The Journal of
Qazvin University of Medical Sciences (JQUMS)
February, March 2020. Vol 23. Num 6

Review Paper

Parasitological, Immunological, and Molecular Methods in Diagnosis of Human *Strongyloidiasis*

Zohreh Fakhrie-Kashan[1], *Meysam Sharifdini[2]

1. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Fakhrie-Kashan Z, Sharifdini M. Parasitological, Immunological, and Molecular Methods in Diagnosis of Human *Strongyloidiasis*: A Review. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2020; 23(6):562-575. https://doi.org/10.32598/JQUMS.23.6.8

https://doi.org/10.32598/JQUMS.23.6.8

CC BY NC

Received: 04 Dec 2018
Accepted: 21 Jan 2019
Available Online: 01 Feb 2020

Keywords:
Diagnosis, *Strongyloides stercoralis*, Human, *Strongyloidiasis*

ABSTRACT

Strongyloidiasis is caused by intestinal nematode called *Strongyloides stercoralis (S. stercoralis)* which can lead to hyperinfection syndrome and disseminated infections. If not diagnosed and properly treated, it can even lead to death. The sensitivity of parasitological methods is not high enough and multiple stool sampling over consecutive days is essential to improve the detection rate. The agar plate culture method is more sensitive to the detection of *S. stercoralis* in fecal samples than other parasitological techniques. Serological tests have demonstrated higher sensitivity, but they have low specificity because of cross-reactivity with other helminthes. Moreover, they are not helpful for follow-up of treatment, because they cannot distinguish between new and old infections. Recently, some Polymerase Chain Reaction (PCR)-based techniques have been developed for detection of *S. stercoralis* with high sensitivity and specificity. These methods are rapid but expensive and need well-equipped laboratories. In this paper, conventional and novel methods for laboratory diagnosis of *strongyloidiasis* are reviewed.

Extended Abstract

1. Introduction

Strongyloidiasis caused by intestinal nematode called *Strongyloides stercoralis* which is one of the most important neglected soil-transmitted helminth infections. This nematode is mostly found in tropical and temperate countries with poor sanitation standards; however, it has been increasing in non-endemic countries due to migration and travel [1]. The clinical presentation of *strongyloidiasis* is variable from asymptomatic infections to gastrointestinal, cutaneous, or pulmonary manifestations [1]. In immune-suppressed patients, chronic *strongyloidiasis* may lead to hyperinfection syndrome or disseminated infections [2]. With the increasing number of immunocompromised patients in the last decade, severe complicated *strongyloidiasis* has become a major health problem to such patients [2]. There is no definitive gold standard for the diagnosis of *strongyloidiasis* [3]. Therefore, reliable diagnostic techniques are needed for this purpose in at-risk people in order to decrease the mortality and morbidity rate. The aim of this study was to review the parasitological, immunological and molecular methods developed for the diagnosis of *strongyloidiasis*.

2. Materials and Methods

The search was conducted in a number of valid databases including PubMed, ScienceDirect, Scopus, Iran-

* *Corresponding Author:*
Meysam Sharifdini
Address: Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.
Tel: +98 (13) 33690884
E-Mail: sharifdini@gums.ac.ir

Medex, and Google Scholar. A total of 63 relevant papers were selected for review.

3. Results

Many parasitological methods usually rely on the detection of larvae in stool samples, such as formalin ether concentration, Baermann apparatus, Harada-Mori culture, and nutrient agar plate culture [4]. Most of parasitological techniques are insensitive, because the release of larvae is usually low and irregular in fecal samples especially in chronic infections [1]. Several studies have shown that agar plate culture is more sensitive than other techniques in the detection of *S. stercoralis* larva in fecal samples [5-7]. However, this technique is labor-intensive and time-consuming and requires multiple fresh stool samples and skillful individuals [4, 5].

Several immunological methods such as indirect agglutination test, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Indirect Immunofluorescence Assay (IFA), and dipstick test have been developed with different sensitivity and specificity depending on the used antigen and immunoglobulin isotopes [8-10]. Overall, immunodiagnostic methods have higher sensitivity than conventional parasitological methods [11]. The gelatin particle indirect agglutination test is a simple, rapid, and sensitive method with no need for any specialized equipment. This method is useful for the mass-screening of *strongyloidiasis* [12]. The IFA test is useful for the diagnosis of *strongyloidiasis* by detecting antibody in the serum of patients; however, there are some difficulties in obtaining *S. stercoralis* antigens in addition to the risk of contamination, but using other species of Strongyloides can be helpful for immunological diagnosis [11]. This technique has high sensitivity and specificity with minimal cross-reactivity with other helminthic infections. It has the advantage of determining antibody titers that can help in following up on treatment process. Another use of this technique is in epidemiological studies among at-risk people in endemic areas [11].

The ELISA method is extremely useful and considered to be superior to other serological tests regarding its high level of sensitivity for the diagnosis of *strongyloidiasis*. This technique has been widely used for the diagnosis of *S. stercoralis* infection worldwide, but one of its important disadvantages is the possibility of immunological cross-reactivity with other helminthic infections [11, 13]. A major drawback to ELISA-based diagnosis is a reliance on crude extract antigen preparation which is time-consuming and needs larvae extraction from humans or experimental animals. IgG avidity ELISA can be useful in differentiating chronic infections from acute, past, and present infections. Another important advantage of this technique is its application in monitoring the reduction of antibody titers after treatment [11, 13]. Van Doorn et al. (2007) showed that dipstick assay has a high level of accuracy for the diagnosis of *strongyloidiasis*, and has important features such as practicality, simplicity and using a small number of antigens [14].

Molecular methods have shown different results in detection of *S. stercoralis* DNA in stool samples. The method of DNA extraction is an important key factor for increasing the sensitivity of DNA-based techniques [11]. In a study carried out by Repetto et al. (2013), an In-House DNA extraction method based on efficient lysis of larvae and removal of inhibitors in the stool samples was introduced [15]. Moghaddassani et al. (2011) developed single and nested Polymerase Chain Reaction (PCR) methods for specific detection of *S. stercoralis* DNA in stool samples but sensitivity of the single PCR was higher than that of nested PCR [16]. Among DNA-based techniques, real-time PCR targeting the 18S ribosomal RNA gene of *S. stercoralis* described by Verweij et al. (2009) has been shown to be a sensitive and specific method [17]. Sharifdini et al (2015) tested both nested and real-time PCR in comparison with parasitological methods (agar plate culture and formalin ether concentration) for the detection of *S. stercoralis* in fecal samples. In their study, molecular methods were superior to parasitological methods and nested PCR was more sensitive than real-time PCR [7]. Recently, Lodh et al. (2017) showed that DNA amplification from urine is significantly more sensitive than stool examination techniques [18].

4. Discussion

Human *strongyloidiasis* is a major neglected intestinal helminthiasis which is considered as an important cause of morbidity and mortality in immunocompromised patients. Therefore, early diagnosis and treatment of *S. stercoralis* infection, when it is still in the chronic phase, is necessary [1]. Parasitological methods are not sufficiently sensitive to detect *strongyloidiasis* due to the irregular release of larvae in feces [1]. The agar plate culture has been recognized as a more sensitive method than other parasitological techniques [5, 6]. Immunodiagnostic methods have demonstrated higher sensitivity and lower specificity, because of cross-reactivity with other helminthic infections. They are useful for screening the high-risk patients but not helpful for the follow-up of treatment [11]. Recently, molecular techniques have been developed for the detection of *S. stercoralis* with high sensitivity and specificity. These methods are rapid but expensive and need well-equipped laboratories [13].

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This is a review study. No experiments were conducted on human or animal samples.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors' contributions

Investigation, resources, and writing: Zohreh Fakhrie-Kashan; Editing, review, and project administration: Meysam Sharifdini.

Conflicts of interest

The authors declared no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank Prof. Eshrat Beigom Kia (Faculty member, Tehran university of medical sciences, Iran) for her help and support.

مروری بر روش‌های انگل‌شناسی، ایمونولوژیک و مولکولی در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* انسانی

زهره فخریه کاشان[۱]، *میثم شریف دینی[۲]

۱. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم‌پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی گیلان، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳ آذر ۱۳۹۷
تاریخ پذیرش: ۰۱ بهمن ۱۳۹۷
تاریخ انتشار: ۱۲ بهمن ۱۳۹۸

کلیدواژه‌ها:
تشخیص، *استرونژیلوئیدس*، *استرکورالیس*، انسان، *استرونژیلوئیدیازیس*

چکیده

استرونژیلوئیدیازیس توسط یک نماتود روده‌ای به نام *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* ایجاد می‌شود که ممکن است منجر به سندرم‌های عفونت افزایش‌یافته و منتشره شود. اگر این عفونت به‌موقع مشخص و درمان نشود، ممکن است حتی منجر به مرگ بیماران شود. حساسیت روش‌های انگل‌شناسی به اندازه کافی بالا نیست و نمونه‌گیری مدفوع به صورت چندگانه در روزهای متوالی جهت ارتقای تشخیص ضروری است. روش کشت آگار در تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در نمونه‌های مدفوع حساس‌تر از سایر روش‌های انگل‌شناسی است. آزمایش‌های سرولوژیک، حساسیت بالایی را در تشخیص این عفونت نشان داده‌اند، اما به دلیل واکنش متقاطع با سایر کرم‌ها ویژگی پایینی دارند. همچنین روش‌های سرولوژیک برای پیگیری درمان مفید نیستند، زیرا نمی‌توانند عفونت‌های جدید و قدیمی را افتراق دهند. اخیراً برخی از روش‌های مبتنی بر PCR برای تشخیص عفونت *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* با حساسیت و ویژگی عالی توسعه یافته است. این روش‌ها سریع، اما گران هستند و نیاز به آزمایشگاه‌های مجهز دارند. در این مقاله، ۶۳ مقاله بررسی و نتایج آن‌ها استخراج شد و روش‌های متداول و جدید جهت تشخیص آزمایشگاهی *استرونژیلوئیدیازیس*، مورد بررسی قرار گرفت.

مقدمه

استرونژیلوئیدس استرکورالیس[۱] یک نماتود منتقله از طریق خاک است که عامل بیماری *استرونژیلوئیدیازیس*[۲] در انسان است [۱]. لوئیس نورمند[۳]، پزشک نیروی دریایی فرانسه در سال ۱۸۷۶ میلادی برای اولین‌بار این *انگل* را در مدفوع سربازان مبتلا به اسهال غیر قابل کنترل که از منطقه کوشین شینا[۴] (ویتنام امروز) برمی‌گشتند، مشاهده کرد و پس از سال‌ها استیلز[۵] و هاسال[۶] در سال ۱۹۰۲ نام *Strongyloides stercoralis* را پیشنهاد کردند که درنهایت در سال ۱۹۱۵ میلادی توسط کمیسیون بین‌المللی نام‌گـــذاری جانـــوران، این نام پذیرفته شد [۲].

این نماتود دارای دو شکل انگلی و آزادزی است و آلودگی به این انگل از طریق نفوذ پوستی لارو فیلاریفرم[۷] (L3) اتفاق می‌افتد. از خصوصیات بارز *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* توانایی تکثیر آن در میزبان است که خود آلودگی نامیده می‌شود و باعث بقای عفونت در میزبان می‌شود و می‌تواند چندین دهه نیز تداوم داشته باشد. خود آلودگی باعث بقای عفونت *استرونژیلوئیدیازیس* در بیماران ساکن مناطق غیراندمیک تا سال‌ها پس از ترک مناطق اندمیک است [۲]. *استرونژیلوئیدیازیس* دارای طیف وسیعی از تظاهرات بالینی است، اما به طور کلی اکثر عفونت‌های مزمن *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* فاقد علامت بالینی هستند و در صورت بروز علائم بالینی باعث عوارض پوستی، گوارشی و ریوی می‌شود [۳]. در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی و بیماری‌های زمینه‌ای نشانگان‌های عفونت افزایش یافته و منتشر می‌شود [۶-۳]. در نشانگان عفونت افزایش‌یافته تهاجم گسترده بافتی رخ داده و بیماری کشنده‌ای ایجاد می شود که به میزان ۱۵ تا ۸۷ درصد موجب مرگ‌ومیر می‌شود [۷].

1. *Strongyloides stercoralis*
2. *Strongyloidiasis*
3. Louise normand
4. Cochin China
5. Stiles
6. Hassal
7. Filariform

* نویسنده مسئول:
میثم شریف دینی
نشانی: رشت، دانشگاه علوم‌پزشکی گیلان، دانشکده پزشکی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی.
تلفن: ۳۳۶۹۰۸۸۴ (۱۳) ۹۸+
رایانامه: sharifdini@gums.ac.ir

استرونژیلوئیدس استرکورالیس در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مرطوب شایع است و در کشورهای جنوب شرقی آسیا، جنوب صحرای آفریقا، آمریکای جنوبی درصد آلودگی به آن بسیار بالاست [۸]. در سال‌های اخیر، شیوع *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به دلیل افزایش مهاجرت، مسافرت‌های بین‌المللی و افزایش تعداد بیماران دچار نقص سیستم ایمنی، رو به افزایش است [۸]. تقریباً ۳۰ تا ۱۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان به‌خصوص در مناطق روستایی به این انگل آلوده هستند [۱، ۲]. در ایران آلودگی این انگل در مناطق شمالی، استان‌های گیلان و مازندران و مناطق جنوبی، استان‌های خوزستان و هرمزگان اندمیک است [۹].

در مطالعه اشرفی و همکاران ۴۰ درصد از افراد دارای ائوزینوفیلی بالا در استان گیلان آلوده به *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* بودند [۱۰]. آخرین مطالعات انجام‌شده در ایران شیوع *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* را به شرح زیر گزارش کرده‌اند که برحسب منطقه جغرافیایی، جامعه موردمطالعه و نوع روش تشخیصی شیوع متفاوتی داشته است. در مطالعه کیا و همکاران در سال ۱۳۸۶، ۴/۹ درصد از ساکنین روستاهای مازندران و بر اساس مطالعه کیهانی و همکاران در سال ۱۳۹۱، ۱/۲ درصد از ساکنین شهرستان‌های دزفول، اندیمشک و شوش آلوده به *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* بودند [۱۱، ۱۲].

در مطالعه سعیدی‌نیا و همکاران در سال ۱۳۹۵، ۱/۲ درصد از معلولین ذهنی ساکن در مراکز توان‌بخشی رشت به این انگل آلوده بودند [۱۳]. اخیراً در بررسی قنبرزاده و همکاران در سال ۱۳۹۴ در ساکنین روستاهای فومن، فراوانی عفونت *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* با روش کشت در محیط نوترینت آگار ۱/۵ درصد برآورد شد [۱۴]. در مطالعه رفیعی و همکاران در شهر اهواز ۱۴/۴ درصد بیماران مبتلا به ایدز و انواع بدخیمی‌ها با روش سرولوژیک به *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* آلوده بودند [۱۵]. در مطالعه اسماعیلی و همکاران، ۱/۴ درصد بیماران مبتلا به سرطان در استان مازندران با روش فرمالین ـ اتیل استات، آلوده به انگل *استرونژیلوئیدس* بودند [۱۶].

روش‌های تشخیص آزمایشگاهی *استرونژیلوئیدیازیس* عمدتاً بر مشاهده لارو انگل با آزمایش میکروسکوپی نمونه‌های مدفوع استوار است. اما اکثر روش‌های انگل‌شناسی حساسیت کافی برای تشخیص این انگل را ندارند؛ زیرا در بسیاری از موارد بار کرمی در روده بسیار کم است و دفع لارو محدود است. بنابراین لازم است آزمایش به دفعات تکرار شود تا حساسیت روش به حد قابل اعتمادی برسد؛ از طرف دیگر این روش‌ها پُرزحمت و وقت‌گیر هستند [۱۷-۱۹]. در سال‌های اخیر روش‌های مختلف سرولوژی و مولکولی نیز جهت تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* مورد ارزیابی قرار گرفته است که برخی از آن‌ها نیز دارای حساسیت و ویژگی بسیار بالایی بودند [۳، ۱۸]. در مقاله مروری حاضر درباره روش‌های تشخیصی رایج و نوین انگل‌شناسی، سرولوژی و مولکولی و همچنین مزایا و معایب هریک از این روش‌ها به طور مختصر بحث خواهد شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری، ۶۳ مقاله ثبت‌شده در پایگاه‌های علمی اطلاعاتی معتبر شامل ساینس دایرکت، پابمد، اسکوپوس، ایران‌مدکس و گوگل اسکالر با استفاده از کلیدواژه های تشخیص، *استرونژیلوئیدس استرکورالیس*، انسان، *استرونژیلوئیدیازیس* با هدف مروری بر روش‌های انگل‌شناسی، ایمونولوژیک و مولکولی در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* انسانی بررسی شدند.

روش‌های انگل‌شناسی

گسترش مرطوب (مستقیم)

گسترش مستقیم مدفوع ساده‌ترین و ارزان‌ترین روش تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* است، اما این روش در تشخیص این انگل حساسیت بسیار پایینی دارد و تن‌ها می‌تواند در موارد عفونت با بار انگلی زیاد کارایی داشته باشد و سبب تشخیص سریع بیماری شود [۳، ۱۱].

روش رسوبی فرمالین ـ اتر

روش فرمالین ـ اتر جهت تشخیص کیست تک‌یاخته‌ها، اووسیست‌ها، تخم کرم‌ها و لاروها مناسب است [۲]. از مزایای روش تغلیظ فرمالین ـ اتر نسبت به روش کشت نوترینت آگار در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* این است که در صورت مرگ لاروهای انگل در نمونه مدفوع، نیز قادر به تشخیص آلودگی است. اما حساسیت این روش کمتر از روش کشت نوترینت آگار است [۱۱].

بر اساس مطالعات انجام‌گرفته در زمینه تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* با استفاده از روش‌های انگل‌شناسی حساسیت روش تغلیظ فرمالین ـ اتر بین ۱۷ تا ۷۲ درصد گزارش شده است [۲۰، ۲۱]. بررسی اینتاپن[8] و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که روش فرمالین ـ اتیل استات تنها زمانی می‌تواند جایگزین روش کشت آگار شود که در هر گرم مدفوع بیش از ۵۰ لارو وجود داشته باشد [۲۲]. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۰ در کشور تایلند نشان داد که در روش فرمالین ـ اتر ۶۲/۵ درصد از لاروها در لایه مواد زائد مدفوع، ۳۲/۵ درصد در لایه فرمالین و تنها پنج درصد از لاروها در رسوب قرار دارند [۲۳].

روش کشت آگار

کشت مدفوع در نوترینت آگار حساس‌ترین روش انگل‌شناسی برای

8. Intapan

تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* است [۱۱، ۲۳]. در این روش حدود دو تا سه گرم مدفوع بر روی محیط کشت نوترینت آگار قرار داده می‌شود. پس از دو تا سه روز انکوباسیون در دمای ۲۶ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد از نظر وجود کرم‌های آزادزی *استرونژیلوئیدس استرکورالیس*، لاروها و ردپای آن‌ها در زیر استریو میکروسکوپ یا لوپ مورد بررسی قرار می‌گیرد. با روش کشت آگار می‌توان بیشتر از ۹۰ درصد از بیماران را تشخیص داد [۲۳]. این روش ۴/۴ برابر از اسمیر مستقیم و ۲/۴ تا ۴/۵ برابر از روش فرمالین ـ اتر در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* مؤثرتر است [۲۴]. کشت نوترینت آگار دوره انکوباسیون کوتاه‌تری از روش هارادا ـ موری[9] دارد و ۱/۷ برابر از آن در تشخیص مؤثرتر است [۶، ۲۵].

مطالعات مختلف نشان دادند که حساسیت روش کشت آگار با در نظر گرفتن مجموع چند روش انگل‌شناسی به عنوان استاندارد طلایی بین ۷۰ تا ۱۰۰ درصد است [۳، ۱۸، ۲۶]. علی‌رغم حساسیت بالای روش کشت آگار، این روش پُرزحمت و وقت‌گیر بوده و نیازمند آزمایش سه نوبته مدفوع است. همچنین در این روش نیاز به مدفوع تازه و انگل زنده است و در صورت مرگ لارو در نمونه مدفوع، نتیجه کشت منفی می‌شود. از طرف دیگر جهت بررسی محیط‌های کشت نیاز به فرد آزمایش‌کننده باتجربه و مهارت دارد [۳، ۱۱]. البته صرفاً مشاهده رد پا، لارو یا کرم بالغ انگل در زیر استریو میکروسکوپ دلیل بر آلودگی به *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* نیست و برای تشخیص قطعی حتماً باید لارو یا کرم بالغ این انگل در مایع شسته شده از محیط کشت مشاهده شود و بر اساس ویژگی‌های ظاهری[10] از سایر نماتودها مانند لاروهای کرم‌های قلاب‌دار و *تریکوسترونژیلوس* و همچنین لاروها و کرم‌های بالغ نماتودهای آزادزی که ممکن است در محیط کشت دیده شوند، متمایز شود [۱۸، ۲۷-۲۹].

سیلویا[11] و همکاران روش کشت آگار را جهت تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* وابسته به شدت بیماری دانستند و حساسیت این روش را در بیمارانی که بیش از ۱۰ لارو در هر گرم مدفوع داشتند، ۱۰۰ درصد گزارش کردند. در حالی که در همین مطالعه روش سدیمانتاسیون خودبه‌خودی[12] نمونه‌ها با بار انگلی ۵۰ لارو در هر گرم مدفوع دارای چنین حساسیتی بود [۳۰].

روش هارادا ـ موری

این روش به نام روش فیلتر کاغذی[13] یا روش نوار کاغذ صافی نیز معروف است. این روش حساسیت بالاتری نسبت به روش گسترش مستقیم دارد، اما تا حدودی غیراستاندارد و زمان‌بر است. همچنین حساسیت این روش جهت تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* به اندازه کرم‌های قلاب‌دار نیست. در این روش ابتدا مدفوع بیمار را بر روی نوار کاغذ صافی پخش کرده و سپس آن را در داخل یک لوله آزمایش حاوی حدود دو تا سه سانتی‌متر مکعب آب مقطر قرار می‌دهند. این لوله‌ها در دمای ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج روز نگهداری شده و سپس مایع داخل لوله‌های آزمایش پس از سانتریفیوژ از نظر وجود لارو و یا کرم بالغ آزادزی بررسی می‌شود [۲-۴].

کشت روی زغال چوب

در این روش ۵ تا ۱۰ گرم از مدفوع را به شکلی با زغال مخلوط کرده که وجود مدفوع به زحمت تشخیص داده شود. سپس این مخلوط را بر روی پتری دیش به قطر ۱۰ سانتی‌متر قرار داده و به مدت چهار روز به صورت مرطوب در دمای اتاق قرار داده می‌شود. درنهایت لارو عفونت‌زا را می‌توان با قلم موی نقاشی نرم از قطره‌های جمع شده روی دریچه برداشت کرد. همچنین برای جداکردن لاروها می‌توان از دستگاه برمن[14] نیز استفاده کرد [۳۱]. این روش برای تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* در مناطق دورافتاده مناسب است، زیرا نیاز به آزمایشگاه مجهز ندارد [۳۲].

روش برمن

با استفاده از این روش می‌توان لارو مرحله اول *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* را از مدفوع تازه استخراج کرد. در این روش مدفوع تازه را درون پارچه تنظیف قرار داده و سپس داخل یک الک فلزی گذاشته می‌شود. در مرحله بعد الک فلزی درون یک قیف حاوی آب گرم قرار داده می‌شود. لاروها از پارچه خارج شده و وارد آب می‌شوند و سپس در ته لوله جمع می‌شوند. لاروها را می‌توان با باز کردن گیره ته لوله جمع‌آوری کرد. مقدار مدفوع مورد استفاده در این روش بین ۵ تا ۲۵ گرم متغیر است.

استفاده از مقدار بیشتر مدفوع باعث افزایش حساسیت این روش می‌شود. هرچند روش برمن به علت جمع‌آوری تعداد زیاد لارو جهت مطالعات تحقیقاتی، روش بسیار خوبی است، اما این روش پُرزحمت بوده و به همین دلیل در آزمایشگاه‌های بالینی متداول نیست [۳، ۳۱]. مطالعات سال‌های اخیر در زمینه تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* با استفاده از روش‌های انگل‌شناسی حساسیت روش برمن را ۷۲ تا ۸۸/۹ درصد گزارش کرده‌اند [۲۶، ۳۳-۳۵].

آزمایش محتویات دوازدهه

در صورت منفی‌بودن آزمایش مدفوع و شک به بیماری می‌توان از تست نخ یا انتروتست[15] استفاده کرد. در این روش تمام اشکال انگل (لارو، تخم و کرم بالغ) را می‌توان در نمونه

9. Harada- Mori
10. Morphology
11. Silva
12. Lutz method
13. Filter paper
14. Baerman apparatus
15. Entero test

به‌دست‌آمده مشاهده کرد. برای انجام این آزمایش بیمار یک کپسول ژلاتینی را که حاوی ۹۰ سانتی‌متر نخ است می‌بلعد. پس از چهار ساعت نخ به بالا کشیده می‌شود و مخاط آغشته به صفرا که به کپسول چسبیده است در زیر میکروسکوپ مورد آزمایش قرار می‌گیرد [۳۶]. در مطالعه‌ای که توسط گوکا[16] و همکاران در سال ۱۹۹۰ انجام شد، لارو *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در ۷۶ درصد موارد در دئودنوم یافت شد که در ۶۷ درصد موارد این انگل در آزمایش مدفوع مشاهده نشده بود [۳۷]. در این روش به دلیل اینکه لارو همیشه به موکوس حمله نمی‌کند و یا امکان درست انجام‌نشدن نمونه‌برداری وجود دارد، پاسخ منفی کاذب محتمل است [۳۸، ۳۹].

بررسی مایعات و بافت‌های بدن

گاهی لارو را می‌توان در نمونه خلط، بیوپسی از روده، آسپیره دئودنال[17] و مایعات ریوی در مبتلایان به سندرم عفونت افزایش‌یافته مشاهده کرد. همچنین گاهی لاروهای *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در ادرار و مایع مغزی و نخاعی در مبتلایان به *استرونژیلوئیدیازیس* منتشر دیده می‌شود [۳، ۳۲].

روش‌های ایمنی‌شناختی

تاکنون روش‌های ایمنی‌شناختی متنوعی بر اساس تجسس آنتی‌بادی‌ها علیه آنتی‌ژن‌های لارو *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* ابداع شده و مورد استقبال قرار گرفته است. در جدول شماره ۱ میزان حساسیت و ویژگی رایج‌ترین روش‌های سرولوژیک در مطالعات اخیر نشان داده شده است.

تست پوستی

در مطالعه نوا[18] و همکاران در سال ۲۰۰۱، آنتی‌ژن‌های سوماتیک و دفعی ـ ترشحی استخراج‌شده از لاروهای فیلاریفرم *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* به نسبت‌های مختلف و در گروه‌های متفاوت بیماران ارزیابی شد و در ۸۲ تا ۱۰۰ درصد افراد آلوده، تست پوستی در دُز ۰/۳۵ میکروگرم آنتی‌ژن دفعی ـ ترشحی و چهار میکروگرم آنتی‌ژن سوماتیک، پاسخ مثبت نشان داد؛ که این به وضعیت و مرحله پیشرفت بیماری بستگی داشت. در بیمارانی که همزمان به *استرونژیلوئیدیازیس* و ویروس لنفوتروپیک انسانی تیپ یک[19] آلوده بودند تعداد کمی تست‌های پوستی مثبت داشتند. همچنین واکنش متقاطع (به‌خصوص در مورد آنتی‌ژن‌های سوماتیک) در بین بیماران مبتلا به عفونت‌های فیلریایی مشاهده شد [۴۰].

16. Goka
17. Aspiration of duodenum
18. Neva
19. Humans t-lymphotropes virus 1 (HTLV-1)

تست آگلوتیناسیون توسط ذرات ژلاتین

ساتو[20] و همکاران در سال ۱۹۹۱ روش آگلوتیناسیون ذرات ژلاتین جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* را ابداع کردند و در شرایط میدانی در ژاپن مورد ارزیابی قرار دادند. از آنجایی که ذرات لاتکس خنثی هستند، در این روش نیازی به جذب سرم قبل از انجام آزمایش وجود ندارند. این روش قابلیت زیادی برای استفاده در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و غربالگری گسترده در شرایط میدانی دارد. اگرچه این روش در مقایسه با تست الایزا تعداد مثبت کاذب بیشتری دارد، اما به علت سادگی و عدم نیاز به تجهیزات خاص برای شرایط میدانی مناسب است [۴۱].

تست ایمونوفلورسانس غیرمستقیم

روش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم[21] از نظر تکنیکی از الایزا پیچیده‌تر است و نیاز به کارکنان ماهر برای آماده‌سازی آنتی‌ژن و خواندن اسلایدها دارد. نتایج روش IFA بر خلاف الایزا می‌تواند کمّی باشد و تیتر دقیق آنتی‌بادی را تعیین کند که این مزیت، تست را جهت پیگیری اثر درمان بیماران مناسب می‌سازد [۴۲، ۴۳]. در مطالعه باسکلو[22] و همکاران در سال ۲۰۰۷، ۱۵۵ بیمار چهار ماه پس از درمان با این روش مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیتر آنتی‌بادی به مقدار دو برابر یا بیشتر در ۶۰ درصد از بیماران کاهش پیدا کرد. تیتر آنتی‌بادی مناسب برای تشخیص بیشتر مساوی با ۱:۲۰ و تیتر مناسب جهت تخمین کارایی درمان در مطالعات بالینی بیشتر، مساوی با ۱:۸۰ تعیین شد [۴۲]. به علت دشوار بودن تهیه آنتی‌ژن‌های *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* و خطر آلودگی با این گونه در طول کار، استفاده از دیگر گونه‌های *استرونژیلوئیدس* به تشخیص ایمونولوژیک عفونت کمک می‌کند [۴۴].

استفاده دیگر از این روش، کاربرد آن در بررسی اپیدمیولوژیک است. با توجه به اهمیت تغذیه با شیر مادر برای محافظت از نوزاد در برابر این عفونت، ماتا فریرا[23] و همکاران یک مطالعه با هدف شناسایی آنتی‌بادی‌های IgG و IgA ضد *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در سرم و شیر زنان شیرده انجام دادند. در این بررسی نشان داده شد که ۴/۴ درصد از زنان شیرده با روش‌های انگل‌شناسی به *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* آلوده بودند. همچنین این مطالعه نشان داد که تکنیک IFA در تشخیص این بیماری انگلی مفید است و سطح بالایی از توافق را با روش الایزا در شناسایی IgG و IgA ضد *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در سرم و شیر دارد [۴۵].

تست ایمونوفلورسانس با استفاده از برش‌های کرایو میکروتوم لاروهای عفونت‌زای *استرونژیلوئیدس ونزوئلنسیس* به عنوان

20. Sato
21. Indirect immunofluorescence assay (IFA)
22. Boscolo
23. Mota-Ferreira

آنتی‌ژن می‌تواند به عنوان یک روش کمکی برای تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* مورد استفاده قرار گیرد [۴۴]. در مطالعه کوشا و همکاران حساسیت و ویژگی تست IFA به ترتیب ۸۷ و ۹۰/۱ درصد گزارش شد [۴۶]. در بررسی انجام‌شده توسط بیسوفی[۲۴] و همکاران روش‌های سرولوژی IFA، تست الایزا با یک آنتی‌ژن نوترکیب ۳۱ کیلودالتون و همچنین کیت‌های تجاری با یکدیگر مقایسه شدند. و نتیجه این بود که روش IFA، ۹۴/۶ درصد حساسیت دارد، در حالی که NIE-LIPS با ۹۹/۶ درصد بالاترین اختصاصیت را نسبت به سایر تست‌ها داراست و هیچ واکنش متقاطعی با سایر انگل‌ها ندارد [۴۷].

روش الایزا

امروزه تست الایزا جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما کاربرد تست الایزا در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* در بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی محدود است. از این روش می‌توان جهت مطالعات اپیدمیولوژیک در جمعیت‌های مختلف شامل مسافرین، مهاجرین و پناهندگان به کشورهای پیشرفته استفاده کرد. اما در جمعیت‌های مختلف حساسیت این روش جهت تشخیص متفاوت است [۴۴].

به منظور تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* چندین روش آماده‌سازی آنتی‌ژن‌های *استرونژیلوئیدس* از مراحل تکاملی مختلف انگل مانند تخم‌ها، لاروها، کرم‌های بالغ و همچنین آنتی‌ژن‌های دفعی ـ ترشحی وجود دارد. یک مشکل عمده در تشخیص عفونت *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* با روش الایزا، تهیه آنتی‌ژن عصاره خام است که اغلب زمان‌بر است و به دفع لارو از انسان یا حیوانات آزمایشگاهی که به شدت آلوده هستند بستگی دارد. بنابراین، محققان ترجیح می‌دهند با آنتی‌ژن‌های نوترکیب کار کنند؛ زیرا بر خلاف آنتی‌ژن‌های خام، به‌راحتی تخلیص می‌شوند و به مقدار زیاد تولید می‌شوند [۴۴]. در یک مطالعه در سال ۲۰۰۸، یک آنتی‌ژن نوترکیب ۳۱ کیلودالتون (NIE) به‌دست‌آمده از مرحله لاروی سوم *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* به ترتیب دارای ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی ۸۸ و ۹۹ درصد برای جست‌جوی IgG و ۱۰۰ و ۶۴ درصد برای شناسایی IgG4 بود [۴۸]. بیسوفی و همکاران نشان دادند که حساسیت روش‌های الایزا با استفاده آنتی‌ژن‌های نوترکیب از ۷۵/۴ تا ۸۵/۱ درصد و ویژگی آن‌ها از ۹۴/۸ تا ۱۰۰ درصد است [۴۷].

یکی از تکنیک‌های مفید الایزا جهت افتراق عفونت حاد از عفونت مزمن که امروزه توسعه یافته است، روش ELISA-avidity است [۴۴]. در مطالعه گونزاگا[۲۵] و همکاران در سال ۲۰۱۱ روش الایزا به منظور سنجش اویدیتی IgG، توانست عفونت حاد را از نتایج سرولوژیک مثبت کاذب افتراق دهد [۴۹]. روش الایزا در پایش کاهش تیتر آنتی‌بادی‌های *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در طی روند درمان مفید است. در روش الایزا با استفاده از آنتی‌ژن خام، حدود ۶ تا ۱۲ ماه پس از درمان موفقیت‌آمیز، آنتی‌بادی‌های سرم کاهش می‌یابد [۲].

بیگز[۲۶] و همکاران نشان دادند که ۶۵ درصد بیماران تحت درمان با دو دُز داروی آیورمکتین[۲۷]، کاهش تیتر آنتی‌بادی را نسبت به شروع درمان داشتند [۵۰]. اما تفاوت در تیتر آنتی‌بادی در افراد مناطق مختلف و شرایط ایمنولوژیک متفاوت، مانع تعیین یک حد جداکننده[۲۸] واحد می‌شود [۵۱]. اگرچه ارزش اخباری منفی روش الایزا در افراد دارای سیستم ایمنی کارآمد ۹۵ درصد گزارش شده است، اما نتایج منفی کاذب بالا در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی می‌تواند به علت پاسخ سیستم ایمنی هومورال ضعیف در این بیماران باشد [۵۲]. این ویژگی، پایش پس از درمان این بیماران و فراهم‌کردن یک معیار درمان مناسب بر اساس تیتر آنتی‌بادی را مشکل می‌کند.

البدری[۲۹] در سال ۲۰۰۹ یک تست الایزا جهت تشخیص کوپرو آنتی‌ژن *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* ابداع کرد. این تکنیک در شناسایی کوپرو آنتی‌ژن در مدفوع بیماران آلوده بسیار مؤثر و حساس بود و هیچ‌گونه واکنش متقاطعی با کوپرو آنتی‌ژن‌ها در نمونه‌های مدفوع بیماران مبتلا به *شیستوزوما مانسونی*[۳۰]، *فاسیولا ژیگانتیکا*[۳۱] و *کاپیلاریا فیلیپیننسیس*[۳۲] نداشت [۵۳]. با توجه به اینکه تست‌های سرولوژی نمونه‌های خون، روش تهاجمی برای بیماران است، امودوموکارن[۳۳] و همکاران از نمونه ادرار به عنوان یک روش غیرتهاجمی جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* استفاده کردند. این محققین با روش ELISA-IgG، نمونه‌های ادرار بیماران را با حساسیت ۹۲/۷ درصد جهت تشخیص گزارش کردند و این تست را مناسب برای غربالگری *استرونژیلوئیدیازیس* مناطق اندمیک معرفی کردند [۵۴].

روش دیپ استیک[۳۴]

تاکنون مطالعات کمی جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* با روش دیپ استیک انجام شده است. ون دورن[۳۵] و همکاران نشان دادند که این روش دارای کارایی بالایی در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* است. همچنین این روش ساده است و

24. Bisoffi
25. Gonzaga
26. Biggs
27. Ivermectin
28. Cut off
29. El-Badry
30. *Schistosoma mansoni*
31. *Fasciola gigantica*
32. *Capillaria philippinensis*
33. Eamudomkarn
34. Dipstick
35. Van Doorn

جدول ۱. مقایسه میزان حساسیت و ویژگی روش‌های سرولوژیک رایج در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* [۲۶، ۴۲، ۴۸-۴۶، ۵۵]

نوع روش سرولوژیک	حساسیت (درصد)	ویژگی (درصد)	مرجع
IFAT	۹۷/۴ – ۷۴/۱	۹۸/۴ – ۸۷/۴	[۲۶، ۴۲، ۴۶، ۴۷]
NIE-ELISA	۹۷ – ۷۰/۸	۱۰۰ – ۹۱/۱	[۲۶، ۴۷، ۴۸]
NIE-LIPS	۹۷/۸ – ۸۳/۸	۱۰۰ – ۸۹/۱	[۲۶، ۴۷، ۴۸]
IVD-ELISA	۹۲/۳ – ۸۸/۹	۹۷/۴ – ۹۳/۳	[۲۶، ۴۷، ۵۵]
Bordier ELISA	۹۰/۸ – ۸۳/۳	۹۷/۲ – ۹۱/۱	[۴۷، ۵۵]

مجله‌علمی
دانشگاه‌علوم‌پزشکی قزوین

نیاز به مقدار کم آنتی‌ژن دارد؛ اما با این حال این روش نیاز به مطالعات بیشتری دارد [۵۵].

پاک[36] و همکاران در سال ۲۰۱۴ یک روش ایمونولوژیک جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* با استفاده از تکنولوژی حسگر زیستی نوری جدید بر پایه انکسار طراحی کردند. در این روش از آنتی‌ژن نوترکیب ۳۱ کیلو دالتونی NIE به‌دست‌آمده از لاروی L3 *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* استفاده شد. نتایج این روش سرولوژی در کمتر از ۳۰ دقیقه آماده شد و میزان توافق بالایی (۹۱ درصد) با روش NIE ELISA دارد [۵۶].

روش‌های مولکولی

در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های مختلف مولکولی جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* مورد توجه محققین قرار گرفته است. از مزایای این روش‌ها این است که به کارکنان و افراد کارآزموده در زمینه تشخیص میکروسکوپی نیاز ندارند و وقت‌گیر نیز نیستند. از دیگر مزایای این روش‌ها حساسیت و تکرارپذیری آن‌هاست و از آنجا که هدف تشخیص، حضور DNA انگل است، به مرحله تکاملی انگل از جمله تخم، لارو و یا انگل بالغ بستگی ندارند و نیز می‌توانند DNA حتی یک عدد لارو را هم ردیابی کنند [۱۸، ۵۷]. اما این روش‌ها به علت پُرهزینه بودن در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد و عمدتاً محدود به آزمایشگاه‌های تحقیقاتی هستند.

تاکنون از روش‌های مولکولی همانند Nested PCR، PCR و Real-time PCR جهت تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در نمونه‌های مدفوع استفاده شده است و میزان حساسیت و ویژگی این روش‌ها در مطالعات مختلف با یکدیگر متفاوت بوده است [۱۸، ۴۴]. به منظور ردیابی حضور DNA انگل در نمونه مدفوع، اولین گام انتخاب روشی مناسب جهت استخراج DNA از لاروهای رابدیتیفرم[37] موجود در نمونه مدفوع مبتلایان به انگل *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* است [۱۸، ۵۸]. میزان تخم‌ریزی کرم ماده انگلی استرونژیلوئیدس استرکورالیس بسیار کم است؛ به طوری که هر کرم روزانه ۶۰ تخم می‌گذارد [۲۵]. علاوه بر این دفع لارو رابدیتیفرم انگل *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* از طریق مدفوع در افراد مبتلا به صورت متناوب است و تعداد لاروی دفع‌شده در موارد مزمن بیماری نیز کم است. بنابراین انتخاب یک روش استخراج DNA استاندارد به منظور ردیابی حضور DNA انگل در نمونه مدفوع بسیار با اهمیت است [۳].

رپتو[38] و همکاران در سال ۲۰۱۳، نشان دادند که استخراج DNA با روش دستی خاص می‌تواند باعث افزایش حساسیت روش PCR در تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* شود. در این روش بر خلاف کیت‌های تجاری که از ۲۰۰ میلی‌گرم مدفوع برای استخراج DNA استفاده می‌کنند، از یک گرم مدفوع استفاده شد که می‌تواند یکی از دلایل حساسیت بالای این روش باشد [۵۸]. علاوه بر نوع روش استخراج DNA، ژن مورد بررسی و نوع روش مولکولی نیز در میزان حساسیت این روش‌ها تأثیرگذار هستند [۱۸].

در مطالعه مقدس ثانی و همکاران جهت تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در مدفوع از روش‌های Single PCR و Nested-PCR جهت تکثیر ناحیه ژنی 18S rDNA استفاده شد. در این مطالعه هنگامی که از کیت استخراج از مدفوع کیاژن استفاده شد، حساسیت روش‌های Single PCR و Nested–PCR به ترتیب ۶۸/۵ و ۶۲/۵ درصد بود. اما بعد از تغلیظ نمونه مدفوع با روش اسید ـ اتر و سپس استخراج DNA با کیت استخراج از مدفوع کیاژن، حساسیت روش Single PCR و Nested–PCR به ترتیب به ۷۵ و ۱۰۰ درصد افزایش یافت [۵۹]. در مطالعه ورویج[39] و همکاران نشان داده شد که روش Real-time PCR درصد بالاتری از عفونت به *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* را در نمونه‌های مدفوع نسبت به سایر روش‌های انگل‌شناسی شناسایی کرده است و دارای حساسیت بالا و ویژگی ۱۰۰ درصد است [۶۰]. همچنین در مطالعه رایان[40] و همکاران حساسیت و ویژگی روش Real-time PCR با در نظر گرفتن

36. Pak
37. Rhabditiform
38. Repetto
39. Verweij
40. Rayan

روش‌های انگل‌شناسی به عنوان استاندارد طلایی به ترتیب ۱۰۰ و ۹۴/۸ درصد بود [۳۵].

در مطالعه شار[41] و همکاران از روش Real-time PCR جهت تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* و کرم‌های قلاب‌دار در کودکان مدرسه‌ای فاقد علائم بالینی کشور کلمبیا استفاده شد. در این مطالعه با در نظر گرفتن روش‌های انگل‌شناسی به عنوان استاندارد طلایی، حساسیت و ویژگی روش Real-time PCR در تشخیص *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در نمونه مدفوع به ترتیب ۸۸/۹ و ۹۲/۷ درصد محاسبه شد [۶۱].

در مطالعه شریف دینی و همکاران از روش دستی[42] اصلاح شده برای استخراج DNA و از یک گرم مدفوع استفاده شد. حساسیت و ویژگی روش Nested-PCR جهت تکثیر ناحیه ژنی Cox1[43] با در نظر گرفتن نتایج روش‌های انگل‌شناسی به عنوان استاندارد طلایی به ترتیب ۱۰۰ و ۹۱/۶ درصد محاسبه شد. در حالی که حساسیت و ویژگی روش Real-time PCR با استفاده از ژن 18S rDNA در مقایسه با روش‌های انگل‌شناسی به ترتیب ۹۶/۶ و ۸۱/۸ درصد گزارش شد [۱۸].

پائولا[44] و همکاران روش‌های سرولوژی الایزا با استفاده از آنتی‌ژن‌های غشایی و محلول، روش‌های پارازیتولوژی و روش Real-time PCR را جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی با یکدیگر مقایسه کردند. در این مطالعه حساسیت و ویژگی روش‌های الایزا به ترتیب ۸۵ تا ۹۰ درصد و ۹۳/۶ تا ۹۵/۲ درصد گزارش شد. همچنین میزان حساسیت و ویژگی روش Real-time PCR به ترتیب ۸۵ و ۸۷/۳ درصد محاسبه شد [۶۲].

در مطالعه لوده[45] و همکاران روش PCR جهت ردیابی DNA *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* در نمونه‌های ادرار با روش‌های انگل‌شناسی (کشت مدفوع و گسترش مستقیم) مقایسه شد. در این بررسی ۲۸ درصد از افراد با روش انگل‌شناسی و ۴۴/۸ درصد با روش PCR آلوده گزارش شدند. از طرف دیگر در نمونه مدفوع ۶/۴ درصد از افراد مورد بررسی لارو *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* مشاهده شد؛ در حالی که نتیجه روش PCR در مورد آن‌ها منفی بود [۶۳].

بحث و نتیجه‌گیری

با افزایش روزافزون مبتلایان به نقص سیستم ایمنی در سراسر جهان، *استرونژیلوئیدیازیس* به یکی از نگرانی‌ها و معضلات بهداشتی تبدیل شده است. به همین علت تشخیص عفونت *استرونژیلوئیدس استرکورالیس* به ویژه زمانی که بار انگلی پایین و بیمار فاقد علائم بالینی باشد، از اهمیت زیادی برخوردار است. در این مقاله مروری، مزایا و معایب روش‌های مختلف انگل‌شناسی، ایمنی‌شناسی و مولکولی جهت تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* مورد بررسی قرار گرفته است که به طور کلی عبارت‌اند از:

۱. بیشتر روش‌های انگل‌شناسی حساسیت لازم را جهت تشخیص این انگل ندارند، ولی در بین آن‌ها روش کشت آگار حساسیت بالاتری دارد. اما در این روش نیاز به مدفوع تازه و انگل زنده است و نمونه‌های نگهداری‌شده در فرمالین یا الکل مناسب نیستند. از طرف دیگر این روش پُرزحمت و وقت‌گیر و نیازمند تکنیسین‌های آموزش‌دیده است.

۲. روش‌های ایمنی‌شناختی به‌خصوص روش الایزا دارای حساسیت بالایی در تشخیص *استرونژیلوئیدیازیس* هستند، اما به دلیل واکنش‌های متقاطع با سایر عفونت‌های کرمی و ناتوانی در جداسازی عفونت‌های جاری از عفونت‌های گذشته کارایی چندانی ندارند. از طرف دیگر بیشتر روش‌های سرولوژی جهت پیگیری درمان مناسب نیستند. این روش‌ها به دلیل سهولت انجام در بسیاری از آزمایشگاه‌های مناطق آندمیک ایران مورد استفاده قرار می‌گیرند.

۳. امروزه استفاده از روش‌های مولکولی جهت تشخیص بیماری‌های انگلی به طور روزافزونی در حال گسترش است. از مزایای این روش‌ها این است که دارای حساسیت و ویژگی بالایی هستند و به پرسنل و افراد کارآزموده در زمینه تشخیص میکروسکوپی نیاز ندارند و وقت‌گیر نیز نیستند. اما امروزه به دلیل پُرهزینه‌بودن، استفاده از این روش‌ها محدود است و در تشخیص رایج این بیماری جایگاهی ندارند. امید است به‌کارگیری این روش‌ها در آینده بتواند محدودیت‌های روش‌های رایج تشخیصی را جبران کند و با تشخیص افراد آلوده، قبل از درمان با داروهای تضعیف‌کننده سیستم ایمنی به‌ویژه در مناطق اندمیک، باعث جلوگیری از پیامدهای مرگ‌بار ناشی از این انگل شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

باتوجه به نوع مطالعه، نیازی به کد اخلاق نبوده است.

حامی مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

جست‌وجو و جمع‌آوری منابع و نگارش: زهره فخریه کاشان؛ مدیریت پروژه و ویرایش نهایی مقاله: میثم شریف‌دینی.

41. Schar
42. In House (IH)
43. Cytochrome c oxidase subunit 1
44. Paula
45. Lodh

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان در این مطالعه هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از سرکار خانم دکتر عشرت بیگم کیا عضو هیئت‌علمی دانشگاه علوم‌پزشکی تهران به خاطر پیشنهادات ارزشمندشان قدردانی می‌شود.

References

[1] Olsen A, van Lieshout L, Marti H, Polderman T, Polman K, Steinmann P, et al. *Strongyloidiasis*-the most neglected of the neglected tropical diseases? Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009; 103(10):967-72. [DOI:10.1016/j.trstmh.2009.02.013] [PMID]

[2] Gillespie SH, Pearson RD, editors. Principles and practice of clinical parasitology. 1st ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2001. [DOI:10.1002/0470842504]

[3] Ericsson CD, Steffen R, Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Clin Infect Dis. 2001; 33(7):1040-7. [DOI:10.1086/322707] [PMID]

[4] Keiser PB, Nutman TB. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. Clin Microbiol Rev. 2004; 17(1):208-17. [DOI:10.1128/CMR.17.1.208-217.2004] [PMID] [PMCID]

[5] Carvalho EM, Da Fonseca Porto A. Epidemiological and clinical interaction between HTLV-1 and *Strongyloides stercoralis*. Parasite Immunol. 2004; 26(11-12):487-97. [DOI:10.1111/j.0141-9838.2004.00726.x] [PMID]

[6] Marchi Blatt J, Cantos GA. Evaluation of techniques for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in human immunodeficiency virus (HIV) positive and HIV negative individuals in the city of Itajai, Brazil. Braz J Infect Dis. 2003; 7(6):402-8. [DOI:10.1590/S1413-86702003000600008] [PMID]

[7] Hafizi MM, Samoorian S. Fatal *strongyloidiasis* following massive corticosteroid therapy. Acta Med Iran. 1985; 27(1-4):71-8. http://acta.tums.ac.ir/index.php/acta/article/view/187

[8] Schär F, Trostdorf U, Giardina F, Khieu V, Muth S, Marti H, et al. *Strongyloides stercoralis*: Global distribution and risk factors. PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7(7):e2288. [DOI:10.1371/journal.pntd.0002288] [PMID] [PMCID]

[9] Sharifdini M, Kia EB, Ashrafi K, Hosseini M, Mirhendi H, Mohebali M, et al. An analysis of clinical characteristics of *Strongyloides stercoralis* in 70 indigenous patients in Iran. Iran J Parasitol. 2014; 9(2):155-62. [PMID] [PMCID]

[10] Ashrafi K, Tahbaz A, Rahmati B. *Strongyloides stercoralis*: The most prevalent parasitic cause of eosinophilia in Gilan Province, Northern Iran. Iran J Parasitol. 2010; 5(3):40-7. [PMID] [PMCID]

[11] 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; 2(1):29-34. http://ijpa.tums.ac.ir/index.php/ijpa/article/view/15

[12] Keyhani A. Prevalence of intestinal parasites with an emphasis on the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in the north and northwest of Khuzestan province. [MSc. thesis]. Tehran: Tehran University of Medical Sciences; 2012. [In Persian]

[13] Saeidinia A, Tavakoli I, Naghipour MR, Rahmati B, Ghavami Lahiji H, Salkhori O, et al. Prevalence of *Strongyloides stercoralis* and other intestinal parasites among institutionalized mentally disabled individuals in Rasht, Northern Iran. Iran J Parasitol. 2016; 11(4):527-33. [PMID] [PMCID]

[14] Sharifdini M, Ghanbarzadeh L, Barikani A, Saraei M. Prevalence of intestinal parasites among rural inhabitants of Fouman, Guilan Province, Northern Iran with emphasis on *Strongyloides stercoralis*. Iran J Parasitol. 2020; 15(1):91-100. http://ijpa.tums.ac.ir/index.php/ijpa/article/view/2841

[15] Rafiei R, Rafiei A, Rahdar M, Keikhaie B. Seroepidemiology of *Strongyloides stercoralis* amongst immunocompromised patients in southwest Iran. Parasite Epidemiol Control. 2016; 1(3):229-32. [DOI:10.1016/j.parepi.2016.08.001] [PMID] [PMCID]

[16] Esmaeli S, Fakhar M, Gohardehi Sh, Janbabaei Q, Ahmadpour E, Bastani R. [*Strongyloides stercoralis* infection: Neglected parasitic infection among cancer patients. Pars J Med Sci. 2012; 10(4):13-8. [In Persian] [DOI:10.29252/jmj.10.4.13]

[17] Montes M, Sawhney C, Barros N. *Strongyloides stercoralis*: There but not seen. Curr Opin Infect Dis. 2010; 23(5):500-4. [DOI:10.1097/QCO.0b013e32833df718] [PMID] [PMCID]

[18] Sharifdini M, Mirhendi H, Ashrafi K, Hosseini M, Mohebali 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; 93(6):1285-91. [DOI:10.4269/ajtmh.15-0309] [PMID] [PMCID]

[19] Sharifdini M, Keyhani A, Eshraghian MR, Beigom Kia E. Molecular diagnosis of *strongyloidiasis* in a population of an endemic area through nested-PCR. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2018; 11(1):68-74. [PMID] [PMCID]

[20] van der Feltz M, Slee PHTJ, van Hees PAM, Tersmette M. *Strongyloides stercoralis* infection: How to diagnose best? Neth J Med. 1999; 55(3):128-31. [DOI:10.1016/S0300-2977(99)00070-4]

[21] Uparanukraw P, Phongsri S, Morakote N. Fluctuations of larval excretion in *Strongyloides stercoralis* infection. Am J Trop Med Hyg. 1999; 60(6):967-73. [DOI:10.4269/ajtmh.1999.60.967] [PMID]

[22] 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*. J Clin Microbiol. 2005; 43(4):1932-3. [DOI:10.1128/JCM.43.4.1932-1933.2005] [PMID] [PMCID]

[23] Anamnart W, Pattanawongsa A, Intapan PM, Maleewong W. Factors affecting recovery of *Strongyloides stercoralis* larvae: An approach to a newly modified formalin-ether concentration technique for diagnosis of *strongyloidiasis*. J Clin Microbiol. 2010; 48(1):97-100. [DOI:10.1128/JCM.01613-09] [PMID] [PMCID]

[24] Sukhavat K, Morakote N, Chaiwong P, Piangjai S. Comparative efficacy of four methods for the detection of *Strongyloides stercoralis* in human stool specimens. Ann Trop Med Parasitol. 1994; 88(1):95-6. [DOI:10.1080/00034983.1994.11812843] [PMID]

[25] Koga K, Kasuya S, Ohtomo H. How effective is the agar plate method for *Strongyloides stercoralis*? J Parasitol. 1992; 78(1):155-6. [DOI:10.2307/3283707] [PMID]

[26] Buonfrate D, Formenti F, Perandin F, Bisoffi Z. Novel approaches to the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Clin Microbiol Infect. 2015; 21(6):543-52. [DOI:10.1016/j.cmi.2015.04.001] [PMID]

[27] 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; 176:293-9. [DOI:10.1016/j.actatropica.2017.07.001] [PMID]

[28] 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; 12(3):374-81. http://ijpa.tums.ac.ir/index.php/ijpa/article/view/1768

[29] 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; 55(3):279-85. [DOI:10.3347/kjp.2017.55.3.279] [PMID] [PMCID]

[30] Silva MLS, Ines EJ, Souza JN, Souza ABS, Dias VMS, Oliveira LN, et al. Influence of parasite load on the diagnosis and occurrence of eosinophilia in alcoholic patients infected with *Strongyloides stercoralis*. J Helminthol. 2019; 93(1):21-5. [DOI:10.1017/S0022149X17001110] [PMID]

[31] Muller R, editor. Worms and human disease. Wallingford: CABI Publishing; 2002. [DOI:10.1079/9780851995168.0000]

[32] Requena-Méndez A, Chiodini P, Bisoffi Z, Buonfrate D, Gotuzzo E, Muñoz J. The laboratory diagnosis and follow up of *strongyloidiasis*: A systematic review. PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7(1):e2002. [DOI:10.1371/journal.pntd.0002002] [PMID] [PMCID]

[33] 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; 120(3):206-10. [DOI:10.1016/j.actatropica.2011.08.010] [PMID]

[34] Khieu V, Schar F, Marti H, Sayasone S, Duong S, Muth S, et al. Diagnosis, treatment and risk factors of *Strongyloides stercoralis* in schoolchildren in Cambodia. PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7(2):e2035. [DOI:10.1371/journal.pntd.0002035] [PMID] [PMCID]

[35] Rayan HZ, Soliman RH, Galal NM. Detection of *Strongyloides stercoralis* in fecal samples using conventional parasitological techniques and real-time PCR: A comparative study. Parasitologists United Journal. 2012; 5(1):27-34. https://www.researchgate.net/publication/256088210

[36] John DT, Petri WA. Markell and Voge's medical parasitology. 9th ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2006. https://books.google.com/books?id=-QSZD783cdsC&dq

[37] Goka AK, Rolston DD, Mathan VI, Farthing MJ. Diagnosis of *Strongyloides* and hookworm infections: Comparison of faecal and duodenal fluid microscopy. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1990; 84(6):829-31. [DOI:10.1016/0035-9203(90)90098-Y]

[38] Ghoshal UC, Alexender G, Ghoshal U, Tripathi S, Krishnani N. *Strongyloides stercoralis* infestation in a patient with severe ulcerative colitis. Indian J Med Sci. 2006; 60(3):106-10. [DOI:10.4103/0019-5359.22761] [PMID]

[39] Gutierrez Y. Diagnostic pathology of parasitic infections with clinical correlations. New York: Oxford University Press; 2000. https://books.google.com/books?id=oKSEhVMVrJ4C&dq

[40] Neva FA, Gam AA, Maxwell C, Pelletier LL. Skin test antigens for immediate hypersensitivity prepared from infective larvae of *Strongyloides stercoralis*. Am J Trop Med Hyg. 2001; 65(5):567-72. [DOI:10.4269/ajtmh.2001.65.567] [PMID]

[41] Sato Y, Toma H, Kiyuna S, Shiroma Y. Gelatin particle indirect agglutination test for mass examination for *strongyloidiasis*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1991; 85(4):515-8. [DOI:10.1016/0035-9203(91)90240-Y]

[42] Boscolo M, Gobbo M, Mantovani W, Degani M, Anselmi M, Monteiro GB, et al. Evaluation of an indirect immunofluorescence assay for *strongyloidiasis* as a tool for diagnosis and follow-up. Clin Vaccine Immunol. 2007; 14(2):129-33. [DOI:10.1128/CVI.00278-06] [PMID] [PMCID]

[43] Page WA, Dempsey K, McCarthy JS. Utility of serological follow-up of chronic *strongyloidiasis* after anthelminthic chemotherapy. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2006; 100(11):1056-62. [DOI:10.1016/j.trstmh.2005.12.006] [PMID]

[44] Levenhagen MA, Costa-Cruz JM. Update on immunologic and molecular diagnosis of human *strongyloidiasis*. Acta Trop. 2014; 135:33-43. [DOI:10.1016/j.actatropica.2014.03.015] [PMID]

[45] Mota-Ferreira DML, Goncalves-Pires MdRF, Júnior ÁF, Sopelete MC, Abdallah VOS, Costa-Cruz JM. Specific IgA and IgG antibodies in paired serum and breast milk samples in human *strongyloidiasis*. Acta Trop. 2009; 109(2):103-7. [DOI:10.1016/j.actatropica.2008.09.023] [PMID]

[46] Koosha S, Fesharaki M, Rokni MB. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay in the diagnosis of human *strongyloidiasis*. Indian J Gastroenterol. 2004; 23(6):214-6. [PMID]

[47] Bisoffi Z, Buonfrate D, Sequi M, Mejia R, Cimino RO, Krolewiecki AJ, et al. Diagnostic accuracy of five serologic tests for *Strongyloides stercoralis* infection. PLoS Negl Trop Dis. 2014; 8(1):e2640. [DOI:10.1371/journal.pntd.0002640] [PMID] [PMCID]

[48] Ramanathan R, Burbelo PD, Groot S, Iadarola MJ, Neva FA, Nutman TB. A luciferase immunoprecipitation systems assay enhances the sensitivity and specificity of diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. J Infect Dis. 2008; 198(3):444-51. [DOI:10.1086/589718] [PMID] [PMCID]

[49] Gonzaga HT, Ribeiro VS, Feliciano ND, Manhani MN, Silva DA, Ueta MT, et al. IgG avidity in differential serodiagnosis of human *strongyloidiasis* active infection. Immunol Lett. 2011; 139(1-2):87-92. [DOI:10.1016/j.imlet.2011.05.006] [PMID]

[50] Biggs BA, Caruana S, Mihrshahi S, Jolley D, Leydon J, Chea L, et al. Management of chronic *strongyloidiasis* in immigrants and refugees: is serologic testing useful? Am J Trop Med Hyg. 2009; 80(5):788-91. [DOI:10.4269/ajtmh.2009.80.788] [PMID]

[51] Rodrigues RM, de Oliveira MC, Sopelete MC, Silva DA, Campos DM, Taketomi EA, et al. IgG1, IgG4, and IgE antibody responses in human *strongyloidiasis* by ELISA using *Strongyloides* ratti saline extract as heterologous antigen. Parasitol Res. 2007; 101(5):1209-14. [DOI:10.1007/s00436-007-0602-z] [PMID]

[52] Marcos LA, Terashima A, Canales M, Gotuzzo E. Update on *strongyloidiasis* in the immunocompromised host. Curr Infect Dis Rep. 2011; 13:35-46. [DOI:10.1007/s11908-010-0150-z] [PMID]

[53] El-Badry AA. ELISA-based coproantigen in human strongyloidiaisis: A diagnostic method correlating with worm burden. J Egypt Soc Parasitol. 2009; 39(3):757-68. [PMID]

[54] Eamudomkarn C, Sithithaworn P, Kamamia C, Yakovleva A, Sithithaworn J, Kaewkes S, et al. Diagnostic performance of urinary IgG antibody detection: A novel approach for population screening of *strongyloidiasis*. PLoS One. 2018; 13(7):e0192598. [DOI:10.1371/journal.pone.0192598] [PMID] [PMCID]

[55] Rogier van Doorn H, Koelewijn R, Hofwegen H, Gilis H, Wetsteyn JCFM, Wismans PJ, et al. Use of enzyme-linked immunosorbent assay and dipstick assay for detection of *Strongyloides stercoralis* infection in humans. J Clin Microbiol. 2007; 45(2):438-42. [DOI:10.1128/JCM.01735-06] [PMID] [PMCID]

[56] Pak BJ, Vasquez-Camargo F, Kalinichenko E, Chiodini PL, Nutman TB, Tanowitz HB, et al. Development of a rapid serological assay for the diagnosis of *strongyloidiasis* using a novel diffraction-based biosensor technology. PLoS Negl Trop Dis. 2014; 8(8):e3002. [DOI:10.1371/journal.pntd.0003002] [PMID] [PMCID]

[57] McKeand JB. Molecular diagnosis of parasitic nematodes. Parasitology. 1999; 117(7):87-96. [DOI:10.1017/S0031182099004096] [PMID]

[58] Repetto SA, Alba Soto CD, Cazorla SI, Tayeldin ML, Cuello S, Lasala MB, et al. An improved DNA isolation technique for PCR detection of *Strongyloides stercoralis* in stool samples. Acta Trop. 2013; 126(2):110-4. [DOI:10.1016/j.actatropica.2013.02.003] [PMID]

[59] Moghaddassani H, Mirhendi H, Hosseini M, Rokni MB, Mowlavi Gh, Kia E. Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection by PCR detection of specific DNA in human stool samples. Iran J Parasitol. 2011; 6(2):23-30. [PMID] [PMCID]

[60] Verweij JJ, Canales M, Polman K, Ziem J, Brienen EA, Polderman AM, et al. Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in faecal samples using real-time PCR. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009; 103(4):342-6. [DOI:10.1016/j.trstmh.2008.12.001] [PMID]

[61] Schar F, Odermatt P, Khieu V, Panning M, Duong S, Muth S, et al. Evaluation of real-time PCR for *Strongyloides stercoralis* and hookworm as diagnostic tool in asymptomatic schoolchildren in Cambodia. Acta Trop. 2013; 126(2):89-92. [DOI:10.1016/j.actatropica.2012.12.012] [PMID]

[62] de Paula FM, Malta FM, Corral MA, Marques PD, Gottardi M, Meisel DMCL, et al. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection in immunocompromised patients by serological and molecular methods. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2016; 58:63. [DOI:10.1590/S1678-9946201658063] [PMID] [PMCID]

[63] Lodh N, Caro R, Sofer Sh, Scott A, Krolewiecki AJ, Shiff CJ. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis*: Detection of parasite-derived DNA in urine. Acta Trop. 2016; 163:9-13. [DOI:10.1016/j.actatropica.2016.07.014] [PMID] [PMCID]