

سرو اپیدمیولوژی هیداتیدوزیس انسانی در استان آذربایجان شرقی با روش ELISA در سال ۱۳۸۸

یعقوب قره داغی^۱، سید رضی بهاور نیا^۲

^۱ استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

^۲ کارشناسی ارشد، گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

نویسنده مسئول: یعقوب قره داغی، آدرس: تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی. تلفن: ، نامبر: ، پست الکترونیک: y_garedaghi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۳۰ پذیرش: ۸۹/۸/۱

مقدمه و اهداف: هدف از این مطالعه بررسی سرواپیدمیولوژیک کیست هیداتید انسانی با روش الایزا در استان آذربایجان شرقی است.

روش کار: با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعات قبلی حجم نمونه ۱۵۰۰ نفر بدست آمد. روش کار بدین ترتیب بود که ابتدا از تمام

افراد مورد مطالعه پس از تکمیل پرسشنامه، نمونه خون گرفته شد و سرم تمام افراد در رقت ۱:۴۰۰ با آزمون الایزا آزمایش شد.

نتایج: نتایج بدست آمده نشان داد که از مجموع افراد مورد مطالعه، ۱۹ نفر (۱/۲۸ درصد) با آزمون الایزا واکنش مثبت نشان دادند. از

این افراد، ۸ نفر (۰/۹۳ درصد) از جمعیت شهری، ۱۱ نفر (۱/۸ درصد) از جمعیت روستائی بودند. همچنین ۱/۷۶ درصد زنان و ۰/۸۳

درصد مردان جمعیت تحت مطالعه با این روش مثبت بودند و بیشترین درصد آلودگی در گروه سنی ۴۰-۳۰ (۱/۶۶ درصد) مشاهده شد.

براساس این مطالعه میان درصد آلودگی به کیست هیداتید در میان زنان و مردان اختلاف معنی داری وجود نداشت. همچنین اختلاف

درصد آلودگی گروه سنی سی تا چهل سال با گروه‌های سنی دیگر معنی دار نبود. همچنین بین درصد آلودگی به کیست هیداتید و

جمعیت شهری و روستائی اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق بیشترین درصد آلودگی در شهرستان سراب (۲/۱۷ درصد) بدست آمد. علت این

اختلاف این است که بیشترین جمعیت روستائی استان که به امر کشاورزی و دامداری مشغول هستند در این شهرستان متمرکزند.

واژگان کلیدی: کیست هیداتید، الایزا، سرواپیدمیولوژی، آذربایجان شرقی

مقدمه

هیداتیدوزیس IgG است زیرا سطح آن در خون حتی تا مدت‌ها پس از جراحی یا درمان دارویی بالا است (۴،۵).

الایزا^۱ یکی از روش‌های سرولوژیک برای تشخیص هیداتیدوزیس است که داشتن امتیازاتی مانند حساسیت و ویژگی بالا و قابلیت اجرا برای حجم زیادی از نمونه در یک زمان، آن را برای مطالعات سرواپیدمیولوژیک مناسب می‌کند (۸،۹،۱۵).

محققین زیادی تا کنون در استان‌های مختلف ایران میزان شیوع هیداتیدوزیس انسانی را با روش الایزا تعیین کرده‌اند (۳،۶،۷،۱۰،۱۹).

هدف از این مطالعه بررسی وضعیت آلودگی کیست هیداتید در انسان، در استان آذربایجان شرقی است. در این مطالعه از روش ELISA برای تعیین میزان آلودگی ساکنان استان آذربایجان شرقی

هیداتیدوزیس (Hydatidosis) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است (۱۲). این بیماری در بیشتر نقاط جهان بویژه در کشورهایی که در آن‌ها دامپروری رایج است، شایع است. این امر سالیانه زیان‌های بهداشتی و اقتصادی زیادی را بدنبال می‌آورد (۱،۱۳). آلودگی به این انگل ضمن گسترش جهانی، در بیشتر مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر دنیا انتشار دارد. آلودگی در کشورهای حوزه مدیترانه، روسیه، خاورمیانه، خاور دور، استرالیا، زلاندنو، آمریکا و آفریقا وجود دارد (۱،۲). این بیماری از اکثر استان‌های کشور در انسان گزارش شده است. برای کل کشور میزان متوسط موارد جراحی ۱/۲ درصد هزار تعیین شده است (۲). به علت پراکنده بودن اندام‌های آلوده در بدن و نبودن یک راه تشخیص قطعی، روش‌های ایمنولوژیک در تشخیص بسیار مفید هستند (۴). مناسب‌ترین ایمنوگلوبولین برای آشکار سازی بیماری

^۱ Enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA)

در مناطق شهری و روستائی به کیست هیداتید استفاده شد.

روش کار

بررسی جمعیت شناختی و طرز نمونه‌گیری

براساس آخرین سرشماری نفوس و مسکن توسط مرکز آمار ایران در سال ۱۳۸۸ جمعیت کل استان آذربایجان شرقی ۳۶۶۷۹۶۸ نفر است که جمعیت شهری آن ۲۵۳۰۴۴۶ نفر و جمعیت روستائی آن ۱۱۳۷۵۲۲ نفر بوده است و با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعات افلاکی (Aflaki) و همکاران که میزان شیوع هیداتیدوزیس را ۱/۲ درصد (۲۱) و رفیعی (Rafiei) و همکاران در استان خوزستان در سال ۱۳۷۸ میزان شیوع هیداتیدوزیس را با استفاده از روش دات الایزا ۱/۸ درصد (۱۰،۱۶) گزارش کرده بودند، حجم نمونه با استفاده از فرمول ریاضی و سطح اطمینان ۹۵ درصد، به میزان ۱۵۰۰ نمونه بدست آمد. سپس در هر منطقه جغرافیائی متناسب با جمعیت منطقه، نمونه‌گیری بصورت خوشه‌ای و داخل هر خوشه بصورت تصادفی چندمرحله‌ای (از شهرهای تبریز، مراغه، مرنده، میانه، اهر، بناب، سراب و آذرشهر) انجام شد. از افراد تحت مطالعه پس از تکمیل پرسشنامه خون گرفته شد (متغیرهای موجود در پرسشنامه شامل سن، جنس، شغل، میزان تحصیلات، تماس با دام، شهری یا روستائی، سابقه بیماری‌های مختلف و اعمال جراحی بودند) و سرم فرد برای آزمایش ELISA جمع‌آوری و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد.

نهایتاً نمونه‌های سرمی در آزمایشگاه تحقیقاتی بخش انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز با روش الایزا بررسی شدند.

روش انجام ELISA

جهت تهیه آنتی ژن مایع هیداتیک، کبد و ریه آلوده به کیست هیداتیک گوسفندان کشتار شده، از کشتارگاه محلی انتخاب و در آزمایشگاه، مایع هیداتیک از درون کیست‌ها تخلیه و جمع‌آوری گردید. برای حذف ناخالصی‌های درشت و پروتواسکولکس‌ها، مایع هیداتیک به مدت ۲۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و به منظور حذف املاح، به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتیگراد در مقابل آب مقطر دیالیز گردید. مایع هیداتیک دیالیز شده، لیوفیلیزه شد و پودر حاصل از لیوفیلیزاسیون به عنوان آنتی ژن مایع هیداتیک مورد استفاده قرار گرفت. هنگام نیاز، غلظت‌های مورد لزوم از آنتی ژن در آب مقطر تهیه و سنجش پروتئین نمونه‌ها

به روش برادفورد انجام می‌گرفت.

پس از تهیه آنتی ژن نسبتاً خالص از آزمایشگاه انگل شناسی، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون آنتی ژنی که با غلظت ۱۰ میکرولیتر در میلی لیتر در بافر کربنات- کربنات (۱ مولار و $\text{PH}=9/6$) تهیه و به همه چاهک‌های ظرف پلی‌استیرنی (Polystyrene) اضافه و سپس ظرف به مدت یک شب در ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از شستشو ۲۰۰ میکرولیتر محلول مسدود کننده (بافر TBST (Tris Buffered Saline, Tween 20) همراه با شیر خشک بدون چربی ۱ درصد) به چاهک‌ها اضافه و ظرف بمدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد (۱۷).

پس از شستشو، سرم با رقت ۱:۴۰۰ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه و بمدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از شستشوی دوباره اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر آنتی ژن گونزوگه انسانی (ساخت سیگما) با رقت ۱:۶۰۰۰ بمدت ۲ ساعت در حرارت اتاق یا ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. مجدداً پس از شستشو ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای تترامتیل بنزیدین (Tetramethyl benzidine: TMB - 3, 3', 5, 5') (شرکت آنوژن) با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه و مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده یعنی اسید سولفوریک ۱/۲۵ مولار به هر چاهک اضافه شد میزان جذب نوری (Optical Density: OD) در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه سنجش الایزا (ELISA-Reader) خوانده شد (۱۴،۱۵،۱۸).

در سال ۱۹۷۵ برای اولین بار توسط فاراگ (Farag) آزمون ELISA برای تشخیص کیست هیداتیک به کار رفت. از خصوصیات حایز اهمیت این روش این است که از یک نوع آنتی بادی نشاندار می‌توان در بسیاری از آزمایش‌ها استفاده کرد. ELISA یک روش کمی است و OD حاصل از رنگ ایجاد شده پس از اضافه کردن سوبسترا با دستگاه قرائت گر نتایج، قابل اندازه‌گیری است (۲۳).

در سال ۱۹۹۸ ایبارا (Ibarra) و همکاران سه روش ELISA (Indirect-ELISA, Dot-ELISA, Dig-ELISA) را از نظر حساسیت و ویژگی با هم مقایسه کردند. حساسیت و ویژگی را در Indirect-ELISA به ترتیب ۹۶/۵ درصد و ۹۸/۸ درصد، در Dot-ELISA ۹۷/۵ درصد و ۸۰ درصد و در Dig-ELISA ۹۳/۱ درصد و ۹۵/۴ درصد به دست آوردند (۱۱).

برای تعیین سطح حداقل (Cut off) در این تحقیق از تعداد ۱۰ نمونه سرم افرادی استفاده شد که قطعاً فاقد بیماری هیداتیدوزیس بودند، برای این افراد آزمایش ELISA گذاشته شد و سپس از میزان

یافته‌ها

جدول ۱ درصد آلودگی به کیست هیداتید را با آزمون ELISA در شهرستان‌های استان آذربایجان شرقی به تفکیک جمعیت شهری و روستائی نشان می‌دهد. از مجموع ۱۵۰۰ نفری که با این آزمون آزمایش شدند، ۱۹ نفر (۱/۲۸ درصد) به این آزمون واکنش مثبت نشان دادند که ۸ نفر جمعیت شهری (۰/۹۳ درصد) و ۱۱ نفر جمعیت روستائی (۱/۸ درصد) بودند. بیشترین میزان آلودگی در

جذب نور این نمونه‌ها میانگین و انحراف معیار محاسبه گردید، سپس میانگین به اضافه سه برابر انحراف معیار به عنوان سطح حداقل تعیین شد.

همچنین غلظت مناسب آنتی‌ژن و رقت مطلوب سرم به روش تیتراسیون متقاطع تعیین گردید. داده‌های پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS از طریق محاسبه میانگین‌ها، آزمون کای‌دو تجزیه و تحلیل شدند.

جدول شماره ۱- درصد آلودگی به کیست هیداتید در شهرستان‌های استان آذربایجان شرقی به تفکیک جمعیت شهری و روستائی

وضعیت شهر	شهری*		روستائی*		جمع کل	
	درصد	+	درصد	+	درصد	+
تبریز	۰/۳۴	۲۸۸	۲/۱۷	۹۲	۰/۷۸	۳۸۰
مراغه	۱/۹۶	۱۰۲	۲/۲۹	۱۳۱	۲/۱۴	۲۳۳
مرند	۰/۸۹	۱۱۲	۱/۵۳	۶۵	۱/۱۲	۱۷۷
میانه	۰/۷۴	۱۳۵	۱/۷۲	۵۸	۱/۰۳	۱۹۳
اهر	۱/۵۸	۶۳	۱/۴۴	۶۹	۱/۵۱	۱۳۲
بناب	۰	۶۶	۱/۲۸	۷۸	۰/۶۹	۱۴۴
سراب	۱/۹۶	۵۱	۲/۴	۴۱	۲/۱۷	۹۲
آذرشهر	۱/۸۵	۵۴	۱/۳۱	۷۶	۱/۵۳	۱۳۰
جمع کل	۰/۹۳	۸۷۱	۱/۸۰	۶۱۰	۱/۲۸	۱۴۸۱

نمی‌شود. یعنی ابتلا به بیماری در افراد شهری و روستائی تفاوت معنی‌داری ندارد.

مقدار آزمون خی‌دو برابر ۰/۹۸۱، درجه آزادی برابر ۱ و سطح معنی‌داری آزمون برابر ۰/۳۲۲ است. با توجه به اینکه سطح معنی‌داری آزمون بزرگتر از ۰/۰۵ است فرض استقلال دو متغیر رد نمی‌شود. یعنی ابتلا به بیماری در بین زنان و مردان شهری تفاوت معنی‌داری ندارد.

مقدار آزمون خی‌دو برابر ۱/۱۵، درجه آزادی برابر ۱ و سطح معنی‌داری آزمون برابر ۰/۲۸۳ است. با توجه به اینکه سطح معنی‌داری آزمون بزرگتر از ۰/۰۵ است فرض استقلال دو متغیر رد نمی‌شود. یعنی ابتلا به بیماری در بین زنان و مردان روستائی تفاوت معنی‌داری ندارد.

جدول شماره ۳، درصد آلودگی به کیست هیداتید را در استان آذربایجان شرقی به تفکیک گروه سنی با آزمون ELISA نشان می‌دهد. کمترین درصد آلودگی در گروه سنی بیشتر از ۵۰ سال (۰/۹۷ درصد) و بیشترین درصد آلودگی در گروه سنی ۴۰-۳۰ سال (۱/۶۶ درصد) مشاهده می‌شود.

جدول شماره ۳- درصد آلودگی به کیست هیداتید در میان مردان و زنان استان آذربایجان شرقی به تفکیک گروه سنی

شهرستان سراب (۲/۱۷ درصد) و کمترین میزان در شهرستان بناب (۰/۶۹ درصد) مشاهده شد. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین نتایج مثبت و منفی در میان دو قشر شهری و روستائی مشاهده نشد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۲- درصد آلودگی به کیست هیداتید در میان مردان و

زنان استان آذربایجان شرقی به تفکیک جمعیت شهری و روستائی

محل سکونت	شهری	روستائی	جمع کل
زن*	۶	۸	۱۴
درصد	۴۵۰	۳۴۵	۷۹۵
مرد	۲	۳	۵
درصد	۳۳۱	۲۶۵	۵۹۶
جمع کل	۸	۱۱	۱۹
درصد	۸۷۱	۶۱۰	۱۴۸۱
درصد	۰/۹۳	۱/۸۰	۱/۲۸

مقدار آزمون خی‌دو برابر ۲/۱۶، درجه آزادی برابر ۱ و سطح معنی‌داری آزمون برابر ۰/۱۴۲ است. با توجه به اینکه سطح معنی‌داری آزمون بزرگتر از ۰/۰۵ است فرض استقلال دو متغیر رد

رده‌های سنی	زن		مرد		جمع کل	
	+	-	+	-	+	-
کمتر از ۲۰ سال	۲	۱۷۸	۲	۱۵۳	۴	۳۳۱
۲۰-۳۰ سال	۴	۲۰۲	۱	۱۷۰	۵	۳۷۲
۳۰-۴۰ سال*	۵	۲۳۰	۲	۱۹۱	۷	۴۲۱
۴۰-۵۰ سال	۲	۱۰۵	۰	۵۹	۲	۱۶۴
بیشتر از ۵۰ سال	۱	۸۰	۰	۲۳	۱	۱۰۳
جمع کل	۱۴	۷۹۵	۵	۵۹۶	۱۹	۱۳۹۱

گزارش کرده‌اند (۱۹).

سعید (Saeed) و همکاران (۱۹۹۰-۱۹۹۸) در یک مطالعه اپیدمیولوژیکی در استان اربیل کشور عراق، درصد آلودگی را در انسان ۲ درصد هزار با توجه به جراحی‌های انجام شده، گزارش کرده‌اند. همین پژوهشگران آلودگی در گوسفند را ۱۵ درصد، در گاو ۶/۲ درصد و در سگ ۴۹/۵ درصد گزارش کرده‌اند (۲۰).

شهاب الدین سروی و همکاران (۱۳۸۵) در یک مطالعه سرواپیدمیولوژیکی در مراجعین به مراکز انتقال خون تهران با استفاده از روش Dot-ELISA، میزان شیوع کیست هیداتید انسانی را ۱/۶۳ درصد گزارش کرده‌اند (۶).

بهادر سرکاری و همکاران (۱۳۸۸) در یک بررسی سرواپیدمیولوژیکی کیست هیداتید در گروه‌های high-risk در شهر یاسوج با استفاده از روش ELISA، میزان شیوع هیداتیدوزیس انسانی را ۷/۲ درصد گزارش کرده‌اند (۷،۲۴).

رفیعی و همکاران (۱۳۸۶) در یک مطالعه سرواپیدمیولوژیکی در استان خوزستان میزان شیوع کیست هیداتید را مجموعاً ۱۳/۸ درصد گزارش کرده‌اند که در شهرستان بهبهان ۱/۹ درصد، شوش ۱۲/۴ درصد، مسجد سلیمان ۱۷/۳ درصد و ایذه ۱۸/۲ درصد بوده است (۵). در مطالعه حاضر و مطالعات مورد اشاره، میزان موارد مثبت با روش‌های سرولوژیک در دهه‌های اول و دوم زندگی همانند سنین میان سالی قابل توجه است. وقتی محیط زندگی انسان با سگ‌های آلوده مشترک باشد، احتمال آلوده شدن افراد به عواملی از قبیل نظافت و بهداشت فردی، شرایط فرهنگی، ویژگی‌های اقتصادی و اجتماعی بستگی خواهد داشت (۵،۲۴).

گرچه انتظار بر این است که میزان ابتلا در مردان و زنان تقریباً به یک اندازه باشد، اما در بعضی مناطق دنیا این میزان متفاوت است (۲۰،۲۱).

افرادی که در روستاها به گله داری و چوپانی مشغول هستند به لحاظ تماس بیشتر با سگ‌های گله در مقایسه با افراد شهرنشین به راحتی آلوده می‌شوند (۱۰).

با توجه به شیوع هیداتیدوز در استان آذربایجان شرقی، ضروری است که پیشگیری و کنترل بیماری به عنوان یکی از اولویت‌های

مقدار آزمون‌های دو برابر ۰/۸۰۷، درجه آزادی برابر ۴ و سطح معنی‌داری آزمون برابر ۰/۹۳۷ است. با توجه به اینکه سطح معنی‌داری آزمون بزرگتر از ۰/۰۵ است فرض استقلال دو متغیر رد نمی‌شود. یعنی ابتلا به بیماری در رده‌های مختلف سنی زنان تفاوت معنی‌داری ندارد.

مقدار آزمون‌های دو برابر ۱/۳۱، درجه آزادی برابر ۴ و سطح معنی‌داری آزمون برابر ۰/۸۶ است. با توجه به اینکه سطح معنی‌داری آزمون بزرگتر از ۰/۰۵ است فرض استقلال دو متغیر رد نمی‌شود. یعنی ابتلا به بیماری در رده‌های مختلف سنی مردان تفاوت معنی‌داری ندارد.

بحث

براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق بیشترین درصد آلودگی در شهرستان سراب (۲/۱۷ درصد) و کمترین درصد آلودگی در شهرستان بناب (۰/۶۹ درصد) گزارش شده است. علت این اختلاف این است که بیشترین جمعیت روستائی استان که به امر کشاورزی و دامداری مشغول هستند در شهرستان سراب متمرکز است و کمترین جمعیت روستائی در شهرستان بناب قرار دارد.

یافته‌های این بررسی درصد نسبتاً بالای آلودگی را در زنان نشان می‌دهد. این امر شاید به علت نداشتن آگاهی کافی و آموزش ناقص در شناخت چرخه زندگی انگل و همین‌طور پرداختن زنان به شغل کشاورزی و دامپروری است که اکثریت زنان را شامل می‌شود.

کفاشیان (Kaffashian) و همکاران (۱۳۷۵) در یک بررسی شیوع بیماری کیست هیداتید را در یک هزار نفر از عشایر کوچ روایل قشقائی استان فارس ۵ درصد گزارش کرده‌اند (۳).

رفیعی و همکاران (۱۳۷۸) در یک بررسی، میزان شیوع کیست هیداتید انسانی را در استان خوزستان با روش ELISA به میزان ۱/۸ درصد گزارش کرده‌اند (۱۰).

اخلاقی و همکاران (۱۳۸۱) در یک مطالعه اپیدمیولوژیکی در استان ایلام، میزان شیوع کیست هیداتید انسانی را ۱/۲ درصد

نهایت برای تعیین ابعاد انتشار و شیوع هیداتیدوز انسانی در سطح استان انجام مطالعات مشابه در سایر مناطق و شهرستان‌های استان پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به خاطر تصویب و تأمین منابع مالی طرح، همکاران محترم طرح به خاطر تهیه و اهدای نمونه‌های سرم و انجام آزمایشات سرولوژیک، صمیمانه سپاسگزاری نمایند.

بهداشتی منطقه مورد توجه قرار گیرد و در زمینه شناسایی منابع حد واسط آلودگی انسان‌ها از قبیل آب، خاک، سبزیجات یا سایر منابع احتمالی، مطالعاتی انجام شود. برنامه‌های مناسب آموزشی از طریق رسانه‌های گروهی و پایگاه تحقیقات جمعیتی منطقه برای پیشگیری از آلودگی و کنترل هیداتیدوز تدوین و اجرا گردد. همانگونه که اشاره گردیده، مثبت بودن افراد با روش‌های سرولوژیک دلیلی بر ابتلای قطعی فرد به بیماری یا وجود کیست فعال در بدن نیست. بنا بر این بمنظور شناسائی و تعیین افراد بیمار پیشنهاد می‌گردد، با استفاده از آزمایشات تکمیلی و فنون تصویربرداری نظیر سونوگرافی، مطالعه کاملتری صورت گیرد. در

منابع

- Eslami A, hosseini sh. Echinococcus granulosus infection of farm dogs of iran. *parasitol.res* 1998; 2: 205-7.
- Mobedi I, Dalimi Asl A. Epidemiology of hydatid cyst in the world and Iran. Tehran, Mogadam press, 1994; 138-44.
- Kaffashian F, Hayati A, Saber Firouzi H, Ghaderi A. Survey of hydatidosis Prevalence in migratory tribes of ghashghaei. *Kosar Medical journal*, 1999; 3: 25-8.
- Jalolian F. Evaluation of G-ELISA for Hydatidosis serodiagnose and comprison that with Dot-ELISA. M.S. thesis, Tehran, Tarbiat Modares university, faculty of Medicine, 2000 82-103.
- GhafariFar F, Dalimi Asl A, Zavarani Hosseini A. A simple method for preparation of hydatid Cyst B-group antigen and evaluation with Dot-ELISA. *Modares J Med sci* 2000-1; 3: 115-19.
- Sarvi Sh, Akhlagi L, Ormazdi H, Dalimi Asl A, Razmjo A, Siavashi M. Seroepidemiological study of hydatid cyst in patients refer to Tehran Blood transfusion centers by Dot-ELISA method (2005). The sixth national and the first Regional Congress on parasitology and parasitic Diseases. 27-29 May, 2008 Karaj, IR Iran; PP: 395.
- Sarkari B, Beheshtian M, Agaei M. Seroepidemiological survey of hydatid cyst in high-risk groups at yassuj city (2006). The sixth national and the first Regional Congress on parasitology and parasitic Diseases. 27-29 May, 2008 Karaj, IR Iran; PP: 368.
- Sedagatgohar H. Epidemiological and Seroepidemiological Study of Human and Animal Hydatid cyst in shahryar Region. M.S. thesis, Tehran Medical Sciences university, faculty of public health, 2009; 105-7.
- Nilforoshan MR. epidemiology of Hydatid cyst in firidon region of Esfahan province. M.S. thesis, Tehran, Tarbiat Modares university, 2004; 1.
- Rafiei A, Craig PS, Hamzeiloyi F. Seroepidemiological survey of Hydatid cyst in Khozestan province. 4th Iranian National congress of parasitology, Mashhad Medical Sciences university, 2003; 48.
- Ibarran F, Montenegro N, Vera y, Comparision of three ELISA tests for seroepidemiology of bovine fascioliosis. *Vet parasitol* 1998; 77: 229-36.
- Thompson RCA. Biology and systematic of Echinococcosis. In: Echinococcus and hydatid disease, Thompson RCA(ed.), Lymbery AJ(ed.).
- Walingford, CBA International, 1995; p: 1-50. Schantz PM. Parasitic zoonoses in perspective. *Int J Parasitol* 1991; 21: 161-70.
- Cox FEG. Immunology in moderm parasitology, 2nd ed. Cox F.E.G, editor. London: Blackwell, 1993;193-219.
- Simsek S, Koroglu E. Evaluation of enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) for immunodiagnosis of hydatid diseases sheep. *Acta Trop* 2004; 92: 17-24.
- Rafiei A, Craig PS, Maraghi SA. Seroepidemiological survey of human cystic ecinococosis in Iran. XXth international Congress of Hydatidology, 2001; 193.
- GhafariFar F, Dalimi Asl A, Zavarani Hosseini A. A simple method for preparation of hydatid cyst B-group antigen. *Modares J Med Sci* 2000-1; 3: 115-19.
- Crowther JR. ELISA Theory and practice. New Jersey, Human press, 1995; 1-218.
- Akhlaghi L, Massoud J, Housaini A. Observation on Hydatid Cyst Infection in Kordestan Province (West of Iran) using Epidemiological and Seroepidemiological Criteria. *Iranian J Publ Health* 2005; 34: 73-5.
- Saeed I, Kapel C, Saida LA, Willingham L, Nansen P. Epidemiology of Echinococcus granulosus in Arbil province, northern Iraq, 1990-1998. *J Helminthol* 2000; 74: 83-8.
- Aflaki A, GhafariFar F, Dalimi Asf A. Seroepidemiological survey of human hydatidosis using Dot-ELISA in Ilam Province (Western part of Iran). *Modares J Med Sci* 2005; 8: 1-6.
- Dalimi A, Motamedi G, Hosseini M, Mohammadian B, Malaki H, Ghamari Z, Ghaffari Far F. Echinococcosis/hydatidosis in western Iran. *Vet Parasito* 2002; 105: 161-71.
- Farag H, Bout D, Capron A. Specific immunodiagnosis of human hydatidosis by the enzyme linked immunosorbent assay (E.L.I.S.A). *Biomedicine* 1975; 23k: 276