مجلهٔ علوم پزشکی مدرس
دورهٔ ۸، شمارهٔ ۱: از ۱ تا ٦
بهار و تابستان ۱۳۸٤

بررسی سرواپیدمیولوژیکی هیداتیدوزیس (کیست هیداتیک) انسانی در استان ایلام با روش Dot-ELISA

آیدا افلاکی[۱]، فاطمه غفاری فر[۲*]، عبدالحسین دلیمی اصل[۳]

۱- کارشناس ارشد گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- استادیار گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- استاد گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

هدف: از این مطالعه بررسی وضعیت آلودگی به کیست هیداتیک در انسان، در غرب کشور یعنی استان ایلام است. بنابراین، تعداد سه هزار نفر از نقاط مختلف شهری، روستایی و عشایری استان ایلام بررسی شدند.

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 ۱:٤۰۰ با تست Dot- ELISA آزمایش و سپس نتایج با تست ELISA تأیید شد.

نتایج: نتایج به‌دست آمده نشان داد که از مجموع سه هزار نفر افراد مورد مطالعه، ۳۷ نفر (۱/۲٪) به تست Dot- ELISA واکنش مثبت نشان دادند؛ از این افراد، ۹ نفر (۰/٦٥٪) از جمعیت شهری، ۲۱ نفر (۱/۵۷٪) ازجمعیت روستایی و ۷ نفر (۱۰/۷۷٪) از جمعیت عشایری بودند؛ همچنین ۱/۷٤٪ زنان و ۱٪ مردان جمعیت تحت مطالعه با این روش مثبت بودند و بیشترین درصد آلودگی در گروه سنی بیست تا سی سال (۲/٦۷٪) مشاهده شد. براساس این مطالعه میان درصد آلودگی به کیست هیداتیک در سه جمعیت شهری، روستایی و عشایری از نظر آماری اختلاف معناداری مشاهده شد. همچنین اختلاف درصد آلودگی گروه سنی بیست تا سی سال با گروههای سنی دیگر بوضوح معنادار بود. اما بین درصد آلودگی به کیست هیداتیک و جنس اختلاف معنادار آماری مشاهده نشد. علت درصد بالای آلودگی در جمعیت عشایری را می‌توان تماس مداوم عشایر با سگ و دام تفسیر کرد. به‌طور معمول در زندگی عشایری سگها به‌منظور مراقبت از گله یا مراقبت از سیاه چادرها در مجاورت انسان زندگی می‌کنند. بنابراین، سگهای آلوده براحتی می‌توانند انسانها را آلوده کنند.

کلید واژگان: کیست هیداتیک، الایزای نقطه‌ای، سرواپیدمیولوژی، ایلام.

۱- مقدمه

هیداتیدوزیس یکی از مهمترین بیماریهای مشترک بین انسان و دام است[۱]. این بیماری در بیشتر نقاط جهان بویژه در کشورهایی که در آنها دامپروری رایج است، شایع می‌باشد. این امر سالیانه زیانهای بهداشتی و اقتصادی زیادی را به دنبال می‌آورد [۳،۲]. 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 افریقا وجود دارد [٤-٦].

این بیماری از تمام استانهای کشور با بالاترین میزان آلودگی در انسان (٤/۵ در صدهزار) از استان خراسان و کمترین آن (۰/۱

* **نشانی مکاتبه**: تهران، تقاطع بزرگراه جلال آل احمد و شهید چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی. تلفن: ۸۸۰۱۱۰۰۱، دورنگار: ۸۸۰۱۳۰۳۰
E-mail: ghaffarifar@yahoo.com

در صدهزار) از استان هرمزگان گزارش شده است. برای کل کشور میزان متوسط موارد جراحی ۱/۲ در صدهزار تعیین شده است [۵].

به علت پراکنده بودن اندامهای آلوده در بدن و نبودن یک راه تشخیص قطعی، روشهای ایمونولوژیک در تشخیص بسیار مفید هستند [۷-۹]. مناسبترین ایمونوگلوبولین برای آشکارسازی بیماری هیداتیدوزیس IgG است زیرا سطح آن در خون حتی تا مدتها پس از جراحی یا درمان دارویی بالا می‌باشد[۹، ۱۰].

Dot-ELISA یکی از روشهای سرولوژیک برای تشخیص هیداتیدوزیس است که داشتن امتیازاتی مانند حساسیت و ویژگی بالا، عدم نیاز به دستگاه بازخوان برای مشاهده نتایج و قابلیت اجرا برای حجم زیادی از نمونه در یک زمان، آن را برای مطالعات سرواپیدمیولوژیک مناسب می‌کند.

در این مطالعه از روش Dot-ELISA برای تعیین میزان آلودگی ساکنان استان ایلام در مناطق شهری، روستایی و عشایری به کیست هیداتیک استفاده شد.

۲- مواد و روش کار

۲-۱- مطالعه جمعیت‌شناسی و نحوه نمونه‌گیری

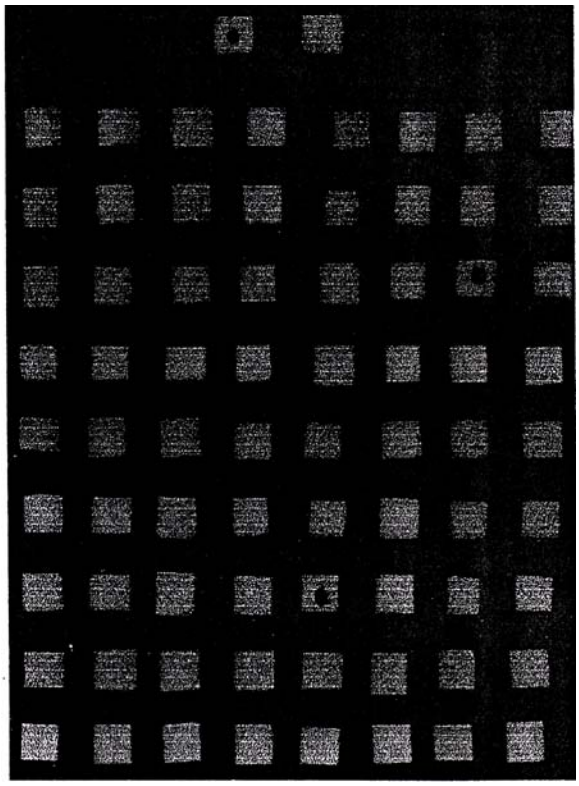
بر طبق آخرین سرشماری در سال ۱۳۷۵ جمعیت کل استان ٤٨٧٨٨٦ نفر، جمعیت شهری ۱۳۱۸۲۸، جمعیت روستایی ۳۳۵۷۰۰ و جمعیت عشایری ۱۰۵٦۵ نفر بود و با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه رفیعی و همکاران در خوزستان در سال ۱۳۷۸ میزان شیوع ۱/۸٪ گزارش شده است [۱۱]. حجم نمونه با استفاده از رابطه آماری و دقت ۹۵٪، ۳۰۰۰ نمونه به‌دست آمد. سپس در هر منطقه متناسب با جمعیت نمونه‌گیری ابتدا به‌صورت خوشه‌ای و داخل هر خوشه به‌صورت تصادفی ساده انجام شد. از افراد تحت مطالعه پس از تکمیل پرسشنامه نمونه خون گرفته شد و سرم افراد برای آزمایش Dot- ELISA جمع‌آوری گردید؛ سپس نتایج به‌دست آمده با روش ELISA تأیید شد.

۲-۲- روش انجام آزمایش Dot- ELISA

ابتدا آنتی‌ژن نسبتاً خالص با غلظت ۱mg/ml تهیه شد، این آنتی‌ژن مخلوطی از آنتی‌ژنهای ب و آرک۵ بود [۱۲]. پس از آماده‌سازی کاغذ نیترو سلولز در وسط آن ۳ μl آنتی‌ژن قرار داده شد و پس از قرار دادن آن در دمای ٤ $^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه و خشک شدن آنتی‌ژن، کاغذ در محلول بلوکه کننده قرار گرفت. این محلول حاوی آلبومین سرم گاوی ۱٪ یا شیر خشک بدون چربی ۱٪ تهیه شده در بافر TBST (تریس بافر سالین و توین۲۰) است. مدت نگهداری کاغذ در محلول بلوکه کننده ۱-۲ ساعت در دمای اتاق یا یک شبانه‌روز در ٤ $^{\circ}C$ بود. سپس کاغذ با TBST سه بار و هر بار ۱۰ دقیقه بر روی شیکر شستشو داده شد. رقت ۱:٤۰۰ از سرمهای مورد مطالعه، همچنین سرمهای کنترل مثبت و کنترل منفی روی کاغذ نیتروسلولز ریخته شد و پس از ۲ ساعت انکوبه کردن در ۳۷ $^{\circ}C$، کاغذها شستشو داده شدند.

در مرحله بعد با آنتی‌هیومن IgG کنژوگه با HRP (تهیه شده از شرکت سیگما) که به نسبت ۱:٦۰۰۰ رقیق شده بود، به مدت ۲ ساعت در حرارت اتاق یا ۱ ساعت در ۳۷ $^{\circ}C$ انکوبه و سپس شستشو شد. سپس کاغذها را در تاریکی درون سوبسترای دی آمینو بنزیدین (تهیه شده از شرکت داکو) در رقت ۵mg/ml قرار داده و پس از ظاهر شدن رنگ با اضافه کردن آب مقطر واکنش متوقف شد (شکل ۱).

کنترل منفی کنترل مثبت



شکل ۱ نمونه‌ای از سرمهای آزمایش شده با روش Dot-ELISA از شهر مهران

۲-۳- روش انجام آزمایش ELISA

ابتدا ۱۰۰ µl از سوسپانسیون آنتی‌ژنی که با غلظت ۱۰ µl/ml در بافر کربنات- بی‌کربنات (۱M و pH ۹/٦) تهیه شده بود به همه چاهکهای پلیت پلی استیرنی اضافه و سپس پلیت به مدت ۱ ساعت در ۳۷°c یا یک شب در ٤°C انکوبه شد. پس از شستشو ۲۰۰ µl محلول بلوکه کننده (بافر TBST همراه با آلبومین سرم گاوی یا شیر خشک بدون چربی ۱٪) به چاهکها اضافه و پلیت به مدت ۱ ساعت در ۳۷°c انکوبه گردید. پس از شستشو سرم با رقت ۱:٤۰۰ به میزان ۱۰۰ µl به هر چاهک اضافه و به مدت ۱ ساعت در ۳۷°C نگهداری شد. پس از شستشو دوباره و اضافه کردن ۱۰۰ µl آنتی‌هیومن IgG کنژوگه با HRP (تهیه شده از شرکت سیگما) با رقت ۱:٦۰۰۰، به مدت ۲ ساعت درحرارت اتاق یا ۱ ساعت در ۳۷°C انکوبه گردید. مجدداً پس از شستشو ۱۰۰ µl سوبسترای OPD (تهیه شده از شرکت داکو) با غلظت ۱mg/ml به هر چاهک اضافه و پلیت به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. پس از آن ۵۰ µl محلول متوقف کننده یعنی اسید سولفوریک ۱/۲۵M به هر چاهک اضافه گردید. میزان جذب نوری در طول موج ٤۹۲nm با دستگاه خوانده شد [۱۳، ١٤].

۳- نتایج

جدول ۱ درصد آلودگی به کیست هیداتیک را با آزمون Dot- ELISA در شهرستانهای استان ایلام به تفکیک جمعیت شهری، روستایی و عشایری نشان می‌دهد. از مجموع ۳۰۰۰ نفری که با این آزمون آزمایش شدند ۳۷ نفر (۱/۲٪) به این آزمون واکنش مثبت نشان دادند که ۹ نفر جمعیت شهری (۰/٥٦٪)، ۲۱ نفر جمعیت روستایی (۱/٥۷٪) و ۷ نفر جمعیت عشایری (۱۰/۷۷٪) بودند. بیشترین میزان آلودگی در شهرستان مهران (۳/۱۱٪) و کمترین میزان در شهرستان ایوان (۰/۳٦٪) مشاهده شد. اختلاف آماری بین نتایج مثبت و منفی در میان سه قشر شهری، روستایی و عشایری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرف معنادار بود (جدول ۱).

جدول ۱ درصد آلودگی به کیست هیداتیک در شهرستانهای استان ایلام به تفکیک جمعیت شهری، روستایی و عشایری

وضعیت / شهر	شهری*			روستایی*			عشایر*			جمع کل*		
	مثبت	منفی	درصد آلودگی	مثبت	منفی	درصد آلودگی	مثبت	منفی	درصد آلودگی	مثبت	منفی	درصد آلودگی
ایلام	۵	۸۰۵	۰/٦۲	۳	۲۰۳	۱/٤٦	۰	۲	۰/۰۰	۸	۱۰۱۰	۰/۷۹
مهران	۲	۱٤۹	۱/۳۲	۳	۱۰۹	۲/٦۸	٤	۲۲	۱۵/۳۸	۹	۲۸۰	۳/۱۱
دهلران	۱	۲۰۰	۰/۵۰	۱	۱۰۰	۰/۹۹	۲	۱٦	۱۱/۱۱	٤	۳۱٦	۱/۲۵
دره‌شهر	۰	۱۱۳	۰/۰۰	٤	۲۰۸	۱/۸۹	۰	٤	۰/۰۰	٤	۳۲۵	۱/۲۲
آبدانان	۱	۱۳۲	۰/۷۵	٤	۱٤۸	۲/٦۳	۱	۹	۱۰/۰۰	٦	۲۸۹	۲/۰۳
ایوان	۰	۱٤٤	۰/۰۰	۱	۱۳۲	۰/۷۵	۰	٤	۰/۰۰	۱	۲۸۰	۰/۳٦
شیروان چرداول	۰	٤۵	۰/۰۰	۵	٤۱۷	۱/۱۸	۰	۱	۰/۰۰	۵	٤٦۳	۱/۰۷
استان ایلام	۹	۱۵۸۸	۰/۵٦	۲۱	۱۳۱۷	۱/۵۷	۷	۵۸	۱۰/۷۷	۳۷	۲۹٦۳	۱/۲۳

* اختلاف آلودگی درصد ابتلا به کیست هیداتیک در میان جمعیتهای شهری، روستایی و عشایری از نظر آماری معنادار است.

جدول ۲ درصد آلودگی به کیست هیداتیک در میان مردان و زنان استان ایلام را نشان می‌دهد. براساس این جدول ۱/٤۷٪ از زنان و ۱٪ از مردان به این آزمون واکنش مثبت نشان دادند. اختلاف آماری میان درصد ابتلا به کیست هیداتیک در دو جنس با استفاده از آزمون t معنادار نبوده است.

جدول ۲ درصد آلودگی به کیست هیداتیک در میان مردان و زنان استان ایلام به تفکیک جمعیت شهری، روستایی و عشایری

استان ایلام		شهری	روستایی	عشایری	جمع کل
زن	مثبت	۷	۱۲	۳	۲۲
	منفی	۷۸۹	٦٥٦	۳۰	۱٤۷٥
	درصدآلودگی	۰/۸۸	۱/۸۰	۹/۰۹	۱/٤۷
مرد	مثبت	۲	۹	٤	۱٥
	منفی	۷۹۹	٦٦۱	۲۸	۱٤۸۸
	درصدآلودگی	۰/۲٥	۱/۳٤	۱۲/٥۰	۱/۰۰
جمع کل	مثبت	۹	۲۱	۷	۳۷
	منفی	۱٥۸۸	۱۳۱۷	٥۸	۲۹٦۳
	درصدآلودگی	۰/٥٦	۱/٥۷	۱۰/۷۷	۱/۲۳

جدول ۳ درصد آلودگی به کیست هیداتیک را در استان ایلام به تفکیک گروه سنی با آزمون Dot- ELISA نشان می‌دهد. کمترین درصد آلودگی در گروه سنی زیر بیست سال (۰/۲٦٪) و بیشترین درصد آلودگی در گروه سنی بیست تا سی سال (۲/٦۷٪) مشاهده می‌شود. بین درصد آلودگی در گروههای سنی مختلف با استفاده از روش آنالیز واریانس یک مرحله، اختلاف آماری معنادار مشاهده شد ($P<۰/۰٥$).

جدول ۳ درصد آلودگی به کیست هیداتیک در مردان و زنان استان ایلام به تفکیک گروه سنی

رده سنی	زن			مرد			جمع کل		
	مثبت	منفی	درصد آلودگی	مثبت	منفی	درصد آلودگی	مثبت	منفی	درصد آلودگی
کمتر از ۲۰	۲	٤۳۸	۰/٤٥	۱	۳۸۱	۰/۲٦	۳	۸۱۹	۰/۳٦
*۲۰-۳۰	۷	۲۲۲	۳/۰٦	٦	۲٥۲	۲/۳۳	۱۳	٤۷٤	۲/٦۷
۳۰-٤۰	۷	۳۲۳	۲/۱۲	٤	۳٤٥	۱/۱٥	۱۱	٦٦۸	۱/٦۲
٤۰-٥۰	٥	۱۷۱	۲/۸٤	۲	۲۳۱	۰/۸٦	۷	٤۰۲	۱/۷۱
٥۰-٦۰	۱	۳٤٦	۰/۲۹	۲	۲۹۱	۰/٦۸	۳	٦۳۷	۰/٤۷
جمع کل	۲۲	۱٥۰۰	۱/٤٥	۱٥	۱٥۰۰	۰/۹۹	۳۷	۳۰۰۰	۱/۲۲

* اختلاف آلودگی میان درصد ابتلا به کیست هیداتیک در میان رده سنی ۲۰ تا ۳۰ سال با رده‌های سنی دیگر از نظر آماری معنادار است.

٤- بحث

در حال حاضر هیداتیدوزیس یکی از مهمترین بیماریهای انگلی دنیا به شمار می‌رود. این بیماری در هر پنج قاره با گستردگی قابل ملاحظه‌ای مشاهده می‌شود. خسارتهای بهداشتی و اقتصادی ناشی از این بیماری در بیشتر نقاط دنیا بخصوص خاورمیانه، اروپای جنوبی و مرکزی، چین و افریقا غیر قابل چشم‌پوشی است. در کشور ما نیز هیداتیدوز دامی و انسانی شیوع چشمگیری دارد. در این بیماری که انسان میزبان واسط می‌باشد، تشخیص مراحل لاروی انگل اغلب با استفاده از روشهای سرولوژیک امکانپذیر است.

تحقیق حاضر، اولین تحقیق سرواپیدمیولوژی بیماری کیست‌هیداتیک

انسانی در استان ایلام می‌باشد. در بررسی دلیمی و همکاران (۱۳۸۰) بر روی گوشتخواران غرب کشور در استان ایلام نتایج زیر به‌دست آمده است:

در روباه قرمز و گرگ، آلودگی به اکینوکوکوس مشاهده نشد اما از ۷۵ قلاده شغال طلایی، در یک قلاده (۱/۳٪) اکینوکوکوزیس گزارش گردید [۱٤].

رفیعی و همکاران (۱۳۷۸) در یک بررسی، میزان شیوع کیست هیداتیک را در استان خوزستان با روش الایزا ۱/۸٪ گزارش کردند [۱۵]. کفاشیان و همکاران (۱۳۷۵) در یک بررسی شیوع بیماری کیست هیداتیک را در یک هزار نفر از عشایر کوچروی ایل قشقایی فارس ۵٪ گزارش کردند [۱٦].

در سال ۱۹۷۸ فلجر برای اولین بار از روش Dot- ELISA در مطالعه سرواپیدمولوژیک برای تشخیص کیست هیداتیک استفاده کرد [۱٦]. در سال ۱۹۸٦ ژنگ و همکاران با استفاده از مایع خام کیست هیداتیک حساسیت و ویژگی این آزمون را بترتیب ۹۲/۳٪ و ۸۹/۹٪ به‌دست آوردند [۱۷]. پاپاس و همکاران نیز در سال ۱۹۸٦ با استفاده از مایع خام کیست هیداتیک حساسیت و ویژگی این آزمون را بترتیب ۹٦٪ و ۹۸٪ تعیین کرد [۱۸]. در سال ۱۹۹۱ روگان و همکاران با استفاده از آنتی‌ژن ب و خون کامل این روش را برای تشخیص هیداتیدوزیس به‌کار بردند، حساسیت و ویژگی این آزمون بترتیب ۹٤٪ و ۹۰/۳٪ تعیین شد [۱۹]. جالوسیان و همکاران نیز در سال ۱۳۷۹ روش الایزای نقطه‌ای را با آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انجام دادند وحساسیت و ویژگی آن را بترتیب ۱۰۰٪ و ۹۷٪ تعیین کردند[۲۰].

یافته‌های این بررسی درصد نسبتاً بالای آلودگی را در عشایر نشان می‌دهد؛ این امر به علت تماس دائمی این افراد با سگ و دام است که باعث تکرار چرخه تکاملی انگل می‌شود. سگ یکی از ارکان مهم در زندگی عشایری است که یا به منظور مواظبت از گله یا مراقبت از سیاه چادرها نگهداری می‌شود.

براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق بیشترین درصد آلودگی در شهرستان مهران (۳/۱۱٪) و کمترین درصد آلودگی در شهرستان ایوان (۰/۳٦٪) گزارش شده است. علت این اختلاف این است که بیشترین جمعیت عشایری استان در شهرستان مهران و کمترین جمعیت عشایری در شهرستان ایوان متمرکز است.

در این تحقیق سعی شده است، با توجه به اهمیت کیست هیداتیک و دوره نهفتگی طولانی این بیماری از یک روش سرولوژیکی ساده و امکانپذیر در مطالعات میدانی، یعنی روش Dot-ELISA، برای تشخیص سریع این بیماری استفاده شود. Dot-ELISA به علت دارا بودن امتیازاتی مانند حساسیت و ویژگی بالا، آسان بودن روش کار، شستشوی ساده و عدم نیاز به دستگاه قرائت‌گر برای خواندن نتایج، روش مناسبی برای انجام دادن مطالعات سرواپیدمیولوژیک و غربالگری بیماران در مطالعات میدانی است. تحقیق حاضر اولین مطالعه با استفاده از این روش در ایران است که نتایج آن بوضوح با روش الیزا مطابقت دارد؛ بنابراین استفاده از این روش برای مطالعات دیگر سرواپیدمیولوژیک در این زمینه در کشور پیشنهاد می‌شود.

۵- منابع

[٤] اسلامی ع. کرم‌شناسی دامپزشکی. ج.۲. تهران: موسسه نشر جهاد دانشگاهی؛ ۱۳۷٤. ص. ۵۵۱-۵۵۳. ۱۳۷٤.

[۵] موبدی ا، دلیمی اصل ع. اپیدمیولوژی کیست هیداتیک در جهان و ایران. تهران: انتشارات مقدم؛ ۱۳۷۳. ص. ۱۳۸-۱٤٤.

[6] Scantz PM, Chai J, Echert A, Craig PS. Epidemiology and control of hydatid disease. Thompson RCA., lymbery A.Y. editors.

[1] Thompson RCA. Biology and systematic of Echinicoccosis. In: Echinicoccus and hydatid disease, Thompson RCA., Lymbery A.J., editors. Walingford: CBA International; 1995. p. 1-50.

[2] Schantz P M. Parasitic zoonosis in perspective. Int. J. Parasitol 1991; 21: 161-170.

[3] Todorov T, Boeva V. Human Echinococcosis in bulgaria: a comparative epidemiological analysis. Bull WHO; 1999; 77(2): 110-118.

(EITB) for immunodiagnosis of hydatid diseases in sheep. Acta Tropica 2004; 92(1): 17-24.

[15] Dalimi A, Motamedia A, Hosseini Gh, Malaki H, Ghamari Z, Ghaffarifar F. Echinococcosis hydatidosis in western Iran. Veterinary Parasitology 2002; 228: 1-11.

[۱۶] کفاشیان ف، حیاتی ا، صابر فیروزی م، قادری ع.ع. بررسی شیوع بیماری کیست هیداتیک در عشایر کوچ روایل قشقایی فارس. مجله پزشکی کوثر ۱۳۷۸؛ ۳: ۲۵.

[17] Felger D. Antibody activity in stick ELISA as compared to other quantitaiive immunological test in Echinococcus cases. Trop. Med. Pasitol. 1978; 29: 417-422.

[18] Zheng G Y. Dot immunovinding assay in serodiagnosis of human hydatid disease. Am J. Trop. Med. Hyg 1986; 35: 812-814.

[19] Pappas M G. Dot- ELISA for rapid diagnosis of human hydatid disease. Diagnostic Immunology1986; 4: 271-276.

[20] Rogan M T. Evaluation of rapid Dot – ELISA as a field test for the diagnosis of cystic hydatid disease. Trans. Roy. Trop. Med. Hyg. 1991; 85:773-777.

[۲۱] جالوسیان ف. راه‌اندازی و ارزیابی روش G-ELISA برای تشخیص سرولوژیک هیدرتیدوزیس و مقایسه آن با روش DOT-ELISA. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، تهران: دانشکده پزشکی – دانشگاه تربیت مدرس؛ ۱۳۷۹، ص. ۸۲–۱۰۳.

Walingford: CBA international, UK; 1995. p. 232-274.

[7] Heath DD. Immunology of echinicoccous infections. In: the biology of echinococcus and hydatid disease. Thompson RCA., editor. London: Allen & Unwin, 1986. p. 164-188.

[8] Cox FEG. Immunology in modern parasitology, 2nd ed. Cox F.E.G, editor. London: Blackwell, 1993. p.193-219.

[9] Craig PS., Rogan M.T., and Allan J.E.; "Hydatidosis and cysticercosis-larva cestodes pp:209-236. InMedical Parasitology, a practical approach. Ed, Gillespy S.H. and Hawkey P.M., IRL-Press, Oxford, 1995.

[10] Rogan M T. Immunological analysis of parasite molecules. In: Analytical parasitology. rogan M.T., editor. UK: Springer; 1996. p. 320-391.

[11] Rafiei A, Craig PS, Maraghi SA. Seroepidemiological servey of human cysitic echinococonsis in Iran. XXth International Congress of Hydatidology; 2001 (8-9) June: 193.

[۱۲] غفاری فر ف. دلیمی اصل ع. زواران حسینی ا. تهیه ساده آنتی‌ژنهای گروه ب اکینوکوکوس گرانولوزوس از مایع کیست هیداتیک گوسفندی و ارزیابی آن با روش الایزای نقطه‌ای مجله علوم پزشکی مدرس ۱۳۷۹؛ ۳ (۲)؛ ۱۲۱۳: ۱۱–۱۱۹.

[13] Crowther J R. ELISA Theory and practice, New Jersy: Human press; 1993.

[14] Simsek S, Koroglu E. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot