارد طلایی به ترتیب ۹۰/۱ و ۱۰۰ درصد ارزیابی شد. مقایسه شاخص‌های اعتبارسنجی روش کشت نوترینت آگار پلیت و روش فرمالین- اتیل استات در تشخیص آزمایشگاهی آلودگی به تریکوسترونزیلوس در جدول ۲ نشان داده شده است.



شکل ۱. تخم تریکوسترونزیلوس حاوی لارو (A) و توده جنینی در مرحله مورلا (B) در رسوب فرمالین-ایتیل استئات



شکل ۲. رد پای لارو تریکوسترونزیلوس بر روی سطح محیط نوترینت آگار (A و B)



شکل ۳. لارو فیلاری فرم تریکوسترونزیلوس بدست آمده از محیط کشت (انتهای لارو نوک تیز و طول مری کوتاه)

جدول ۱. مقایسه نتایج روش‌های فرمالین-ایتیل استئات و کشت آگار در تشخیص آلودگی به تریکوسترونزیلیازیس انسانی

روش آزمایشگاهی	مثبت (درصد)	منفی (درصد)
فرمالین-ایتیل استئات	۶۸ (۴/۳۷)	۱۴۸۵ (۹۵/۶۳)
کشت آگار	۶۴ (۴/۱۲)	۱۴۸۹ (۹۵/۸۸)
جمع کل	۷۱ (۴/۵۷)	۱۴۸۲ (۹۵/۴۳)
n=۱۵۵۳		

جدول ۲. مقایسه متغیرهای اعتبار سنجی روش‌های کشت آگار و فرمالین-اتیل استات در تشخیص تریکوسترونزیلوس انسانی

متغیر اعتبار سنجی	حساسیت (%)	ویژگی (%)	ارزش اخباری مثبت (%)	ارزش اخباری منفی (%)	صحت کلی (%)
فرمالین- اتیل استات	۹۵/۸	۱۰۰	۱۰۰	۹۹/۸	۹۹/۸
کشت آگار	۹۰/۱	۱۰۰	۱۰۰	۹۹/۵	۹۹/۵

بحث

آلودگی به تریکوسترونزیلوس انسانی از بسیاری کشورها در سرتاسر جهان بخصوص در کشورهای خاورمیانه، خاور دور و کشورهای آفریقایی گزارش شده است [۱]. در ایران به دلیل مجاورت محل زندگی انسان با دامها به عنوان مخزن انگل و استفاده از کود حیوانی در مزارع و کشاورزی، شیوع این انگل بسیار بالا است [۱۶، ۱۷]. در دهه‌های گذشته شیوع بالای عفونت‌های انسانی با گونه‌های مختلف تریکوسترونزیلوس از بسیاری از مناطق ایران گزارش شده است. به طوری که شیوع تریکوسترونزیلوس در استان‌های خوزستان ۷۱ درصد، اصفهان ۶۷ درصد، تهران ۴۲ درصد، هرمزگان ۳۷ درصد، کرمانشاه ۱۹ درصد و مازندران ۸ درصد بود [۹]. در دهه‌های اخیر اغلب کرم‌های منتقله از طریق خاک در ایران کاهش چشمگیر داشته است، اما همچنان تریکوسترونزیلیازیس و استرونزیلوئیدیازیس به ترتیب به دلیل ژئونوز بودن و پدیده خودآلودگی شیوع‌شان قابل توجه است [۱۶، ۱۷، ۲۵، ۲۶]. مطالعات مختلف در سال‌های اخیر نشان داده است که شیوع تریکوسترونزیلیازیس انسانی در استان‌های خوزستان ۱۸ درصد [۲۷]، گیلان ۳ درصد [۱۶] و مازندران ۲ درصد [۱۸] بوده که دلیلی بر لزوم بکارگیری روش حساس در تشخیص این انگل است. بنابراین در این مطالعه معیارهای اعتبارسنجی روش‌های فرمالین- اتیل استات و کشت در محیط نوترینت آگار در تشخیص تریکوسترونزیلیازیس انسانی با یکدیگر سنجیده شد.

در این بررسی حساسیت روش فرمالین- اتیل استات بیشتر از روش کشت در محیط نوترینت آگار بود و ویژگی هر دو روش ۱۰۰ درصد محاسبه گردید. نتایج بررسی حاضر با مطالعه نجمی و همکاران که تنها مطالعه انجام شده در زمینه ارزیابی روش‌های تشخیصی تریکوسترونزیلیازیس انسانی است، همخوانی نداشت [۲۸]. در مطالعه نجمی و همکاران ۹۷۰ نمونه مدفوع انسانی از لحاظ وجود عفونت تریکوسترونزیلوس به روش‌های فرمالین اتر و کشت در محیط نوترینت آگار ارزیابی شدند. حساسیت و ویژگی روش کشت در محیط نوترینت آگار به ترتیب ۸۸/۲ و ۹۸/۱ درصد و برای روش رسوبی فرمالین- اتر به ترتیب ۶۲/۷ و ۱۰۰ درصد محاسبه شد. دلایل مختلفی را می‌توان برای تفاوت در نتایج مطالعه حاضر و مطالعه نجمی و همکاران مطرح نمود. در مطالعه حاضر به دلیل رشد قارچ‌ها در محیط‌های نوترینت آگار پس از چهار تا پنج روز از کشت امکان ارزیابی طولانی‌تر وجود نداشت زیرا در شمال کشور به دلیل رطوبت بالا قارچ‌ها پس از چهار تا پنج روز به وفور در محیط‌های کشت رشد می‌کنند و امکان بررسی را غیرممکن می‌سازند و حساسیت روش کشت را پایین‌تر می‌آورند. اما در مطالعه نجمی و همکاران که در تهران انجام شد پلیت‌های کشت به علت خشکی هوا تا یک هفته مورد ارزیابی قرار گرفتند. بنابراین روش کشت نوترینت آگار در شرایط آب و هوای متفاوت نتایج مختلفی در تشخیص این انگل نشان می‌دهد. از طرف دیگر در این مطالعه تمام رسوب فرمالین- اتیل استات از نظر وجود تخم تریکوسترونزیلوس مورد بررسی قرار گرفت که حساسیت این روش را بالا می‌برد. همچنین در هر دو

این مطالعات بار کرمی اندازه گیری نشده است؛ اما با توجه به اینکه این مطالعه در یکی از مناطق اندمیک تریکوسترونزیلوس در ایران انجام شده است و عمدتاً بار کرمی در چنین مناطقی بالاتر است، نتایج این دو روش تشخیصی به یکدیگر نزدیکتر شده است. بطوری که که اگر بار کرمی بیشتر باشد شانسی مشاهده تخم کرم در روش فرمالین- اتیل استات یا فرمالین- اتر بیشتر شده و ارزش تشخیصی این تست‌ها بالاتر می‌رود.

جانگووتیوس^۱ و همکاران روش‌های گسترش مستقیم، کشت هارادا موری، فرمالین- اتر و کشت آگار پلیت را جهت تشخیص کرم‌های قلابدار انسانی با یکدیگر مقایسه کردند. مطالعه این محققان نشان داد که روش کشت مدفوع در محیط آگار پلیت در مقایسه با سایر روش‌های انگل شناسی در تشخیص عفونت‌های کرم‌های قلابدار حساسیت بیشتری دارد. همچنین بررسی روزانه سطح محیط کشت آگار به مدت شش روز متوالی، حساسیت این را افزایش داد [۲۲].

مطالعات مختلف نشان داده است که روش کشت آگار نسبت به سایر روش‌های انگل شناسی دارای حساسیت بیشتری جهت تشخیص استرونژیلوئیدیازیس انسانی می‌باشد [۲۱، ۲۳، ۲۶، ۲۸]. لازم به ذکر است که در تشخیص استرونژیلوئیدیازیس با روش کشت آگار محیط‌ها دو تا سه روز پس از کشت، مورد بررسی قرار می‌گیرند. بنابراین آلودگی به قارچ عمدتاً مشکلی در تشخیص این انگل ایجاد نمی‌کند.

ساتو^۲ و همکاران چهار روش گسترش مستقیم، تغلیظ فرمالین- اتیل استات، کشت هارادا موری و کشت آگار پلیت را به منظور تشخیص استرونژیلوئیدیاس استرکوریاليس با یکدیگر مقایسه نمودند. این مطالعه نشان داد که روش کشت آگار پلیت بیش از ۹۶ درصد از موارد مثبت استرونژیلوئیدیاس

استرکوریاليس را تشخیص می‌دهد [۲۹]. رایان^۳ و همکاران نیز نشان دادند که حساسیت روش کشت آگار نسبت به روش‌های فرمالین- اتر، هارادا موری و برمن بیشتر است [۳۰]. در مطالعه آینس^۴ و همکاران نیز حساسیت روش‌های آزمایش مدفوع شامل کشت آگار، برمن و تغلیظ فرمالین- اتر جهت تشخیص استرونژیلوئیدیاس استرکوریاليس در ۶۳۱ نمونه مدفوع مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه حساسیت روش کشت آگار، برمن و تغلیظ فرمالین- اتر در مقایسه ترکیب نتایج ۳ روش به ترتیب ۹۵، ۷۲/۵ و ۲۷/۵ درصد گزارش شد [۳۱]. در یک مطالعه مقایسه ای که توسط کیا و همکاران انجام گرفت، روش‌های انگل شناختی شامل کشت آگار، آزمایش مستقیم و فرمالین- اتر جهت تشخیص استرونژیلوئیدیاس استرکوریاليس مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه کارایی روش کشت نوترینت آگار ۲ برابر روش تغلیظ فرمالین اتر بود. اما ۶ مورد از نمونه‌هایی که با روش تغلیظ فرمالین- اتر مثبت شدند، توسط روش کشت نوترینت آگار منفی تشخیص داده شدند [۲۳].

علیرغم حساسیت بالای روش کشت آگار، برای تشخیص قطعی حتماً باید لارو تریکوسترونزیلوس در مایع شسته شده از محیط کشت مشاهده گردد و بر اساس ویژگی‌های مرفولوژیک از سایر نماتودها متمایز شود. از طرف دیگر این روش پر زحمت و وقت گیر بوده و نیازمند چندین نمونه مدفوع تازه است. همچنین خواندن نتیجه کشت نیاز به تجربه و مهارت زیاد دارد [۱۶، ۲۱، ۲۳].

با توجه به اینکه تاکنون مطالعات اندکی در مورد مقایسه روش‌های تشخیصی تریکوسترونزیلیازیس انسانی انجام شده است، پیشنهاد می‌گردد بررسی‌های بیشتری در سایر مناطق آندمیک انجام پذیرد و از روش‌های تشخیصی دیگر بخصوص روش ویلیس و

¹ Jongwutiwes

² Sato

³ Rayan

⁴ Ines

هر دو روش با یکدیگر برابر است. همچنین جهت تشخیص قطعی روش کشت آگار، حتماً باید لارو تریکوسترونژیلیوس در شستشوی محیط دیده شود. از طرف دیگر این روش پرزحمت و وقت گیر بوده و نیازمند تکنسین ماهر است.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین که در انجام این تحقیق یاری نمودند و کلیه هزینه‌های این طرح (شماره ۶۶۲) را به عهده گرفتند، تشکر و قدردانی می‌گردد. ضمناً این مقاله بخشی از پایان نامه خانم لاله قنبرزاده دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی است.

روش‌های مولکولی نیز جهت تشخیص این انگل استفاده گردد. همچنین بهتر است بار کرمی نیز توسط روش‌های کمی آزمایش مدفوع بررسی شود و با نتایج روش‌های انگل شناسی مقایسه گردد. از طرف دیگر پیشنهاد می‌گردد که از داروهای ضدقارچ در محیط کشت نوتریت آگار استفاده گردد اما این کار نیازمند ارزیابی تاثیر احتمالی این داروها بر روی رشد لارو نماتودها است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که حساسیت روش فرمالین- اتیل استات بیشتر از روش کشت آگار در تشخیص تریکوسترونژیلیازیس انسانی بوده و ویژگی

References

- 1- Muller R. Worms and Human Disease. 2nd ed. London: CABI; 2002. 138 p.
- 2- Buonfrate D, Angheben A, Gobbi F, Mistretta M, Degani M, Bisoffi Z. Four clusters of *Trichostrongylus* infection diagnosed in a single center, in Italy. *Infection*. 2017 Oct;45(2):233-6.
- 3- Cancrini G, Boemi G, Iori A, Corselli A. Human infestations by *Trichostrongylus axei*, *T. capricola* and *T. vitrinus*: 1st report in Italy. *Parassitologia*. 1982 Dec; 24(2-3):145-9. [Full text in Italian]
- 4- Lattes S, Ferte H, Delaunay P, Depaquit J, Vassallo M, Vittier M, et al. *Trichostrongylus colubriformis* nematode infections in humans, France. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jul ;17(7):1301-2.
- 5- Wall EC, Bhatnagar N, Watson J, Doherty T. An unusual case of hypereosinophilia and abdominal pain: an outbreak of *Trichostrongylus* imported from New Zealand. *J Travel Med*. 2011 Nov;18(1):59-60.
- 6- Boreham RE, McCowan MJ, Ryan AE, Allworth AM, Robson JM. Human trichostrongyliasis in Queensland. *Pathology*. 1995;27(2):182-5.
- 7- Sato M, Yoonuan T, Sanguankiat S, Nuamtanong S, Pongvongsa T, Phimmayoi I, et al. Short report: Human *Trichostrongylus colubriformis* infection in a rural village in Laos. *Am J Trop Med Hyg*. 2011 Jan;84(1):52-4.
- 8- Phosuk I, Intapan PM, Prasongdee TK, Changtrakul Y, Sanpool O, Janwan P, et al. Human trichostrongyliasis: a hospital case series. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2015 Mar;46(2):191-7.
- 9- Ghadirian E, Arfaa F. Present status of trichostrongyliasis in Iran. *Am J Trop Med Hyg*. 1975 Nov ;24(6 Pt 1):935-41.
- 10- Eslami A, Changizy E, Moghadam M. Prevalence of helminth infections in the cape hare (*Lepus capensis*) in Iran. *Vet Res Commun*. 2000 Nov;24(7):455-8.
- 11- Eslami A, Meydani M, Maleki S, Zargarzadeh A. Gastrointestinal nematodes of wild sheep (*Ovis orientalis*) from Iran. *J Wildl Dis*. 1979 Apr;15(2):263-5.
- 12- Eslami AR, S. Nikbin, S. Gastro-intestinal nematodes of gazelle, *Gazella subgutturosa*, in Iran. *Vet Parasitol*. 1980 Oct;7(1):75-8.
- 13- Anvari-Tafti M, Sazmand A, Hekmatimoghaddam S, Moobedi I. Gastrointestinal helminths of camels (*Camelus dromedarius*) in center of Iran. *Trop Biomed*. 2013 Nov;30(1):56-61.

- 14- Ashrafi K, Tahbaz A, Sharifdini M, Mas-Coma S. Familial *Trichostrongylus* infection misdiagnosed as acute fascioliasis. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(10):1869-70.
- 15- Gholami S, 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. *Iran J Parasitol*. 2015 Jan-Mar;10(1):110-5.
- 16- Sharifdini M, Derakhshani S, Alizadeh SA, Ghanbarzadeh L, Mirjalali H, Mobedi I, et al. Molecular identification and phylogenetic analysis of human *Trichostrongylus* species from an endemic area of Iran. *Acta Trop*. 2017 Dec;176:293-9.
- 17- Sharifdini M, Heidari Z, Hesari Z, Vatandoost S, Kia EB. Molecular phylogenetics of *Trichostrongylus* species (Nematoda: Trichostrongylidae) from humans of Mazandaran province, Iran. *Korean J Parasitol*. 2017 Jun;55(3):279-85.
- 18- Daryani A, Sharif M, Nasrolahei M, Khalilian A, Mohammadi A, Barzegar G. Epidemiological survey of the prevalence of intestinal parasites among schoolchildren in Sari, northern Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2012 Aug;106(8):455-9.
- 19- Roberts LS, Janovy J. *Foundations of Parasitology*. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2012.
- 20- Ghanbarzadeh L, Saraei M, Kia EB, Amini F, Sharifdini M. Clinical and haematological characteristics of human trichostrongyliasis. *J Helminthol*. 2018 Feb:1-5.
- 21- Sharifdini M, Mirhendi H, Ashrafi K, Hosseini M, Mohebbali M, Khodadadi H, et al. Comparison of nested polymerase chain reaction and real-time polymerase chain reaction with parasitological methods for detection of *Strongyloides stercoralis* in human fecal samples. *Am J Trop Med Hyg*. 2015 Dec;93(6):1285-91.
- 22- Jongwutiwes S, Charoenkorn M, Sittichareonchai P, Akaraborvorn P, Putaporn C. Increased sensitivity of routine laboratory detection of *Strongyloides stercoralis* and hookworm by agar-plate culture. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1999 Jul;93(4):398-400.
- 23- Kia EB, Mahmoudi M, Zahabiun F, Meamar AR. An evaluation on the efficacy of agar plate culture for detection of *Strongyloides stercoralis*. *Iran J Parasitol*. 2007 Feb;2(1):29-34.
- 24- 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 Guilan Univ Med Sci*. 2017 spring;25(100):57-65. [Full text in Persian]
- 25- Sharifdini M, Ghanbarzadeh L, Kouhestani-Maklavani N, Mirjalali H, Saraei M. Prevalence and molecular aspects of human hookworms in Guilan province, northern Iran. *Iran J Parasitol*. 2017 Jul-Sep ;12(3):374-8.
- 26- Sharifdini M, Kia EB, Ashrafi K, Hosseini M, Mirhendi H, Mohebbali M, et al. An analysis of clinical characteristics of *Strongyloides stercoralis* in 70 indigenous patients in Iran. *Iran J Parasitol*. 2014 Apr-Jun;9(2):155-62.
- 27- Farahnak A. Survey on prevalence of parasites in the central area of Khouzestan. *Med J Tabriz Univ Med Sci Health Serv*. 2001 spring;35(49):57-62. [Full text in Persian]
- 28- Arakaki T, Iwanaga M, Kinjo F, Saito A, Asato R, Ikeshiro T. Efficacy of agar-plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. *J Parasitol*. 1990;76(3):425-8.
- 29- Sato Y, Kobayashi J, Toma H, Shiroma Y. Efficacy of stool examination for detection of *Strongyloides* infection. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;53(3):248-50.
- 30- Rayan HZ, Soliman RH, Galal NM. Detection of *Strongyloides stercoralis* in fecal samples using conventional parasitological techniques and real-time PCR: a comparative study. *Parasitol United J*. 2012 Sep ;5(1):27-34.
- 31- Ines Ede J, Souza JN, Santos RC, Souza ES, Santos FL, Silva ML, et al. Efficacy of parasitological methods for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* and hookworm in faecal specimens. *Acta Trop*. 2011 Dec;120(3):206-10.