# ارزیابی قدرت روش‌های الیزای نقطه‌ای (Dot- ELISA) ایمونوفلورسانس غیر مستقیم (IFS) و هماگلوتنیاسیون غیرمستقیم (IHA) در تشخیص کیست‌های هیداتیک کبدی و ریوی انسان

دکتر داود قربان خانی *، دکتر عبدالحسین دلیمی اصل **

**خلاصه**

**سابقه و هدف:** با توجه به میزان شیوع کیست هیداتیک در کشور و عدم کارآیی لازم برخی از آزمون‌های سرولوژیک رایج در کشور جهت تشخیص آلودگی به کیست، این مطالعه به منظور ارزیابی قدرت آزمون‌های الیزای نقطه‌ای (Dot-ELISA)، ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (IFA) و هماگلوتیناسیون غیرمستقیم (IHA) ریوی در تشخیص کیست‌های و کبدی طی سال ۱۳۷۶ در تهران انجام گرفت.

**مواد و روشها:** پژوهش حاضر با روش کارآزمایی بالینی از نوع تشخیصی بر روی ۲۴۴ نمونه سرم از سه گروه به صورت ۳۰ نمونه از بیماران هیداتیدی، ۱۰۴ نمونه از بیماران غیرهیداتیدی و ۱۱۰ نمونه از افراد سالم صورت پذیرفت. مبتلایان به کیست هیداتید را به طور عمده افراد مبتلا به کیست هیداتیک کبدی (۱۴ نفر)، کیست هیداتیک ریوی (۱۰ نفر) و کیست هیداتیک توأم کبدی - ریوی (۶ نفر) تشکیل می‌دادند که وجود کیست در اندام‌های آنها پس از انجام عمل جراحی مورد تایید قرار گرفته بود. سرم‌ها با سه روش میکروهماگلوتیناسیون غیرمستقیم، ایمونوفلورسانس غیرمستقیم و الیزای نقطه‌ای آزمایش شدند. حساسیت، ویژگی، پیش بینی مثبت و منفی هر کدام از آزمون‌ها در تشخیص کیست‌های کبدی، ریوی و توأم کبدی - ریوی محاسبه و با یکدیگر مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** پس از انجام آزمایش‌های لازم، حساسیت آزمون IHA برای تشخیص کیست کبدی، ریوی و کبدی - ریوی به ترتیب ۷۸/۶، ۶۰ و ۱۰۰ درصد و ویژگی آزمون ۹۳/۹۳ درصد. در آزمون IFA حساسیت آزمایش برای تشخیص کیست کبدی ۹۳ درصد، برای کیست ریوی ۸۰ درصد و برای کیست توأم کبدی - ریوی ۱۰۰ درصد و ویژگی آن در هر سه مورد ۹۶/۲۶ درصد می‌باشد. حساسیت آزمون Dot ELISA در تشخیص کیست در هر سه مورد کبدی، ریوی و کبدی - ریوی، ۱۰۰ درصد و ویژگی آن ۹۹/۵۴ درصد بود.

**نتیجه گیری:** در تشخیص آلودگی به کیست هیداتیک آزمون الیزای نقطه‌ای در مقایسه با روش‌های ارزش IFA و IHA دارای تشخیصی بهتری می‌باشد. این آزمون تقریباً به یک نسبت قادر است که کیست‌های کبدی و ریوی را تشخیص دهد.

**واژگان کلیدی:** هیداتیدوزیس، کیست هیداتیک، الیزای نقطه‌ای، ایمونوفلورسانس غیرمستقیم، هماگلوتنیاسیون غیرمستقیم، اکینوکوکوس گرانولوزوس

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، دانشکده پیراپزشکی
** دانشگاه تربیت مدرس، گروه انگل شناسی

## مقدمه

امروزه ابتلا به هیداتیدوزیس ناشی از اکینوکوکوس گرانولوزوس یکی از مشکلات مهم بهداشتی و اقتصادی مناطق وسیعی از جهان به شمار می‌آید (۱). با توجه به شیوع نسبتاً زیاد بیماری در کشور (۱)، تشخیص صحیح، دقیق و به موقع کیست هیداتیک در اندام‌های مختلف بدن بویژه کیست‌های ریوی حایز اهمیت فراوان می‌باشد. معمولاً روش‌های تشخیص این‌بیماری شامل روش‌های سرولوژیک (۱) و تصویر برداری از اندام‌ها است (۱)، برخی از آزمون‌های سرولوژیک فاقد حساسیت لازم جهت تشخیص صحیح کیست‌های هیداتیک ریوی هستند (۲). مطالعات برخی از محققان مؤید این مطلب می‌باشد که حساسیت آزمون‌های رایج همانند IHA و IFA در تشخیص کیست‌های ریوی همواره کمتر از کیست‌های کبدی است (۲،۳،۴،۵،۶)، به همین جهت تلاش محققان برای یافتن یک روش حساس ، در نهایت منجر به استفاده از روش الیزا برای تشخیص کیست‌های ریوی گردید. گرچه نتایج حاصل از به کارگیری این آزمون بسیار جالب بود (۲)، آزمون الیزا یک روش گران و پیچیده می‌باشد و به آزمایشگاه مجهز به دستگاه قرائت‌گر الیزا نیاز دارد. برای رفع این مشکل ، گروهی از محققان از روش Dot-ELISA استفاده نمودند (۵،۷،۸،۹،۱۰). با توجه به وجود اختلاف در قدرت‌آزمون‌های سرولوژیک‌جهت تشخیص آلودگی به کیست هیداتیک ، این تحقیق با هدف ارزیابی و مقایسه قدرت آزمون‌های الیزای نقطه‌ای، ایمونوفلورسانس غیرمستقیم و هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در تشخیص کیست‌های هیداتیک ریوی و کبدی در سال ۱۳۷۶ در آزمایشگاه گروه انگل شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و با همکاری موسسه رازی انجام گرفت.

## مواد و روشها

پژوهش حاضر با روش کارآزمایی بالینی از نوع تشخیصی بر روی ۲۴۴ نمونه سرم از سه گروه به صورت ۳۰ نمونه از بیماران هیداتیدی ، ۱۰۴ نمونه از بیماران غیرهیداتیدی و ۱۱۰ نمونه از افراد سالم صورت پذیرفت.

بیماران مبتلا به کیست هیداتیک را به طور عمده افراد مبتلا به کیست کبدی (۱۴ نفر)، کیست ریوی (۱۰ نفر) و کیست توأم کبدی - ریوی (۶ نفر) تشکیل می‌دادند که وجود کیست در اندام‌های آنها پس از عمل جراحی کیست مورد تایید قرار گرفته بود و گروه بیماران غیرهیداتیدی را طیف نسبتاً وسیعی از بیماران مبتلا به اسکاریس لمبریکوییدس ، ژیاردیا، فاسیولا، هیمنولپیس نانا، استرونژیلوس استرکورالیس، تنیاساژیناتا، کرم‌های قلاب‌دار، کولیت روده‌ای، هپاتیت، سرطان شکم، سرطان سینه، سرطان کبد، سرطان خون، تومور مغزی، کیست عفونی کبد، سل، میلوم مولتیپل، ANA مثبت و عفونت‌های باکتریایی تشکیل می‌دادند. سرم این افراد از بیمارستان‌های مختلف تهران جمع آوری گردید.

در این تحقیق، روش میکروهماگلوتیناسیون غیرمستقیم‌به کار رفت. شیوه این روش به شرح زیر است:

**الف - تهیه گلبول‌های قرمز حساس شده** - ابتدا خون گوسفند را ۴ بار با PBS شستشو داده، رقیق کرده، سپس اسیدتانیک به رقت ۱:۲۰۰۰۰ اضافه نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد. بعد از آن، مخلوط را سانتریفوژ کرده و رسوب را با PBS شستشو داده و به ۲۰ میلی‌لیتر از گلبول‌های رقیق شده، ۲۰ میلی‌لیتر مایع کیست هیداتیک اضافه نموده و مدت ۱۵ دقیقه در حرارت اتاق نگه‌داری می‌گردد. سپس، به محلول سرم فیزیولوژی اضافه و آن را سانتریفوژ کرده و به رسوب حاصل PBS حاوی ۱:۲۵۰ سرم خرگوش اضافه می‌شود.

ب - روش انجام آزمایش - ابتدا در یک میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای به ازای هر خانه ۱۰۰ لاندا PBS حاوی محلول ۰/۰۱ سرم خرگوش ریخته ، سپس ۱۰۰ لاندا سرم را در اولین خانه ریخته و از آنها رقت‌های مختلف تهیه می‌گردد و ۱۰ لاندا گلبول‌های قرمز حساس شده به آنها افزوده می‌گردد.

پلیت را به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده، سپس نتایج خوانده می‌شود. رسوب یکنواخت گلبول‌های قرمز در ته حفره نشانه مثبت بودن نتیجه و تشکیل رسوب به صورت حلقه یا دایره منظم نشانه منفی بودن نتیجه است.

آزمایش IFA- در این تحقیق از روش تغییر شکل یافته IFA استفاده گردید. بدین ترتیب که ابتدا پروتواسکولکس‌های جمع‌آوری شده از کیست هیداتیک را چند بار شستشو داده و به کمک پیپت پاستور قطره‌ای از رسوب روی لام گذاشته تا خشک گردد، پس از خشک شدن، لام‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در استون قرار می‌گیرند تا انگل کاملاً بر روی لام ثابت شود. بعد از آن، به خانه اول میکروپلیت ۱۰۰ لاندا سرم اضافه کرده و رقت‌های مختلف تهیه می‌گردد. بر روی هر گروه پروتواسکولکس ثابت شده بر روی لام حدود ۲۰ لاندا از سرم‌های رقیق گردیده را ریخته و لام‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه مرطوب در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند. سپس لام را سه بار با PBS شستشو داده و نمونه‌ها با رقت مناسب کونژوگه FITC حاوی اوانس بلو به مدت ۳۰ دقیقه مجاور می‌شود. آن‌گاه لامها سه بار با PBS شستشو داده شده و قبل از خشک گردیدن، روی نمونه چند قطره بافر گلیسرول ریخته و بر روی آن لامل قرار داده و زیر میکروسکوپ فلورسانس بررسی می‌شود. در صورت مثبت بودن سرم پروتواسکولکس‌ها به رنگ سبز درخشان و در صورت منفی بودن پروتواسکولکس‌ها بدون درخشش بوده و به رنگ قرمز مشاهده می‌گردد.

آزمایش الیزای نقطه‌ای - برای انجام آزمایش الیزای نقطه‌ای از روش zheng و همکاران ۱۹۸۶ استفاده شد. بدین ترتیب که :

الف ) ابتدا از مایع کیست هیداتیک محلول حاوی آنتی‌ژن ب را از طریق روش حرارت دادن جدا نموده، سپس بر روی کاغذ نیتروسلولز، ۳ لاندا از محلول را ریخته و اجازه داده می‌شود در دمای اتاق خشک گردد. برای بلوکه نمودن کاغذ نیتروسلولز، کاغذها در بافر سالین حاوی توین ۲۰ به مدت نیم ساعت قرار می‌گیرند.

ب ) از سرم افراد رقت‌های مختلف راتهیه کرده و کاغذهای نیتروسلولز را در سرم رقیق شده به مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه بر روی روتاتور آرام انکوبه می‌کنند، سپس کاغذها ۳ بار با بافر شستشو داده شده و رقت مناسب از آنتی هیومن IgG کونژوگه گردیده با پراکسیداز تهیه کرده و کاغذها به مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه با آن مجاور می‌شوند. پس از این مدت ، دوباره ۳ بار کاغذها با بافر شستشو داده می‌شوند.

ج ) کاغذها را در محلول DAB به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده سپس با آب معمولی شستشو می‌دهند، معمولاً ظهور رنگ نارنجی یا قهوه‌ای بر روی کاغذ علامت مثبت بودن سرم تلقی می‌گردد.

طبق مطالعات گذشته، تیتر مثبت برای آزمون IHA مساوی یا بیشتر از ۱:۶۴ و برای آزمون IFA مساوی یا بیشتر از ۱:۳۲ (۲) و برای آزمون الیزای نقطه‌ای مساوی یا بالاتر از ۱:۴۰۰ (۹) در نظر گرفته شد.

روش آماری - در این مطالعه حساسیت، ویژگی ، پیش‌بینی مثبت و منفی هر کدام از آزمایش‌ها در تشخیص کیست‌های کبدی، ریوی و کبدی - ریوی محاسبه و با یکدیگر مقایسه گردید.

## یافته‌ها

در آزمون IHA، از ۳۰ مورد بیمار هیداتیدی ، ۲۳ مورد دارای پاسخ مثبت حقیقی و ۷ مورد دارای پاسخ منفی کاذب و از ۲۱۴ مورد افراد غیرهیداتیدی، ۱۳ مورد مثبت کاذب و ۲۰۱ مورد منفی حقیقی بود. از طرف دیگر، از ۱۱۴ مورد کیست کبدی، ۱۱ مورد ؛ از ۱۰ کیست ریوی، ۶ مورد و از ۶ مورد آلودگی توأم کبد و ریه هر ۶ مورد دارای پاسخ مثبت می‌باشند (جدول ۱). از این رو، حساسیت این آزمون برای تشخیص کیست کبدی ۷۸/۶ درصد، برای کیست ریوی ۶۰ درصد و برای آلودگی توأم کبدی - ریوی ۱۰۰ درصد است. ویژگی ، پیش‌بینی مثبت و منفی برای هر کدام از کیست‌های کبدی، ریوی و کبدی - ریوی در جدول (۱) ذکر شده است. در آزمون IFA ، از ۳۰ مورد بیمار هیداتیدی ، ۲۷ مورد دارای پاسخ مثبت حقیقی و ۳ مورد دارای پاسخ منفی کاذب و از ۲۱۴ مورد افراد غیرهیداتیدی ، ۸ مورد مثبت کاذب و ۲۰۶ مورد منفی حقیقی بود. به علاوه، از ۱۱۴ مورد کیست کبدی، ۱۳ مورد؛ از ۱۰ مورد کیست ریوی ، ۸ مورد و از ۶ مورد کیست‌های توأم ریوی - کبدی همگی دارای پاسخ مثبت می‌باشند (جدول ۲). از این رو، حساسیت این آزمون برای تشخیص کیست کبدی، ۹۳ درصد؛ برای کیست ریوی، ۸۰ درصد و برای کیست توأم کبدی - ریوی، ۱۰۰ درصد می‌باشد. ویژگی، پیش بینی مثبت و منفی برای هرکدام از کیست‌های کبدی، ریوی و کبدی - ریوی در جدول (۲) آورده شده است.

جدول ۱ـ قدرت آزمون IHA در تشخیص هیداتیدوزیس بر حسب موقعیت کیست در بدن

| موقعیت کیست | تعداد سرم مورد مطالعه | تعداد موارد مثبت | | تعداد موارد منفی | | حساسیت | ویژگی | پیش‌بینی مثبت | پیش‌بینی منفی |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | حقیقی | کاذب | حقیقی | کاذب | | | | |
| کیست کبدی | ۲۲۸ | ۱۱ | ۱۳ | ۲۰۱ | ۳ | ۷۸/۶ | ۹۳/۹۳ | ۴۵/۸۳ | ۹۸/۵۳ |
| کیست ریوی | ۲۲۴ | ۶ | ۱۳ | ۲۰۱ | ۴ | ۶۰ | ۹۳/۹۳ | ۳۱/۵۷ | ۹۸/۰۴ |
| کیست توأم کبدی - ریوی | ۲۲۰ | ۶ | ۱۳ | ۲۰۱ | ۰ | ۱۰۰ | ۹۳/۹۳ | ۳۱/۵۷ | ۱۰۰ |
| کل | ۲۴۴ | ۲۳ | ۱۳ | ۲۰۱ | ۷ | ۷۶/۶۶ | ۹۳/۹۳ | ۶۳/۸۸ | ۹۶/۶۳ |

جدول ۲ـ قدرت آزمون IFA در تشخیص هیداتیدوزیس بر حسب موقعیت کیست در بدن

| موقعیت کیست | تعداد سرم مورد مطالعه | تعداد موارد مثبت | | تعداد موارد منفی | | حساسیت | ویژگی | پیش‌بینی مثبت | پیش‌بینی منفی |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | حقیقی | کاذب | حقیقی | کاذب | | | | |
| کیست کبدی | ۲۲۸ | ۱۳ | ۸ | ۲۰۶ | ۱ | ۹۲/۸۵ | ۹۶/۲۶ | ۶۱/۹۰ | ۹۹/۵۱ |
| کیست ریوی | ۲۲۴ | ۸ | ۸ | ۲۰۶ | ۲ | ۸۰ | ۹۶/۲۶ | ۵۰ | ۹۹/۰۳ |
| کیست توأم کبدی - ریوی | ۲۲۰ | ۶ | ۸ | ۲۰۶ | ۰ | ۱۰۰ | ۹۶/۲۶ | ۴۲/۸۵ | ۱۰۰ |
| کل | ۲۴۴ | ۲۷ | ۸ | ۲۰۶ | ۳ | ۹۰ | ۹۶/۲۶ | ۷۷/۱۴ | ۹۸/۵۶ |

در آزمون Dot-ELISA از ۳۰ مورد بیمار هیداتیدی، ۳۰ مورد دارای پاسخ مثبت حقیقی و بدون پاسخ منفی کاذب و از ۲۱۴ مورد افراد غیرهیداتیدی فقط یک مورد مثبت کاذب و ۲۱۳ مورد منفی حقیقی بود. تنها مورد مثبت کاذب در این آزمون مربوط به یک فرد مبتلا به تنیاساژیناتا می‌باشد. هم‌چنین از ۱۱۴ مورد کیست کبدی، ۱۴ مورد؛ از ۱۰ مورد کیست ریوی ، ۱۰ مورد و از ۶ مورد آلودگی توأم کبدی - ریوی همگی دارای پاسخ مثبت بودند (جدول ۳). بنابراین، حساسیت این آزمون برای تشخیص کیست کبدی، کیست ریوی و کیست ریوی - کبدی هر سه ۱۰۰ درصد است. ویژگی، پیش بینی مثبت و منفی هر کدام از کیست‌های کبدی، ریوی و کبدی - ریوی در جدول (۳) درج گردیده است.

جدول ۳ـ قدرت آزمون Dot-ELISA در تشخیص هیداتیدوزیس بر حسب موقعیت کیست در بدن

| موقعیت کیست | تعداد سرم مورد مطالعه | تعداد موارد مثبت | | تعداد موارد منفی | | حساسیت | ویژگی | پیش‌بینی مثبت | پیش‌بینی منفی |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | حقیقی | کاذب | حقیقی | کاذب | | | | |
| کیست کبدی | ۲۲۸ | ۱۴ | ۱ | ۲۱۳ | ۰ | ۱۰۰ | ۹۹/۵۴ | ۹۳/۳۳ | ۱۰۰ |
| کیست ریوی | ۲۲۴ | ۱۰ | ۱ | ۲۱۳ | ۰ | ۸۰۱۰۰ | ۹۹/۵۴ | ۹۰/۹۰ | ۱۰۰ |
| کیست توأم کبدی - ریوی | ۲۲۰ | ۶ | ۱ | ۲۱۳ | ۰ | ۱۰۰ | ۹۹/۵۴ | ۸۵/۷۱ | ۱۰۰ |
| کل | ۲۴۴ | ۳۰ | ۱ | ۲۱۳ | ۰ | ۱۰۰ | ۹۹/۵۴ | ۹۶/۷۷ | ۱۰۰ |

## بحث

در مطالعه حاضر، حساسیت آزمون IHA برای تشخیص کیست‌های کبدی، ۷۸/۶ درصد و برای کیست‌های ریوی، ۶۰ درصد و برای آلودگی توأم کبدی - ریوی، ۱۰۰ درصد و حساسیت آزمون IFA برای تشخیص کیست‌های ریوی، ۸۰ درصد ؛ برای آلودگی کبدی ، ۹۳ درصد و برای آلودگی توأم کبدی- ریوی، ۱۰۰ درصد بود. این نتایج بیانگر آن است که این دو آزمون در تشخیص کیست هیداتیک ریوی دارای موارد منفی کاذب متعددی هستند. حساسیت آنها در تشخیص کیست‌های ریوی همواره کمتر از تشخیص کیست‌های کبدی می‌باشد. نتایج مطالعات محققان مختلف در جهان و ایران نیز مؤید این اختلاف است. Wattal و همکاران در سال ۱۹۸۶ ، حساسیت آزمون‌های IHA و IFA را در موارد ریوی به ترتیب ۵۹ و ۸۱ درصد و در موارد کبدی ۷۶/۲ و ۹۰ درصد گزارش کرده‌اند (۲). لمعه در سال ۱۳۵۵، در IFA حساسیت تشخیص ابتلا به هیداتیدوز کبدی را ۱۰۰ درصد و در هیداتیدوز ریوی ۸۰ درصد بیان داشت(۵). اخلاقی در سال ۱۳۶۵ ، حساسیت هیداتیدوز را به ترتیب کبدی با روش‌های IFA و IHA ۸۲/۸ و ۶۹/۳ درصد و برای هیداتیدوز ریوی به ترتیب ۶۷/۳ و ۷۳/۱ درصد تعیین نموده است (۶). طبیبی و سعادت‌زاده در سال ۱۳۵۸، حساسیت آزمون کیست‌های IFA برای تشخیص هیداتید کبدی و ریوی را به ترتیب ۱۰۰ و ۸۰ درصد و

حساسیت آزمون IHA را به ترتیب ۸۹ و ۸۵ درصد گزارش نموده‌اند (۳). لاهوتی در سال ۱۳۶۴، نیز حساسیت آزمون برای IHA در موارد کبدی ۷۹/۵ درصد و کیست‌های ریوی ۶۳ درصد بیان داشت (۴).

نکته قابل توجه در مورد آزمون الیزای نقطه‌ای این است که تقریباً به یک نسبت می‌تواند کیست‌های کبدی و ریوی را تشخیص دهد و این یکی از بهترین محاسن این آزمون به شمار می‌آید. یکی از علل این نکته استفاده از آنتی‌ژن نسبتاً تخلیص شده در این آزمون است که محلولی غنی از آنتی‌ژن ب می‌باشد. این آنتی‌ژن برای آزمون‌های تشخیص کیست هیداتیک بسیار مفید بوده و مطالعاتی نیز توسط Njeruh و همکاران در سال ۱۹۸۶ (۱۱) و Rogan و همکاران در سال ۱۹۹۱ (۱۲) برای ارزیابی این آنتی‌ژن و اجزای آن در آزمایش‌های الیزا و الیزای نقطه‌ای صورت پذیرفت که همه آنها منجر به کسب نتایج بسیار خوبی بود. Njeruh و همکاران با استفاده از محلول جوشانده کیست هیداتیک در آزمون الیزا، حساسیت آزمون را ۸۲/۷ ، درصد گزارش کردند (۱۱) ، Rogan و همکاران در مقایسه نتایج استفاده از آنتی‌ژن خام و آنتی‌ژن Bدر آزمون الیزای نقطه‌ای ، حساسیت و ویژگی آزمون را هنگام استفاده از آنتی خام به ترتیب ۹۷ و ۵۲ درصد و پس از استفاده از آنتی‌ژن ب به ترتیب ۹۴ و ۹۰/۳ درصد بیان داشتند (۱۲).

با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت که آزمون الیزای نقطه‌ای در تشخیص کیست‌های هیداتیک ریوی دارای ارزش فراوانی بوده و با توجه به سرعت، سادگی ، پایین بودن هزینه‌های انجام آزمون، حساسیت عالی و ویژگی بی‌نظیر آن، به کارگیری این آزمون در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی کشور توصیه می‌گردد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات بی‌شائبه آقای دکتر مدنی و خانم گلچین فر از موسسه رازی و خانم دکتر غفاری‌فر از دانشگاه تربیت مدرس و آقای دکتر سلامی به خاطر مساعدت‌های علمی و فنی و جناب آقای دکتر اورمزدی و دکتر شمس از دانشگاه علوم پزشکی ایران به خاطر راهنمایی‌های علمی تشکر و قدردانی می‌شود.

## References:

۱ - موبدی ا. دلیمی اصل ع. اپیدمیولوژی کیست هیداتید در جهان و ایران. تهران : انتشارات مقدم؛ ۱۳۷۳ .

2. Wattal C. Malla N. Khan IA. Agarwal SC. Comparative evaluation of enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of pulmonary echinococcosis. J Clin Microbiol. 1986; 24: 41-46.

۳- طبیبی و. سعادت زاده ح. کاربرد روش ایمونوفلورسانس در تشخیص کیست هیداتیک و مقایسه آن با روش‌های کلاسیک در تهران. مجله دانشکده پزشکی تهران. ۱۳۵۷؛ ۲ (۷).

۴- لاهوتی م. بررسی کاربرد آزمایشگاهی روش‌های هموگلوتیناسیون غیرمستقیم و کمپلمان فیکساسیون در بیماران مبتلا به

کیست هیداتیک. پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد پاتوبیولوژی. دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۶۴: ۷۱-۴۹.

۵- لمعه ف. کاربرد روش ایمونوفلورسانس در آلودگی انسان به کیست هیداتید. پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد پاتوبیولوژی. دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۵۵: ۵۶-۲۳.

۶- اخلاقی ل. تهیه آنتی‌ژن‌های محلول و فیگوره کیست هیداتید و بررسی کاربرد آزمایشگاهی آنها در بیماران مبتلا به کیست هیداتید. پایان نامه برای دریافت درجه دکترای تخصصی انگل شناسی. دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۶۵: ۸۰-۳۷.

7. Fleger P. Antibody activity in stick ELISA and compared to other quantitive immunologoical tests and sera of Echinococcus cases. Trop Parasitol. 1978; 29: 417-422.

8. Pappas MG. Schantz PM. Cannon LT. Wahlqist SP. Dot ELISA for the rapid serodiagnosis of human hydatid disease. Diag Immunol. 1986; 4: 271-276.

9. Zheng G. Dot- immunobinding assay in the serodiagnosis of human hydatid disease. Am J Trop Med Hyg. 1986; 35: 812-814.

10. Pappas MG. Recent application of Dot- ELISA in immunoparasitiology. Vet Parasitol. 1988; 29: 105-112.

11. Njeruh FM. Gathuma JM. Tumboth- Oeri AG. Diagnosis of human hydatidosis in Kenya II. An enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) based on a thermostable antigen. E Afer Med J. 1986; 63: 318- 321.

12. Rogan MT. Craig PS. Zeyhle E. Romig T. Lubano GM. Liu D. Evaluation of a rapid Dot-ELISA as a field test for the diagnosis of cystic hydatid disease. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1991; 85: 773-777.