بررسی فراوانی هیداتیدوز انسانی در مراجعین به مراکز انتقال خون تهران با استفاده از روش Dot-ELISA در سال ۸۶-۱۳۸۵

*دکتر لامع اخلاقیI

دکتر هرمزد اورمزدیII

شهاب الدین سرویIII

دکتر الهام رزمجوIV

دکتر مهدی شکرابیV

دکتر محمد رضا سیاوشیVI

ملوک بیرم وندVII

مهدی تولاVII

چکیده

زمینه و هدف: هیداتیدوزیس در اثر ابتلاء انسان و دیگر میزبانان واسط به مرحله لاروی کرم اکینوکوکوس گرانولوزوس (Echinococcus granulosus) ایجاد می شود. در بیشتر موارد تشخیص این بیماری به سبب دوره کمون طولانی و نداشتن علائم بالینی شاخص آسان نبوده و در برخی موارد تا چندین سال بدون علامت باقی می ماند. هدف از این مطالعه بررسی میزان شیوع کیست هیداتید در مراجعین به مراکز انتقال خون تهران با استفاده از روش حساس و ساده سرولوژیکی Dot-ELISA در طی سالهای ۸۶-۱۳۸۵ بود.

روش بررسی: این مطالعهٔ توصیفی- مقطعی بر روی ۱۱۰۰ نفر از مراجعه کنندگان به سازمان انتقال خون تهران انجام شد و نتایج حاصل با استفاده از آزمون آماری Chi-Square و T-test مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت.

آنتی ژن B یکی از آنتی ژنهای اصلی، اختصاصی و مقاوم به حرارت کیست هیداتید می باشد که برای انجام تست Dot-ELISA از مایع کیست گوسفندی جداسازی و با روش SDS-PAGE وزن مولکولی پروتئینهای آن kDa ۱۲-۸ تعیین شد. یک میکروگرم از آنتی ژن B جداسازی شده بر روی کاغذهای دایره ای نیتروسلولز نقطه گذاری و سرم افراد مراجعه کننده به مراکز انتقال خون با رقت $\frac{1}{25}$ به آن اضافه شد. در حضور آنتی هیومن کنژوگه با پراکسیداز مرحله انکوباسیون انجام شد. در مرحله آخر رنگ دی آمینوبنزیدین (DAB) به عنوان اندیکاتور تشخیصی اضافه شده و تشکیل رسوب قهوه ای تیره بر روی کاغذ نیتروسلولز بیانگر مثبت بودن تست بود.

یافته ها: از ۱۱۰۰ نمونه خون بررسی شده تعداد ۱۸ نمونه (۱/۶۳٪) مثبت تشخیص داده شدند که این میزان آلودگی می‌تواند بیانگر وجود کیست هیداتید به صورت مخفی در جمعیت به ظاهر سالم تهران بزرگ باشد. با توجه به جمعیت میلیونی تهران بزرگ رقم آلودگی مشاهده شده از نظر آماری چشمگیر می باشد. از آنجائیکه دوره کمون بیماری طولانی مدت است و معمولاً کیست در دوران کهولت به مرحله درمان جراحی می رسد و انجام آن برای بیمار ممکن است غیر قابل تحمل باشد، پیشنهاد می شود تا از طریق غربالگری (Screening)، بیماری در مراحل اولیه تشخیص داده و درمان شود.

نتیجه گیری: پژوهش انجام شده بیانگر حضور کیست هیداتید در مراجعین به مراکز انتقال خون تهران به میزان ۱/۶۳٪ بود.

کلیدواژه ها: ۱- هیداتیدوز ۲- روش دات الیزا ۳- اکینوکوکوس گرانولوزوس

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۱۵ ، تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۲۶

مقدمه

هیداتیدوزیس در اثر آلودگی به مرحله لاروی کرم نواری سگ به نام اکینوکوکوس گرانولوزوس اتفاق می‌افتد. این لارو در بدن تشکیل کیستهای بدون انشعابی را میدهد که معمولاً فضاگیر بوده و پر از مایعی شفاف به نام مایع کیست هیداتید (Hydatid fluid) است. هیداتیدوزیس از قدیمی‌ترین بیماریهای شناخته شده

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه آقای شهاب الدین سروی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر لامع اخلاقی و دکتر هرمزد اورمزدی و مشاوره دکتر الهام رزمجو، دکتر مهدی شکرابی و دکتر محمد رضا سیاوشی، سال ۱۳۸۶.

I) دانشیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسؤول)

II) استاد و مدیر گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

III) دانشجوی Ph.D انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

IV) استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

V) دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

VI) دانشیار گروه انگل‌شناسی، انستیتو پاستور، تهران، ایران

VII) دانشجوی Ph.D انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

انسان است که دارای انتشار جهانی است.[۱]

آلودگی به این انگل در ایران نیز شایع و حائز اهمیت می باشد و در حال حاضر بعد از بیماریهای بدخیم و واگیردار در زمره بیماریهای پر مخاطره انگلی انسان بشمار می رود زیرا تشخیص و درمان بیماری مستلزم صرف وقت و هزینه های هنگفت است که گاهی بی نتیجه و مرگبار می‌باشد. لذا ضرورت بررسی های همه جانبه و مستمر این بیماری در کشور مطرح است.[۱و۲]

در زمینه اپیدمیولوژی کیست هیداتید در ایران در مطالعاتی که در مناطق مختلف کشور انجام شده میزان شیوع آلودگی با درصدهایی بین ۱۰-۳ بیان شده است که بیانگر حضور بیماری در کشور ما بصورت اندمیک می‌باشد.[۳-۸]

شهر تهران با توجه به موقعیت خاص اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی همواره مورد توجه محققان و پژوهشگران از نظر وقوع و شیوع بیماریها است. وجود تراکم بالای جمعیت، مهاجرت های متنوع و بی حد ومرز، ورود میوه و سبزی از شهرستانهای مجاور و همچنین انجام ذبح های غیربهداشتی در مناطق اطراف تهران امکان بروز کیست هیداتید را در این کلان شهر مطرح می سازد. با توجه به اینکه اطلاع دقیقی از میزان فراوانی این بیماری در تهران در دست نیست، بر آن شدیم جهت روشن شدن چگونگی وضعیت بیماری در این شهر بررسی سرواپیدمیولوژیکی در جامعه‌ای از افراد به ظاهر سالم اهداء کننده خون انجام دهیم. Dot–ELISA روشی ساده و مقرون به صرفه است که حساسیت و ویژگی بالای آن در مطالعات مختلف نشان داه شده است.[۹-۱۳]

هدف از این پژوهش تعیین فراوانی کیست هیداتید در مراجعین به مراکز انتقال خون تهران با استفاده از روش Dot-ELISA است.

روش بررسی

پژوهش حاضر به صورت توصیفی – مقطعی (Cross Sectional) بر روی ۱۱۰۰ نفر از افرادیکه در طول سال ۱۳۸۵ به سازمان انتقال خون تهران مراجعه کرده بودند و قبل از اهداء خون سلامت آنان توسط پزشک آن سازمان تایید شده بود انجام شد.

به هنگام نمونه برداری علاوه بر اخذ نمونه سرم، مشخصاتی از قبیل جنس، سن، محل سکونت و سطح تحصیلات افراد نیز درج می‌شد.

در این پژوهش از آنتی‌ژن B که از آنتی‌ژنهای اصلی و اختصاصی مایع کیست هیداتید بوده و به حرارت مقاوم است، استفاده شد.[۱] این آنتی‌ژن از کیستهای کبدی و ریوی گوسفندانی که بطور طبیعی با اکینوکوکوس گرانولوزوس آلوده شده بودند در شرایط سترون جداسازی شد.

جهت تهیه آنتی ژن B، ۱۰۰ml از مایع کیست هیداتید در مقابل بافر استات PH=۵ به مدت یک شبانه روز دیالیز شد. پس از آن مایع حاصل از دیالیز در اولتراسانتریفوژ با دور ۵۰۰۰g به مدت ۳۰min قرار داده شد. جهت محلول سازی رسوب حاصله از این مرحله به رسوب، بافر فسفات با PH=۸ اضافه و برای جدا کردن گلوبولین های میزبان از مایع، به آن ۲/۳۱ gr سولفات آمونیوم ٤٠% افزوده شد. سپس این محلول به مدت ۳۰ min با دور ۳۰۰۰g در سانتریفوژ و مایع حاصل از تخلیص نمک (salting out) به مدت ۱۵ min در حمام آب جوش قرار داده شد. با این کار تمامی آنتی‌ژنهای مایع کیست هیداتید از بین رفته و فقط جزء آنتی‌ژنی B که مقاوم به حرارت است باقی ماند. در نهایت مخلوط را به مدت ۱ ساعت در اولتراسانتریفوژ ۵۰۰۰g قرار داده و پس از این مدت مایع رویی که حاوی آنتی ژن B تخلیص شده است، جمع‌آوری شد.[۲]

پس از جداسازی آنتی‌ژن جهت تعیین غلظت پروتئین آنتی‌ژن جدا شده از روش برادفورد (Bradford) که یک روش سریع و حساس سنجش غلظت پروتئین موجود در نمونه بر اساس ایجاد واکنش رنگی است، استفاده شد. برای تعیین غلظت پروتئین یک نمونه، تعیین و رسم

منحنی استاندارد به کمک غلظت های معینی از یک پروتئین استاندارد ضروری است.[۲] پروتئین استاندارد مورد استفاده جهت این تست آلبومین سرم گاوی (BSA) بود که رقتهای مختلف از آن تهیه شد و پس از رسم منحنی استاندارد و تعیین جذب نوری (OD) نمونه در طول موج ۵۹۵ نانومتر، غلظت پروتئین ۱۸۸ µgr/dl بدست آمد.

پس از سنجش میزان پروتئین جهت ارزیابی پروتئینهای استخراج شده که آیا آنتی ژن B هستند یا خیر از روش SDS-PAGE استفاده شد. جهت انجام الکتروفورز بر اساس ویژگیهای نمونه مورد آزمایش برای تفکیک و حرکت باندهای پروتئین از ژل جدا کننده با غلظت ۱۲/۵٪ استفاده شد.[۲] پس از حرکت پروتئینها بر روی ژل و رنگ آمیزی ژلها باندهای پروتئینی با وزن مولکولی بین ۸-۶ kDa بر روی ژل مشاهده شد.

مرحله بعد انجام تست Dot-ELISA بود. جهت انجام این تست ابتدا کاغذهای نیتروسلولز بصورت دایره های کوچکی برش و در پلیت های الیزا قرار داده شد و 2.5 µl از آنتی‌ژن بر روی آن قرار داده و در مجاورت هوا خشک و با استفاده از BSA%5 در TBST (Tris Buffer Saline Tween20) سایتهای غیر اختصاصی موجود بلوکه شدند.[۹]

سپس از سرم افراد مورد پژوهش با رقت $\frac{۱}{۵۰۰}$ تا $\frac{۱}{۱۰۰۰}$ در TBST، BSA%0.1 به کاغذ اضافه و به مدت یک ساعت بر روی شیکر (Shaker) قرار داده شد. پس از این مرحله ۳ مرتبه با TBST شستشو داده و سپس آنتی هیومن آنتی‌بادی (AHG) کنژوگه با HRP (Horseradish Peroxidase) با رقت $\frac{۱}{۱۰۰۰}$ اضافه و به مدت یک ساعت انکوبه شدند.

در مراحل بعد شستشو با TBST و اضافه کردن رنگ دی آمینو بنزیدین (DAB) به عنوان اندیکاتور و قرار دادن کاغذ در محل تاریک به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. پس از ۱۰ دقیقه برای متوقف کردن واکنش از آب مقطر استفاده شد. واکنش مثبت بصورت رسوب لکه های قهوه‌ای پر رنگ بر روی کاغذ نمایان می‌گردد.[۹-۱۱]

یافته‌ها

جهت انجام تست Dot-ELISA لازم بود که در ابتدا برای نمونه های سرمی رقت مناسب جهت آزمایش (cut off) تعیین شود.

بدین منظور از نمونه سرمی ۵ فرد آلوده به کیست هیداتید که پس از عمل جراحی، آزمایشگاه پاتولوژی نوع کیست آنها را کیست هیداتید تعیین کرده بود، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و پس از استفاده از رقتهای مختلف رقت $\frac{۱}{۲۰۰}$ بعنوان cut off تعیین شد.

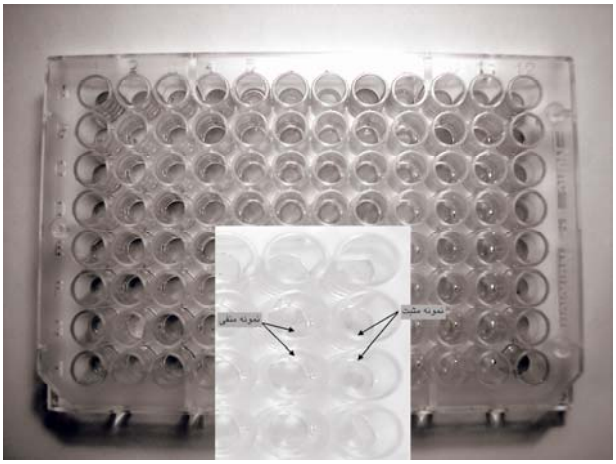
جهت کنترل منفی تست نیز در کنار نمونه های کنترل مثبت، در چند خانه از پلیت کشت سلولی، تمامی اجزاء تست بجز سرم انسانی ریخته و نتایج مورد بررسی قرارگرفت.

به منظور آماده‌سازی روش کار در مرحله اول از پلیت های کشت سلولی و قطعات بزرگتر کاغذ نیتروسلولز استفاده شد (شکل شماره ۱).

شکل شماره ۱- نتایج مراحل ابتدایی Set up کردن روش Dot-ELISA در پلیت های کشت سلولی

پس از آماده سازی این روش برای انجام تست بر

روی سرم خون افراد مراجعه کننده به سازمان انتقال خون از پلیت های الیزا که تعداد خانه بیشتر و به حجم کمتری از مواد نیاز داشتند، استفاده شد (شکل شماره ۲).



شکل شماره ۲- نتایج روش Dot-ELISA در پلیتهای ELISA بر روی سرم افراد مراجعه کننده به سازمان انتقال خون تهران

پس از انجام تست Dot-ELISA بر روی ۱۱۰۰ نمونه اخذ شده، در نتایج آزمایش نهایتاً ۱۸ مورد مثبت (۱/٦۳٪) مشاهده شد.

متغیرهای جنس، سن، سطح تحصیلات و محل سکونت مورد بررسی قرار گرفتند. از ۱۱۰۰ نمونه، تعداد ۱۰٦۲ نمونه (۹٦/٥٤٪) مرد و ۳۸ نمونه (۳/٤٦٪) زن بودند. با توجه به نسبت بالای تعداد نمونه های آقایان آنالیز آماری بر روی این فاکتور انجام نشد. سن در چهار گروه زیر ۲۹، ۳۹-۳۰، ٤۹-٤۰ و بالای ٥۰ سال طبقه‌بندی شد. با انجام آزمون آماری T-test ارتباط معنی‌داری بین سن و ابتلا به کیست هیداتید مشاهده نشد (P=۰/٤۷۳). آزمون آماری Chi-Square بین سطح تحصیلات (گروههای زیر دیپلم، دیپلم، فوق دیپلم، لیسانس و بالاتر از لیسانس) و فراوانی هیداتیدوز ارتباط معنی‌داری را نشان نداد (P=۰/٥۸٤). محل سکونت افراد در شش گروه خارج از تهران، جنوب، مرکز، غرب، شرق و شمال تهران طبقه‌بندی و آزمون آماری Chi-Square ارتباط معنی‌داری را بین محل سکونت و ابتلا به بیماری نشان نداد (P=۰/۳۰۷).

بحث

در این مطالعه متغیرهای جنس، سن، سطح تحصیلات و محل سکونت نیز مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به اینکه اکثر افراد مراجعه کننده به سازمان انتقال خون آقایان (۹٦/٥٤٪) بودند لذا فاکتور جنسیت بعنوان یک عامل مداخله‌گر از مطالعه حذف شد.

با انجام آزمونهای آماری Chi-Square و T-test در مورد سه فاکتور دیگر یعنی سن، سطح تحصیلات و محل سکونت با ابتلاء به کیست هیداتید، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

در مورد میزان فراوانی کیست هیداتید در تهران بزرگ با توجه به اینکه نمونه ها از مراجعین به سازمان انتقال خون تهیه شده بود و این افراد قبل از اهداء خون توسط پزشک معاینه و سلامتیشان تایید شده بود، وجود آلودگی به میزان ۱/٦۳٪ بیانگر وجود کیست هیداتید به صورت مخفی در جمعیت به ظاهر سالم تهران بزرگ می‌باشد. یوسفی درانی در سال ۱۳۷۸ در چهارمحال و بختیاری میزان شیوع آلودگی را ٤/۸٪ [۳]، صداقت گوهر در سال ۱۳۷۸ در شهرستان شهریار ٥/۹٪ [٤]، امیری در سال ۱۳۸۰ در استان کرمانشاه ۸٪ [٥]، ذاکر در سال ۱۳۸۱ در شهرستان ملایر ۳/۷٪ [٦] گزارش کرده اند. اخلاقی در سالهای ۸۳-۸۲ در شهرهای سنندج و دیواندره استان کردستان میزان شیوع آلودگی را بررسی کرده و ۳/۳٪ در سنندج و ۹/٥٪ در دیواندره گزارش نموده[۷] و بالاخره در مطالعه سرواپیدمیولوژیکی که توسط بهارصفت در سال ۱۳۸٦ در استان گلستان انجام گرفت، وی میزان شیوع هیداتیدوز را در این استان ۲/۳٦٪ اعلام نمود.[۸]

در مطالعات انجام شده توسط محققین فوق در مناطق مختلف کشور از روشهای IFA و IHA و آنتی‌ژن خام جهت تشخیص بیماری استفاده شده که این روشها از

حساسیت و ویژگی کمتری نسبت به Dot-ELISA برخوردار می‌باشند و همچنین استفاده از آنتی‌ژن خام باعث بروز واکنشهای متقاطع و ایجاد اختلال در تشخیص می‌گردد.[۱۱]

در پژوهش حاضر از آنتی‌ژن تخلیص شده B و روش Dot-ELISA استفاده شده که در مقام مقایسه تست Dot-ELISA نسبت به تستهای استاندارد مذکور دارای مزایایی از جمله پایداری آنتی‌ژن B تا مدتهای طولانی پس ازآماده سازی، امکان انجام تست با تعداد زیادی نمونه در یک زمان کوتاه (مشاهدات شخصی)، عدم نیاز به دستگاههای خاص جهت قرائت پاسخ تست و انجام کلیه مراحل کار در دمای آزمایشگاه است.[۹]

لازم به ذکر است از جمله مشکلات اجرایی موجود در این پژوهش، کم بودن تعداد موارد مثبت سرم تایید شده کیست هیداتید جهت تایید آنتی‌ژن تهیه شده و استفاده از این سرمها به عنوان کنترل مثبت در تست بود که با پیگیری های مستمر از بیمارستانهای مختلف تهران تعداد لازم نمونه برای انجام پژوهش اخذ شد.

با توجه به جمعیت میلیونی تهران بزرگ رقم آلودگی مشاهده شده در این مطالعه از نظر آماری چشمگیر است و با توجه به مشاهدات شخصی محقق در زمینه مبارزه مستمر شهرداری تهران با سگهای ولگرد امکان وجود منبع آلودگی در محدودهٔ تهران غیر محتمل به نظر می‌رسد و احتمالاً منشاء آلودگی افراد ساکن تهران سبزیجات آلوده به تخم انگل وارد شده از شهرهای مجاور همچون شهریار، شهرری و ورامین است زیرا در این شهرستانها علاوه بر آنکه کنترل سگهای ولگرد چندان جدی نیست در بسیاری از مزارع سگها نگهبانان اصلی آنها نیز می‌باشند. از این رو دقت در شستشو و ضد عفونی نمودن دقیق سبزیجات و میوه جات تازه قبل از مصرف بیش از پیش واجد اهمیت است.

از آنجا که دوره کمون بیماری طولانی است و معمولاً تظاهرات بالینی کیست در دوران کهولت ظاهر و برای درمان به مرحله جراحی می‌رسد و چون انجام این مراحل علاوه بر پرهزینه بودن، گاهی برای بیمار غیر قابل تحمل است، پیشنهاد می‌شود تا از طریق غربالگری(Screening) با روش Dot-ELISA ، آلودگی در مراحل اولیه تشخیص داده و به موقع درمان مناسب انجام شود.

نتیجه گیری

در مجموع این پژوهش نشان داد که کیست هیداتید در تهران و در جمعیت مراجعه کننده به سازمان انتقال خون این شهر به میزان ۱/۶۳٪ وجود دارد که این مسئله هشداری برای مراعات مسائل بهداشتی در شهر تهران می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این پروژه در قالب پایان‌نامه دانشجویی و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است. نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از کارکنان محترم سازمان انتقال خون تهران، گروههای انگل‌شناسی و ایمنی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران و انستیتو پاستور تهران که در مراحل انجام تستها زحمات زیادی را متحمل شدند، اعلام می‌دارند.

فهرست منابع

۱- سلامی شهاب، ارزیابی روش Dot–ELISA در تشخیص هیداتیدوز، پایان نامه جهت دریافت درجه دکتری علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران. ۷۷-۱۳۷۶؛ ۵-۱

۲- هانیلو علی، تهیه، تخلیص و ارزیابی آنتی‌ژنهای اختصاصی مایع هیداتید به منظور تشخیص ایمونولوژیک هیداتیدوز، پایان نامه جهت دریافت درجه دکتری انگل‌شناسی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران. ۱۳۸۰، ۱۰۰-۳۰

3- Yousefi darani H, Avijgan M, Karimi K, Manouchehri K, Masood J. Seroepidemiology of hydatid cyst in Chaharmahal va Bakhtiari province, Iran. Iranian J Publ Health; 2003. 32(2): 31-3

٤- صداقت گوهر حمید، بررسی اپیدمیولوژیک و سرواپیدمیولوژیک بیماری کیست هیداتید در انسان و دام در منطقه شهریار در سال ۱۳۷۸، پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران. ۱۳۷۸؛ ۱

٥- امیری زهره، بررسی سرواپیدمیولوژیک و اپیدمیولوژیک بیماری کیست هیداتید انسانی در جمعیت شهری استان کرمانشاه ۱۳۸۰، پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران. ۸۲-۱۳۸۱؛ ۱

٦- ذاکر سعید، بررسی سرواپیدمیولوژیک و اپیدمیولوژیک شیوع کیست هیداتید در انسان و دام در شهرستان ملایر ۱۳۸۱، پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران. ۱۳۸۲؛ ۱

7- 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(4): 73-5

8- Baharsefat M, Massoud J, Mobedi I, Farahnak A, Rokni MB. Seroepidemiology of human hydatidosis in Golestan province, Iran. Iranian J Parasitol; 2007. 2(2): 20-4

9- Rogan MT, Craig PS, Wang Y, Bradshaw H. Evaluation of a rapid Dot–ELISA as a field test for the diagnosis of cystic hydatid disease. Annal of Trop Med and Parasitol; 2002. 96(7): 691-94

10- Hadighi R, Mirhadi F, Rokni M. Evaluation of Dot–ELISA for the serodignosis of human hydatid disease. Pak J Med sci. 2003. 19(4): 268-71

11- Siavashi MR, Taherkhani H, Rezaei K, Razavi Deligani MR, Assmar M. Comparison of Dot–ELISA and sandwich ELISA diagnostic tests in detection of human hydatidosis. Iranian Biomed J; 2005. 9(2): 91-4

12- Wang Y, Rogan MT, Craig PS. Rapid Dot–ELISA for the detection of specific antigens in the cyst fluid from human cases of cystic echinococcosis. Annal of Trop Med and Parasitol; 2002. 96(7): 691- 94

13- Swarna S.R, Parija S.C. Dot-ELISA for evaluation of hydatid cyst wall, protoscoleces and hydatid cyst fluid antigens in the serodiagnosis of cystic echinococcosis. Rev Inst Med trop S Paulo; 2008. 50(4): 233-36

Using Dot-ELISA Method to Study the Prevalence of Human Hydatidosis in People Referred to Blood Transfusion Center in Tehran, 2005-2006

***L.Akhlaghi, PhD[I] H.Ourmazdi,PhD[II] Sh.Sarvi,MSc[III]**
E. Razmjoo,PhD[IV] M.Shokrabi,PhD[V] M.R.Siavoshi,PhD[VI]
M.Beiromvand,MSc[VII] M.Tavalla,MSc[VII]

Abstract

Background & Aim: Hydatidosis, which is seen in human and other hosts, is caused by the infective larval stage of Echinococcus granulosus. In most cases, diagnosis of hydatid cyst is not easy due to a long term incubation period and lack of specific clinical symptoms, and remains asymptomatic for years in some patients. The aim of this study was using the easy and sensitive serologic technique of Dot-ELISA to determine the prevalence of hydatid cyst in individuals referred to Blood Transfusion Center in Tehran between 2005 and 2006.

Patients and Method: This cross-sectional study was done on 1100 people who were referred to Blood Transfusion Center and the results were analyzed by running t-test and Chi-square test. B antigen is one of the principal specific and heat resistant compounds of hydatid cyst. To perform Dot-ELISA test,this antigen was purified from the sheep hydatid fluid. In addition, by using SDS-PAGE method, the 8-12 kDa molecular weight proteins of this antigen were determined. 1gµ of purified B antigen was dotted on the nitrocellulose disk and 1/250 diluted serum samples were added. Then, the incubation was performed against the HRP conjugated antihuman. In the final step, DAB stain was added as an indicator. Brown sediment indicated a positive result.

Results: From 1100 tested blood samples, 18 (1.63%) were hydatid positive, which can indicate the cryptic hydatid cyst infection in the ordinary people of Tehran. The observed rate of hydatid infected individuals is statistically significant, considering the studied population as a representative of Tehran's population. Owing to the long incubation period of the disease, the cyst is usually diagnosed in old patients at the stage when surgical treatment is necessary. The surgery complications might be unendurable in old age patients. Consequently, it is suggested that screening programs be run to detect and treat the patients at the primary stage of the infection.

Conclusion: This study shows 1.63% of people referred to Blood Transfusion Center in Tehran have positive serum for hydatid cyst.

Key Words: 1) Hydatidosis 2) Dot-ELISA 3) Echinococcus granulosus

---

This article is an abstract of Mr.Sarvi's thesis advised by Dr.Akhlaghi and Dr.Ourmazdi and read by Dr.Razmjoo, Dr.Shokrabi and Dr.Siavoshi in partial fulfillment of an MS degree in parasitology.

*I) Associate Professor of Parasitology.Faculty of Medicine.Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.(*Corresponding Author)*

II) Professor of Parasitology.Faculty of Medicine.Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran, Iran.

III) PhD Student of Parasitology.Faculty of Medicine.Tarbiyat Modarres University. Tehran, Iran.

IV) Assistant Professor of Parasitology.Faculty of Medicine.Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

V)Associate Professor of Immunology. Faculty of Medicine.Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

VI) Associate Professor of Parasitology. Pasteur Institute.Tehran, Iran.

VII) PhD Student of Parasitology.Faculty of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.