

## Determination of Contamination Ratio and Risk Factors Associated with Alveolar and Cystic Echinococcosis by ELISA and Portable Ultrasonography in Moghan Plain, Ardabil Province, Northwest of Iran

Mirzanejad-Asl H\*

Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

\*Corresponding author. Tel: +984533523429, Fax: +984533510057, E-mail: h.mr2006@gmail.com

received: May 20, 2017      accepted: Sep 21, 2017

### ABSTRACT

**Background & objectives :** Alveolar and cystic echinococcosis (CE and AE) are caused by the larval stages of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus*, respectively. This study was conducted to determine the spread of human AE and CE diseases among the tribes and livestock breeders and farmers in the Moghan plain. The prevalence of infection (CE and AE) significantly increases with a rise in age.

**Methods:** In this study, using ELISA and HCF-Ag (raw liquid antigen of hydatid cyst) was used for the first time to perform screening, and then the prevalence of cystic echinococcosis and alveolar echinococcosis was evaluated by specific anti-genes Ag-5 and EM2+, respectively. A total of 2003 serum samples were collected randomly from normal populations of five different areas of Moghan plain. In the first stage, serum screening was tested using an enzyme-linked immunosorbent assay and HCF-Ag. After that, the serology of all sera was evaluated by ELISA and specific antigens for alveolar and cystic *Echinococcus*.

**Results:** From 2003 samples, 24 serum samples were (1.19%) AE-positive. Infection was higher in men than women (2.1% vs. 0.6%). The age group of 5-19 years had the lowest infection rate and the age group 40- 59 years had the highest infection rate (2%). In the case of cystic echinococcosis, 164 serum samples were positive for Ag-5 specific antigen, i.e. 7.6% infection, and 156 serum samples were positive for Ag-B-specific antigen.

**Conclusion:** The findings showed that the highest infection rate was found in the Boran and Eivazlou (Palanglou) regions of Moghan plain and the lowest level of human infection was reported in Parsabad region (Nadar-kandi and Agh-ghabagh). In areas with higher contamination, the risk factor associated with CE and AE were the type of water used, the method of washing edible and wild vegetables, occupation and having or not having knowledge of hydatid disease. The infection of Moghan region dogs is one of the main indicators and potential risk factors for human infection.

**Keywords:** Alveolar *Echinococcus*; Zoonosis; Moghan Plain; HCF-Ag; Cystic *Echinococcosis*.

# تعیین میزان آلودگی و عوامل خطر مرتبط با آلوئولار و سیستیک اکینو کوکوزیس انسانی به روش الیزا و سونوگرافی پرتابل در جلگه مغان، استان اردبیل، شمال غرب ایران

حافظ میرزائزاد اصل \*

گروه انگل شناسی و میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، ایران  
\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵ ۳۳۵۲۳۴۲۹ فاکس: ۰۴۵ ۳۳۵۱۰۰۵۷ پست الکترونیک: h.mr2006@gmail.com

## چکیده

**زمینه و هدف:** آلوئولار و سیستیک اکینو کوکوزیس به ترتیب ناشی از مراحل لاروی کرم‌های نواری اکینو کوکوس مولتی لوکولاریس و اکینو کوکوس گرانولوزوس می باشد. این مطالعه برای تعیین میزان گسترش بیماری AE و CE انسانی در میان عشایر و دامداران و کشاورزان جلگه مغان صورت گرفته است. شیوع عفونت (AE و CE) به طور معنی داری با سن افزایش می یابد.

**روش کار:** در این مطالعه از روش ELISA و برای بار اول جهت غربالگری از HCF-Ag (آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک) استفاده شد و با آنتی ژن‌های اختصاصی AgB، آنتی ژن ۵ و Em<sup>+</sup> به ترتیب شیوع سیستیک اکینو کوکوزیس و آلوئولار اکینو کوکوزیس بررسی شد. ۲۰۰۳ نمونه سرم به طور تصادفی از جمعیت نرمال از شش منطقه مختلف جلگه مغان جمع آوری شد. در مرحله اول آزمایش برای غربالگری سرم‌ها با استفاده از پروتئین ایمنی مرتبط با آنزیم و HCF-Ag مورد آزمایش قرار گرفت. پس از آن، سرولوژی تمام سرم‌ها با استفاده از آزمون ELISA و آنتی ژن‌های اختصاصی برای آلوئولار و سیستیک اکینو کوکوزیس مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** از ۲۰۰۳ نمونه سرم ۲۴ مورد از سرم‌ها ۱/۱۹٪ AE مثبت شد. آلودگی در مردان بیشتر از زنان (۲/۱٪) در مقابل ۰/۶٪) بود. گروه سنی ۵-۱۹ ساله کمترین میزان آلودگی و ۵۹-۴۰ بالاترین میزان آلودگی را نشان دادند (۲٪). در مورد سیستیک اکینو کوکوزیس با آنتی ژن اختصاصی Ag-۵ تعداد ۱۶۴ نمونه سرمی، مثبت شدند یعنی میزان آلودگی ۷/۶٪ و با آنتی ژن اختصاصی Ag-B تعداد ۱۵۶ نمونه سرمی مثبت شدند.

**نتیجه گیری:** داده‌های موجود نشان می دهد که بیشترین میزان عفونت در منطقه بران و عیوضلو (پلنگلو) دشت مغان و پایین ترین میزان عفونت انسانی در منطقه پارس آباد (نادرکندی و آغ قباق) می باشد. در مناطق با آلودگی بیشتر، عامل خطر مرتبط با بیماری CE و AE نوع آب مصرفی و روش استفاده از سبزیجات خوراکی و وحشی و شغل و داشتن و یا نداشتن آگاهی در مورد بیماری‌های هیداتید می باشد. آلودگی سگ‌های جلگه مغان، یکی از اصلی ترین شاخص‌ها و عوامل خطرهای بالقوه برای آلودگی انسان می باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آلوئولار اکینو کوکوزیس، سیستیک اکینو کوکوزیس، آنتی ژن خام کیست هیداتیک، جلگه مغان

پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۳۰

دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۳۰

## مقدمه

زئونوز و جدی و مزمن در جهان است که باعث مشکلات عمده اقتصادی و سلامت در دنیا می‌شوند. عامل بیماری از خانواده کرم‌های نواری انسانی تنیده و به ترتیب جنس و گونه اکینو کوکوس مولتی لوکولاریس و اکینو کوکوس گرانولوزوس است

آلوئولار اکینو کوکوزیس (AE) و سیستیک اکینو کوکوزیس (CE)<sup>۱</sup> از مهمترین بیماری‌های کرمی

<sup>1</sup> Alveolar Echinococcosis and Cystic Echinococcosis

۲ تا ۲۰ درصد، نشان‌دهنده میانگین بالای آلودگی است [۱]. ساکنان روستایی ایرانی زیاد بوده و اکثراً کشاورز، دامدار و نیز چوپان گله‌های خود هستند. بنابراین AE و CE یک خطر برای سلامتی انسان محسوب شده و باعث زیان‌های جانی و اقتصادی زیادی می‌تواند باشد [۷،۸]. با این وجود، مطالعات غربالگری سرواپیدمیولوژیک و تعیین عوامل خطر مرتبط با بیماری AE و CE در کشورمان خیلی کم بوده است. با توجه به اهمیت بیماری‌های ژئونوز ناشی از کرم‌ها و کمبود اطلاعات در مورد شیوع آن در جوامع کشاورزی و دامداران و عشایر در منطقه مغان، مطالعه سرواپیدمیولوژیک و سونولوژیکی حاضر برای ارزیابی شیوع و تعیین عوامل خطر بیماری AE و CE انسانی در میان دامداران و کشاورزان و خصوصاً عشایر جلگه مغان در استان اردبیل انجام گرفت.

## روش کار

### جامعه آماری

مطالعه حاضر بررسی مقطعی<sup>۳</sup> و توصیفی-تحلیلی بوده و برای مطالعه پنج ناحیه بزرگ جلگه مغان از منطقه ۱: اصلاندوز (قره قباق، تربت کندی، حاجیلو و نورمحمدکندی و کورعباسلو و قشلاق‌های مرتبط)، منطقه ۲: پارس آباد (منطقه پارس آباد، نادرکندی و آق قباق علیا و سفلی)، منطقه ۳: بوران (علیا و سفلی و احمد قشلاقی و مناطق مشرف به قشلاق‌ها)، منطقه ۴: ایدر (صفی خانلو، کچی قشلاقی و گدایلو و اوچی و قشلاق‌های مرتبط) و منطقه ۵: عیوضلو (علیا و سفلی، قره تکانلو و قشلاق‌های مرتبط) و بیله سوار و جعفرآباد و مناطق عشایری مرتبط انتخاب شدند. جمعیت ۲۵۸۴۶۵ نفری این منطقه در ۶۳۰ کیلومتر مربع از سرزمین جلگه مغان ایران ساکن هستند. بر اساس اطلاعات حاصل از پرسشنامه‌ها بیش از ۸۰

و میزبان نهایی اصلی آنها به ترتیب روباه قرمز و سگ و سگ سانان بوده و پستانداران مختلف از جمله جوندگان و گوسفند و انسان به عنوان میزبان واسط ایفای نقش می‌کنند، البته انسان برای هر دو سستود<sup>۱</sup> بعنوان میزبان واسط تصادفی مطرح می‌باشد [۱]. این انگل‌ها جهانی بوده و رتبه دوم را از نظر اهمیت بیماری‌های مهم پزشکی در بین کرم‌ها دارند [۲،۳]. این بیماری در شرق و جنوب اروپا، سواحل مدیترانه، خاورمیانه، آمریکای لاتین و آفریقا و بیشتر در مناطق روستایی گزارش شده است [۳]. هر دو نوع کیست هیداتید در بافت‌های مختلف شامل کبد، ریه، صفاق گزارش شده‌اند و تقریباً می‌تواند در هر نقطه از بدن یافت شود. علائم بالینی اصلی در انسان شامل اختلالات کبدی، مشکلات ریه، آسپیت، درد شکمی، هپاتومگالی، اسپلنومگالی، اختلالات سیستم عصبی مرکزی است [۴]. AE و CE در سرتاسر منطقه مدیترانه ای از جمله تمام کشورهای خاورمیانه و خصوصاً در ایران حائز اهمیت می‌باشند [۳]. هر دو عامل ایجادکننده این بیماری‌ها در ایران گزارش شده است و بیماری هیداتیک حدود یک درصد از بخش جراحی بیمارستان‌ها را شامل می‌شود که این رقم، اخیراً به دلیل افزایش تعداد پناهندگان افغانی ساکن در ایران، افزایش یافته است [۵]. AE و CE در کشور ایران یک مشکل مهم تهدیدکننده سلامت عمومی به ویژه در جوامع روستایی و عشایری به شمار می‌رود. این بیماری‌های مهم کرمی انسانی از نقاط مختلف کشورمان گزارش شده است [۶،۷]. به طور معمول جوندگان و خصوصاً جنس میکروتوس سوشیالیس<sup>۲</sup> میزبان واسط اصلی برای کینوکوکوس مولتی لاکولاریس است و گوسفند، بز، شتر و گاو برای کینوکوکوس گرانولوزوس به عنوان میزبانان واسط اصلی در ایران ایفای نقش می‌کنند. گزارش‌های شیوع AE و CE در میزبانان واسط از نقاط مختلف کشور از

<sup>3</sup> Cross-Sectional

<sup>1</sup> Cestoda

<sup>2</sup> Microtus Socialis

با استفاده از آنتی‌ژن‌های اختصاصی آنتی‌ژن B، آنتی‌ژن ۵،  $Em^{2+}$  از مایع کیست هیداتید به ترتیب برای CE و AE آنالیز شدند [۹]. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-21 انجام شد. خطرات نسبی با p-value سنجیده شد و  $p \leq 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. هر دو آزمون مربع کای و فیشر برای ارزیابی  $p$  و تعیین روابط بین متغیرهای مستقل مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمون مربع کای برای تعیین خطی در داده‌های طبقه‌بندی شده مورد استفاده قرار گرفت. جهت محاسبه نقطه برش، ۵۰ نمونه سرم سالم از سازمان انتقال خون اردبیل اخذ شد. جهت تعیین نقطه برش در آزمایش الیزای خانگی میانگین دانسیته نوری ۵۰ سرم منفی محاسبه شد و سپس با سه برابر انحراف معیار آنها جمع گردید و بعنوان نقطه برش در نظر گرفته شد.

#### سونوگرافی

جهت تایید میزان آلودگی و عوامل خطر مرتبط با بیماری‌های AE و CE حتماً بایستی روش‌های استاندارد سولوژی در کنار سونوگرافی قرار گیرد. قبل از شروع این طرح و در حین مطالعه به طور کلی ۳۷ درصد، آزمون‌های ضد سرطانی داده بودند. برای کیست‌های هیداتید نوع CE، که در تصاویر اولتراسونوگرافی به ترتیب به عنوان انواع I (ساده)، IV (جامد) یا V (کلسیفیه یا به طور جزئی کلسیفیه شده) طبقه بندی شده بودند، به ترتیب ۸۷/۸، ۸۰/۸ و ۹۵/۵ درصد در آزمایش سرم مثبت شدند. قبل از خونگیری، افراد به یک اتاق منتقل و بصورت بالینی در صورت داشتن علائم تبییک درد راست شکم با سونوگرافی پرتابل بررسی شدند. از افرادی که تصویر اولتراسونوگرافی آنها نشانگر AE و CE یا هر کدام از تصاویر کیستیک بود، خواسته شد ۱۰ میلی لیتر خون وریدی لخته برای تست سولوژیک اهدا کنند. سرم‌ها جدا سازی و قبل از آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند. افرادی که

درصد خانوارها، حیوانات اهلی مختلف از جمله گوسفند، گاو و گاو میش و بز نگهداری می‌کنند و در تمام فصول، خانوارها اکثراً از آب چشمه و رودخانه (دره رود ارس و کانال‌های فرعی سد میل مغان) بعنوان منبع آب برای آبخووری حیوانات و هم برای آب شرب استفاده می‌کنند. با تجزیه و تحلیل پرسشنامه، ۶۴ درصد از جمعیت این منطقه سبزیجات وحشی از جمله شینک، کنگر و بابونه و میوه تمشک وحشی را بدون شستن مصرف نموده و تماس مستقیم با سگ‌ها داشتند (سگ اهلی داخل حیاط و سگ گله دارند). رضایت آگاهانه شرکت کنندگان در فرم کتبی مشخص شده و دلایل و رویه‌های مورد استفاده در تحقیقات برای تمامی افراد مورد مطالعه شرح داده شد. سرم‌های حاصله از خانوارها با روش‌های سولوژیکی آزمایش شدند. خانواده‌ها از یک روز خاص در طی دوره زمانی ۸ ماهه وارد مطالعه شده و نمونه‌گیری شدند. طبق پرسشنامه افراد مورد مطالعه با اسم، سن، جنس، شغل، داشتن و یا عدم داشتن سگ، میزان دانش (سواد)، نوع و روش مصرف سبزیجات اهلی و وحشی و نوع آبی که برای شرب استفاده می‌کردند (لوله کشی و یا آب چشمه و رودخانه) مشخص شدند.

#### روش سولوژی

از هر نفر ۱۰ میلی لیتر خون گرفته شد و به لوله‌های اپندورف ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و ثبت شدند. سپس در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد ذخیره و تمامی سرم‌ها جهت وجود و یا عدم وجود آنتی‌بادی‌ها بررسی شدند. در این بررسی از الیزای بومی و آنتی‌ژن‌های تجاری (Vircell Spain) استفاده شد. تست طلایی در حساسیت تشخیصی هیداتید در مطالعه حاضر، الیزای تجاری و کیت‌های تجاری با آنتی‌ژن ۵ بود. نمونه‌های سرمی افرادی که پاسخ اولتراسوند مثبت داشتند؛ جهت تعیین ایمونوگلوبولین‌های عمومی با استفاده از روش الیزا و با استفاده از آنتی‌ژن‌های خام مایع کیست هیداتید (HCF-Ag) و سپس آنتی بادی‌های اختصاصی

در نهایت با روش‌های بالینی و سرولوژی مثبت تشخیص داده شدند، توسط پزشک متخصص داخلی جهت درمان و جراحی به مراکز درمانی و جراحی معرفی شدند. افرادی که از لحاظ سرولوژیکی مثبت بودند اما نتایج اولتراسوند در آنها مثبت نبود، جهت بررسی سایر کیست‌های ریوی و کبدی مورد رادیوگرافی قفسه سینه قرار گرفتند و در ۴ مورد تصویر سی تی اسکن مثبت نشان داده شد. سپس در آخر نتایج آزمون الیزای هر فرد و جذب نوری‌های مربوطه وارد نرم افزار شد و نسبت شانس و ضریب اطمینان و مربع کای و فراوانی حساب شدند. جهت تعیین نسبت شانس از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده گردید که در این آزمون تأثیرگذاری عوامل مختلف (سن، جنس، نگهداری و یا عدم نگهداری سگ و...) بر روی نتایج سرولوژی تست الیزا (مثبت و منفی) سنجیده شد.

### یافته ها

#### جامعه آماری

۲۰۰۳ نفر از پنج منطقه مغان (جمعیت‌های شهری و روستایی و عشایری)، جهت AE و CE مورد آزمایش قرار گرفته و عوامل خطر مرتبط با این بیماری‌ها مشخص شدند. این حجم نمونه شامل ۹۲۴ مرد با میانگین سنی ۳۲ سال و ۱۰۷۹ زن با میانگین سنی ۳۶ سال بود. از این تعداد نمونه، ۱۶۴ نفر با روش سرولوژیک الیزا (۷/۶٪) CE مثبت تشخیص داده شدند (میانگین سن ۴۷ سال، محدوده سنی ۶-۸۱) و ۲۴ نفر از این افراد AE مثبت شدند (۱/۱۹٪) با میانگین سنی ۳۹، محدوده سنی آلودگی به AE، ۱۸ تا ۷۵ سال بود.

#### سرولوژی و سونوگرافی

بر اساس نتایج سونوگرافی پرتابل، ۱۴۲ و ۱۴ نفر به ترتیب دارای CE و AE بودند. همه کیست‌ها به استثناء دو مورد، در کبد قرار داشتند. دو مورد دیگر CE ریوی بوده که در رادیوگرافی تشخیص داده

شدند. از ۱۶۴ مورد تشخیص داده شده ۹۸ نفر مرد و ۶۶ نفر زن CE مثبت و ۱۶ نفر مرد و ۸ نفر زن برای AE مثبت شناخته شدند. ۵ مورد سابقه جراحی داشته که کیست هیداتیدشان حذف شده بود. ولی تست سرولوژی آنها مثبت شد و به همین دلیل در مطالعه جهت حذف اختلال در نتیجه و تفسیر آزمایش مورد توجه قرار گرفتند. ۱۶ نفر دیگر سابقه قدیمی آلودگی به کیست هیداتید AE و CE داشتند (میانگین سن در زمان مطالعه ۳۹ سال، سن متوسط ۴۵، محدوده ۷۹-۵ سال) اما سونوگرافی آنها هم منفی بود. بنابراین، با در نظر گرفتن هر دو موارد جدید و قبلی، در حال حاضر میزان آلودگی به CE و AE در منطقه مغان به ترتیب ۷/۶٪ و ۱/۱۹٪ درصد (۱۶۴ مورد برای CE و ۲۴ مورد برای AE از ۲۰۰۳ نمونه سرمی) می‌باشد. شیوع اختصاصی براساس متغیر سن در نمونه‌های شهری، به طور کلی با بالا رفتن سن، افزایش را نشان می‌دهد، شیوع AE و CE از ۰ درصد در گروه سنی ۵-۱ سال، به ترتیب به ۲ و ۱۳/۱ درصد در گروه سنی ۵۹-۴۰ ساله افزایش یافته است. (آزمون کای دو روند خطی =  $43/64$  و  $p=1/064$ ) (جدول ۲ و ۳). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل سرولوژی با آنتی‌ژن‌های اختصاصی در مناطق روستایی نشان داد که منطقه ۳ (بران و احمد قشلاقی و عشایر کوچ کننده) بیشترین عفونت برای AE و CE به ترتیب ۱/۷٪ و ۱۳/۲٪ درصد و منطقه ۲ (منطقه پارس آباد، نادرکندی و آق قباق علیا و سفلی) کمترین میزان آلودگی (۰/۲٪ و ۲/۳٪) را دارا می‌باشند. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های سنی، جنس و شغل وجود نداشت. اما بین افراد و خانواده‌هایی که سگ نگهداری می‌کردند و محل نگهداری سگ‌ها و مکان‌های نمونه‌گیری، تفاوت معنی‌دار (به ترتیب برای AE؛  $p=0/004$  و برای CE  $p=0/000$ ) وجود داشت. به ترتیب خانوارهایی که در داخل حیاط و اطرف گله‌های خود سگ نگهداری می‌کردند، میزان آلودگی به کیست هیداتید آنها (CE) از خانوارهایی که سگ

نداشته و کنار گله‌های خود سگ نگهداری نمی‌کردند بالاتر بود که اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p=0/003$ ). این میزان آلودگی در سه منطقه اصلاندوز و بوران و بیله سوار، به ترتیب ۱/۹، ۲/۶ و ۴/۵ درصد بود که اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p=0/000$ ). در این سه منطقه نوع مصرف سبزیجات وحشی، به صورت خام و بدون شستشو بود که میزان آلودگی به AE در بین افراد این مناطق بالا بود (۰/۴٪). در منطقه ۳ با توجه به نگهداری سگ‌ها در اطراف گله، بالاترین میزان آلودگی به عفونت را نشان دادند و اختلاف معنی‌داری داشتند (۱۱/۲٪ برای CE) ( $p=0/002$ ). در منطقه ۲ میزان آلودگی به CE بالا بود ولی اختلاف معنی‌داری نداشتند (۴/۸٪ آلودگی و  $p=0/103$ ). گروه سنی ۵۰ تا ۶۹ ساله بالاترین میزان سرولوژی مثبت را داشتند (۱۳/۱٪ و ۰/۴٪ برای CE و AE). در این مطالعه مردان بیشتر از زنان (۸/۲٪ مردان در مقابل ۳/۴٪ آلودگی زنان برای CE و ۰/۴٪ در مقابل ۰/۲۶٪ برای AE) آلوده بودند، اما اختلاف معنی‌دار نبود. ۴۳ بیمار تازه تشخیص داده شده از چهار ناحیه دشت مغان و شانزده نفر دیگر از مناطق عشایری به وسیله اولتراسوند به کیست‌های نوع I، IV و یا V طبقه بندی شدند. هرچند که مطالعه میزان آلودگی نشان می‌دهد که CE در این منطقه اندمیک است، ولی جهت تایید میزان آلودگی و عوامل خطر مرتبط با بیماری‌های AE و CE حتماً بایستی روش‌های استاندارد سرولوژی در کنار سونوگرافی قرار گیرد. قبل از شروع این طرح و در حین مطالعه به طور کلی ۳۷ درصد (۶۴ نفر از ۱۶۴ نمونه مثبت)، آزمون‌های ضد سرطانی داده بودند. برای کیست‌های هیداتید نوع CE، که در تصاویر اولتراسونوگرافی به ترتیب به عنوان انواع I (ساده)، IV (جامد) یا V (کلسیفیه یا به طور جزئی کلسیفیه شده) طبقه بندی شده بودند، به ترتیب ۸۷/۸، ۸۰/۸ و ۹۵/۵ درصد در آزمایش سرولوژی مثبت بودند. حساسیت روش سرولوژی الیزا با آنتی‌ژن‌های خالص

اختصاصی آنتی‌ژن B، آنتی‌ژن ۵،  $Em^+$  برای شناسایی ایمونوگلوبولین‌های بیماری هیداتیک بالا بود (به ترتیب آنتی‌ژن، حساسیت ۴۷/۱، ۷۱/۶ و ۶۷/۴ درصد). بنابراین حساسیت روش سرولوژیک برای CE، ۸۴/۴ درصد بود. به طور کلی، کیست‌های کبیدی نوع جامد (نوع IV) که به وسیله اولتراسوند تشخیص داده شده بودند، سخت‌ترین مشکل تشخیصی را برای طرح ایجاد می‌کردند. از ۳۱ مورد بیمار که کیست داشته و تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، ۱۷ نفرشان دارای کیست‌های تیپ IV بودند و همه آنها سرولوژی مثبت بودند، بنابراین مطالعه نشان داد برای درمان بیماران کاندید عمل جراحی، روش سرولوژی جهت تایید مورد نیاز و ضروری است (جدول ۱). در سطح خانوار، تک تک اعضای خانواده به روش سرولوژی مطالعه شدند که ۷۰ مورد در بین ۱۵۶ خانوار مثبت گزارش شدند. از این تعداد نمونه مثبت ۸ مورد AE و ۱۴۸ مورد CE بودند. از ۱۵۶ خانوار، ۸۵ خانواده سگ نداشتند، اما آنها سبزیجات وحشی را بدون شستشو و ضد عفونی مصرف می‌کردند. در این مطالعه میزان عفونت افرادی که سبزیجات وحشی یا خوراکی را با نمک یا مواد شوینده ضد عفونی می‌کردند، پایین بود (برای CE،  $p=0/003$  و برای AE،  $p=0/004$ ) که نشان می‌دهد عوامل خطر مرتبط با کیست‌های هیداتید در مصرف نوع سبزیجات و روش استفاده از این سبزیجات ارتباط تنگاتنگی دارد. خانواده‌هایی که سبزیجات خوراکی و وحشی را تنها با آب خالی می‌شستند بیشترین عفونت را نشان دادند. ( $p=0/023$  برای CE و  $p=0/002$  برای AE). در این مطالعه بر اساس پرسشنامه‌ها، افرادی که در مورد AE و CE دانش و اطلاعات بیشتری داشتند میزان عفونت کمتری نسبت به افرادی داشتند که هیچ اطلاعی در مورد این دو بیماری نداشتند ولی تفاوت معنی‌دار نبود ( $p=0/04$ ). بر اساس شغل، افرادی که حیوانات نگهداری می‌کردند و کشاورز بودند (دامدار و

کشاورز) نسبت به افرادی که مشاغل دیگری داشتند، میزان آلودگی به AE و CE بالایی داشتند ( $p=0/003$ ) برای CE و  $p=0/07$  برای AE). طبقه‌بندی شغل‌ها در پرسشنامه به صورت: ۱. بیکار و شاغلین آزاد، ۲. دانش‌آموزان، ۳. معلم، ۴. دامدار و کشاورز بود. میزان آلودگی به CE و AE براساس شغل‌ها: بیشترین میزان آلودگی به CE و AE ۱۱/۱ و ۰/۹ درصد مربوط به شغل دامداری و کشاورزی بود. کمترین میزان آلودگی با ۱/۳ درصد برای CE و ۰/۴ درصد برای AE مربوط به قشر معلمان بود. میزان آلودگی به CE و AE در گروه شغلی بیکار و شغل‌های آزاد به ترتیب ۶/۸ و ۰/۳ درصد بود. آلودگی به CE و AE

در گروه شغلی دانش‌آموزان به ترتیب ۴ و ۰/۲۶ درصد بود. اکتینوکوکوز کیستی و حبابچه ای (CE و AE) در افرادی که از آب چشمه استفاده می‌کردند بیشتر از افراد دیگر (۶/۶٪ و ۰/۳٪) بود ( $p=0/075$  و  $p=0/055$ ). این میزان آلودگی در بین افراد کوچ‌کننده (عشایر) گزارش شد که مصرف عمده آنها از آب چشمه‌ها و رودخانه‌ها بود. طبقه‌بندی نوع آب مصرفی: ۱. آب لوله‌کشی، ۲. آب چشمه، ۳. آب رودخانه، ۴. آب چاه. کمترین میزان آلودگی مربوط به افرادی بود که از آب لوله‌کشی و آب چاه استفاده می‌کردند.

جدول ۱. نتایج سرولوژی آلودگی به CE در جلگه مغان با HCF-Ag و آنتی‌ژن‌های اختصاصی ۵ و B براساس تیپ بندی کیست‌ها

| تیپ‌های کیست‌های طبقه بندی شده | نتایج | تعداد بیماران الیزا مثبت (CE) با آنتی‌ژن خام کیست هیداتید | درصد الیزا مثبت (CE) با آنتی‌ژن اختصاصی نوع ۵ | الیزا مثبت (CE) با آنتی‌ژن اختصاصی نوع B |
|--------------------------------|-------|---|---|--|
| تیپ یک (غیر قابل انعطاف)       | ۱۰۹   | ۹۱ (۸۳/۴)   | ۸۹ (۸۱/۶)                                     |  |
| تیپ ۲ (لایه غشایی)             | ۱۷    | ۱۱ (۶۴/۷)   | ۹ (۵۲/۹)                                      |  |
| تیپ ۳ (کیست‌های دختر)          | ۱۹    | ۱۲ (۶۳/۱)   | ۱۱ (۵۷/۸)                                     |  |
| تیپ ۴ (جامد)                   | ۲۹    | ۲۱ (۷۲/۴)   | ۱۹ (۶۵/۵)                                     |  |
| تیپ ۵ (کلسیفیه شده)            | ۲۱    | ۱۶ (۷۶/۱)   | ۱۵ (۷۱/۴)                                     |  |
| تیپ ۶ (کیست‌های متعدد)         | ۱۷    | ۱۳ (۷۶/۳)   | ۱۳ (۷۶/۳)                                     |  |
| مجموع                          | ۲۱۲   | ۱۶۴   | ۱۵۶   |  |

HCF-Ag = آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتید اکتینوکوکوس گرانولوزوس

جدول ۲. تعداد و درصد آلودگی به CE براساس سن، به روش الیزا و اولترا سوند در منطقه مغان

| گروه‌های سنی       | نتایج | تعداد نمونه‌های آزمایش شده با الیزا | میزان الیزا مثبت با آنتی‌ژن خام کیست هیداتید |      | میزان الیزا مثبت با آنتی‌ژن ۵ |      | تعداد افراد سونوگرافی شده | تعداد افراد سونوگرافی مثبت و درصد |      |
|--------------------|-------|-------------------------------------|--|------|-------------------------------|------|---------------------------|-----------------------------------|------|
|                    |       |                                     | تعداد  | درصد | تعداد                         | درصد |                           | تعداد مثبت                        | درصد |
| ۵ - ۱۹             | ۳۹۹   | ۲۰                                  | ۵  | ۹    | ۳۱۲                           | ۱۱   | ۳/۵                       |                                   |      |
| ۲۰ - ۳۹            | ۴۵۶   | ۴۶                                  | ۱۰/۸   | ۳۹   | ۴۴۱                           | ۳۶   | ۸/۱                       |                                   |      |
| ۴۰ - ۵۹            | ۴۵۰   | ۶۹                                  | ۱۵/۳   | ۵۹   | ۴۳۹                           | ۴۸   | ۱۰/۹                      |                                   |      |
| ۶۰ - ۷۹            | ۳۹۳   | ۳۵                                  | ۸/۹  | ۳۰   | ۳۹۱                           | ۲۸   | ۷/۱                       |                                   |      |
| ≥۸۰                | ۳۷۸   | ۴۲                                  | ۱۱   | ۲۷   | ۳۷۲                           | ۱۹   | ۵/۱                       |                                   |      |
| تعداد نمونه کم شده | ۴     | -                                   | -  | -    | ۱۲۵                           | -    | -                         |                                   |      |
| مجموع              | ۲۰۰۳  | ۲۱۲                                 | ۱۰/۵   | ۱۶۴  | ۱۹۵۵                          | ۱۴۲  | ۷/۲                       |                                   |      |

جدول ۳. نتایج سونوگرافی و سرولوژی آلودگی به AE با آنتی ژن HCF-Ag و آنتی ژن اختصاصی Em2<sup>+</sup> براساس سن افراد

| نتایج              | تعداد نمونه‌های آزمایش شده با الیزا |      | تعداد افراد سونوگرافی مثبت و درصد |      |
|--------------------|-------------------------------------|------|-----------------------------------|------|
|                    | تعداد                               | درصد | تعداد مثبت                        | درصد |
| ۱۹ - ۵             | ۱                                   | ۰.۲۵ | ۱                                 | ۰.۲۵ |
| ۳۹ - ۲۰            | ۳                                   | ۰.۶۵ | ۳                                 | ۰.۵  |
| ۵۹ - ۴۰            | ۹                                   | ۲    | ۷                                 | ۱/۵  |
| ۷۹ - ۶۰            | ۵                                   | ۱/۲  | ۲                                 | ۰/۶  |
| ≥۸۰                | ۶                                   | ۱/۵  | ۲                                 | ۰/۵  |
| تعداد نمونه گم شده | -                                   | -    | -                                 | -    |
| مجموع              | ۲۴                                  | ۱/۱۹ | ۱۴                                | ۰/۶۲ |

### بحث

مطالعه حاضر به منظور تعیین و گزارش بیماری‌های اکتینوکوکوزیس با روش‌های سرولوژیکی و سونولوژیکی و همچنین تعیین میزان آلودگی و عوامل خطر مرتبط با بیماری CE و AE انجام شد. آلودگی با CE و AE نشان دهنده تهدید جدی بهداشت عمومی در منطقه مغان می‌باشد. داده‌های موجود نشان می‌دهد که بیشترین میزان عفونت در منطقه بران و عیوضلو (پلنگلو) دشت مغان و پایین‌ترین میزان عفونت انسانی در منطقه پارس آباد (نادرکندی و آغ‌قیابق) می‌باشد. در مناطق با آلودگی بیشتر، عامل خطر مرتبط با بیماری CE و AE نوع آب مصرفی و روش استفاده از سبزیجات خوراکی و وحشی و شغل و داشتن و یا نداشتن آگاهی در مورد بیماری‌های هیداتید می‌باشد. در سطح خانوارها تک تک اعضای خانواده به روش سرولوژی مطالعه شدند که ۷۰ مورد در بین ۱۵۶ خانوار مثبت گزارش شدند از این تعداد نمونه مثبت ۸ مورد AE و ۱۴۸ مورد CE بود. از ۱۵۶ خانوار، ۸۵ خانواده سگ نداشتند، اما سبزیجات وحشی را بدون شستشو و ضدعفونی مصرف می‌کردند و در طول سال سبزیجات وحشی را هم بدون ضدعفونی کردن مصرف می‌کردند. در این مطالعه در بین افرادی که سبزیجات وحشی یا خوراکی را با نمک یا مواد شوینده ضدعفونی می‌کردند، میزان عفونت پایین بود (برای CE،  $p=0/003$  و برای AE،  $p=0/004$ ) که نشان می‌دهد عوامل خطر مرتبط با

کیست‌های هیداتید با مصرف نوع سبزیجات و روش استفاده از این سبزیجات ارتباط تنگاتنگی دارد. خانواده‌هایی که سبزیجات خوراکی و وحشی را تنها با آب خالی می‌شستند بیشترین عفونت را نشان دادند ( $p=0/002$  برای CE و  $p=0/002$  برای AE). در این مطالعه براساس پرسشنامه‌ها، افرادی که در مورد AE و CE دانش و اطلاعات بیشتری داشتند میزان عفونت کمتری را نسبت به افرادی نشان می‌دادند که هیچ اطلاعی در مورد این دو بیماری نداشتند ولی اختلاف معنی‌دار نبود (به ترتیب برای CE و AE،  $p=0/04$  و  $p=0/06$ ). بر اساس شغل، افرادی که حیوانات اهلی نگهداری می‌کردند و کشاورز بودند (دامدار و کشاورز) نسبت به افرادی که مشاغل دیگری داشتند، میزان آلودگی به AE و CE بالایی داشتند ( $p=0/003$  برای CE و  $p=0/07$  برای AE). نتایج حاصل از میزان آلودگی بر اساس شغل‌ها بدین صورت بود که: بیشترین آلودگی به CE و AE با ۱۱/۱ و ۰/۹ درصد مربوط به شغل دامداری و کشاورزی بوده و کمترین آلودگی مربوط به شغل معلمی با ۱/۳ درصد برای CE و ۰/۰۴ درصد برای AE بود. میزان آلودگی به CE در گروه شغلی بیکار و شغل‌های آزاد ۶/۸ درصد و به AE ۰/۳ درصد و در گروه دانش‌آموزان آلودگی به CE و AE به ترتیب ۴ و ۰/۲۶ درصد بود. اکتینوکوکوز کیستی و حبابچه ای (CE و AE) در افرادی که از آب چشمه استفاده می‌کردند بیشتر از افراد دیگر (۶/۶٪ و ۰/۳٪) بود



( $p=0/075$  و  $p=0/055$ ). این شرایط و میزان آلودگی در بین افراد کوچ کننده (عشایر) گزارش شد که عمده مصرف آنها از آب چشمه‌ها و رودخانه‌ها بود. تعداد مشخصی از موارد بیماری هستند که در بیمارستان‌ها مخفی مانده و تشخیص داده نمی‌شوند، زیرا اینگونه عفونت‌ها بدون علامت بوده یا در موردشان مداخله جراحی نمی‌کنند. سگ‌های آلوده منبع مستقیم یا غیرمستقیم عفونت CE برای انسان است و از این رو شیوع عفونت و آلودگی سگ‌های جلگه مغان، یکی از اصلی‌ترین شاخص‌ها و عوامل خطرهای بالقوه برای آلودگی انسان می‌باشد، که در مناطق مشابه اقلیم جغرافیایی مغان هم می‌تواند به همین صورت باشد. شیوع و توزیع اکینوکوکوس گرانولوزوس در سگ‌های گله‌ها در استان‌های مختلف ایران مورد بررسی قرار گرفته، ولی مطالعه دقیق و کامل از میزان آلودگی میزبانان واسط اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس صورت نگرفته است. در بعضی از استان‌ها، کرم‌های بالغ اکینوکوکوس گرانولوزوس در ۲۷/۱۷ درصد سگ‌ها یافت شده اند [۱۰]. بیشترین شیوع در سگ‌های مناطق روستایی استان اصفهان (بخش مرکزی ایران) و کمترین آن در سگ‌های مناطق روستایی استان سیستان و بلوچستان (جنوب شرقی ایران) بود [۱۱]. همچنین در استان فارس، صد و پنج سگ نر و ماده در گروه‌های سنی مختلف، به طور کامل مطالعه و روده کوچک آنها برای اکینوکوکوس گرانولوزوس مورد بررسی قرار گرفت، سی و هشت سگ (۳۶/۱۹٪) دارای دو تا چند هزار اکینوکوکوس گرانولوزوس در محتویات روده بودند [۱۲]. از سوی دیگر، عفونت در سایر مناطق ایران دیده می‌شود، اما در استان اردبیل خصوصاً منطقه مغان، بیماری CE به طور خاص اندمیک بوده ولی AE به صورت اسپورادیک می‌باشد [۱۳]. در حال حاضر میزان آلودگی به CE و AE در منطقه مغان به ترتیب ۷/۶ و ۱/۱۹ درصد (۱۶۴ مورد برای CE و ۲۴ مورد برای AE از ۲۰۰۳ نمونه سرمی) می‌باشد.

شیوع اختصاصی براساس متغیر سن در نمونه‌های شهری، به طور کلی با بالا رفتن سن، افزایش را نشان می‌دهد، شیوع AE و CE از ۰ درصد در گروه سنی ۵-۱ سال، به ترتیب به ۸/ و ۹/۲ درصد در گروه سنی ۵-۶۹ ساله افزایش یافته است (آزمون  $\chi^2$  روند خطی = ۴۳.۶۴،  $p=1/024$ ). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل سرولوژی با آنتی‌ژن‌های اختصاصی در مناطق روستایی نشان داد که منطقه ۳ (مرتبط با بوران و عشایر کوچ کننده) بیشترین عفونت برای AE و CE به ترتیب (۱ و ۱۱/۲٪) و منطقه ۲ (منطقه پارس آباد، نادرکندی و آق قباق علیا و سفلی) کمترین میزان آلودگی (۲/۳ و ۰/۲٪) نشان دادند. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های سنی، جنس و شغل وجود نداشت. شیوع سرولوژیکی بیماری‌های AE و CE در جلگه مغان استان اردبیل به ترتیب، ۱۶/۰ و ۹/۱ درصد (در بخش اصلاندوز و و تربت کندی و کورعباسلو و حومه)، ۱ و ۱۱/۲ درصد (در مناطق بران و عیوضلو و عشایر این مناطق)، ۲/۳ و ۰/۲ درصد (در شهرستان پارس آباد- نادرکندی، آغ قباق علیا و سفلی و مناطق ما بین بابک و قره قباق سفلی) و در منطقه بيله سوار و جعفرآباد و مناطق قشلاق احمد ۳۱/۰ و ۶/۲ درصد. در این مطالعه، مردان بیشتر از زنان آلوده بودند. در مطالعه دیگری در ایران و در سایر مناطق، خاورمیانه و شمال آفریقا زنان بیشتر از مردان آلوده بودند که این ممکن است منعکس کننده این باشد که زنان بیشتر به دنبال درمان هستند [۳، ۱۴]. در مطالعه حاضر که در عرصه صورت گرفت نمونه‌ها به طور تصادفی از تمامی ۵ منطقه ذکر شده انتخاب و خونگیری شد. گروه سنی ۱۹-۵ ساله کمترین میزان آلودگی و ۳۹-۲۰ و ۵۹-۴۰ بالاترین میزان آلودگی را برای AE و CE نشان دادند. باستانی و همکاران در سال ۱۹۹۵ طی مطالعه ای در ایران نشان دادند که ۶۰ درصد از بیماران اکینوکوکوزیس در گروه‌های سنی دهه سوم و چهارم زندگی خود هستند.

بیماری بومی است، هرگونه توده یا تومور رو به رشد باید سوءظن بیماری هیداتید را ایجاد کند [۱۷]. یافته‌های این مطالعه در تشخیص، شیوع و تعیین عوامل خطر هر دو بیماری هیداتید سیستیک و آلتولار و موارد مداخله بیمارستانی، بسیار سودمند بوده و نشان می‌دهد که کیست هیداتید جزو بیماری‌های انگلی مهم تهدیدکننده سلامت عمومی و ایجادکننده مشکلات اقتصادی در ایران به ویژه در منطقه مغان استان اردبیل می‌باشد. همچنین نشان می‌دهد که روش‌های سرولوژی جهت تأیید بیماری پیش از جراحی ضروری می‌باشد. عوامل خطر بیماری در منطقه برای ایجاد و استقرار و شیوع عفونت وجود دارد. بیماری و عفونت در سگ‌های ولگرد و سایر گوشتخواران (فراوانی روباه قرمز و شغال و گرگ در منطقه مغان)، کشتارگاه‌های غیربهداشتی و غیراستاندارد، کشتار مکرر حیوانات در اماکنی غیر از کشتارگاه‌ها و در دسترس بودن آسان لاشه‌های این کشتارها برای سگ‌های ولگرد و حتی سگ‌های اهلی خصوصاً در روستاها و مهاجرت‌های قانونی و غیرقانونی از همسایگان شمالی کشور، دلایل اصلی شیوع بالای اکینو کوکوزیس در ایران است. محدودیت‌های این پژوهش شامل کوچ عشایر و در دسترس نبودن آنها، برخی باورهای غلط در بین افراد جامعه و نیز ممانعت سگ‌های عشایر در ورود به منطقه و نمونه‌گیری بود.

در مطالعه تورگرسون<sup>۱</sup> و همکاران، تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که احتمال ابتلا به بیماری CE با سن کاهش می‌یابد [۳]. در مطالعه حاضر ۷۵/۸ درصد کیست‌ها کبدی، ۱۷/۷ درصد ریوی، در حالی که طحال ۲/۳ درصد، شکم ۰/۷ درصد و سایر اعضای بدن ۲/۹ درصد بود. بنابراین، بیش از ۹۰ درصد از کیست‌های هیداتید در کبد و ریه‌ها تشکیل می‌شوند و بقیه کیست‌های می‌توانند در طحال، غدد تیروئید، شکم، مغز و سایر اعضا یافت شوند [۲]. کیست‌های طحال در حدود ۲/۵ درصد اتفاق می‌افتد و در دو مطالعه دیگر دو مورد بیماری هیداتید طحال در شهر ایزه از شهرهای استان خوزستان گزارش شده است [۱۵]. ممیشی و همکاران نشان دادند که ۷۷ درصد کیست‌ها در کبد و ۴۸ درصد در ریه‌ها مستقر هستند و ۱۰ درصد بیماران هم درگیری چندگانه داشتند، که به طور همزمان کبد و ریه و سایر اعضای بدن درگیر بودند [۱۴]. در عین حال، کیست‌های هیداتید ممکن است در مکان‌های غیر معمول هم یافت شود. برای مثال، در یک بیمار ایرانی، کیست هیداتید در تخمدان یافت شده است [۱۶]. تشابه قابل توجه بالینی بین بیماری هیداتید (AE و CE) و سایر بیماری‌های بدخیم در برخی از ارگان‌ها، تشخیص و تمایز صحیح را ضروری می‌کند. در کشورهایی مثل کشور ما که این

<sup>1</sup> Torgerson

## References

- 1- Geramizadeh B, Baghernezhad M. Hepatic alveolar hydatid cyst: a brief review of published cases from Iran in the last 20 years. *Hepat Mon.* 2016 Oct; 16(10): e38920.
- 2- Sadjjadi SM. Present situation of echinococcosis in the Middle East and Arabic North Africa. *Parasitol Int.* 2006 Dec;55 Suppl:S197-202.
- 3- Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis—an international public health challenge. *Res Vet Sci.* 2003 Jun; 74(3): 191-202.
- 4- Atanasov G, Benckert C, Thelen A, Tappe D, Frosch M, Teichmann D, et al. Alveolar echinococcosis-spreading disease challenging clinicians: a case report and literature review. *World J Gastroenterol.* 2013 Jul; 19(26): 4257-4261.
- 5- Hadighi R, Mirhadi F, Rokni MB. Evaluation of a dot-ELISA for the serodiagnosis of human hydatid diseases. *PJMS.* 2003 Jan; 19(4): 268-271.

- 6- Mirzanejad-Asl H, Ghoreishi M, Ghahramani A, Mehmandar W. Serological and sonographical survey of hydatid disease in Moghan Plain of Iran. *Res J Med Sci*. 2010 Apr; 4(2): 75-80.
- 7- Rokni MB. Echinococcosis/hydatidosis in Iran. *Iranian J Parasitol*. 2009 May; 4(2): 1-16.
- 8- Rafiei A, Craig PS. The immunodiagnostic potential of protoscolex antigens in human cystic echinococcosis and the possible influence of parasite strain. *Ann Trop Med Parasitol*. 2002 Jun; 96(4): 383-389.
- 9- Bonifacino R, Carter SD, Craig PS, Almeida I, Da Rosa D. Assessment of the immunological surveillance value of humoral and lymphocyte assays in severe human cystic echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000 Jan ;94(1):97-102.
- 10- Ranjbar-Bahadori SH, Lotfollazadeh S, Vaezi G, Eslami A. Epidemiological study of human cystic echinococcosis in Iran. *Res J Parasitol*. 2008 May; 3(4): 130-6.
- 11- Eslami A, Hosseini SH. Echinococcus granulosus infection of farm dogs of Iran. *Parasitol Res*. 1998 Jan;84(3):205-7.
- 12- Mehrabani D, Oryan A, Sadjjadi SM. Prevalence of Echinococcus granulosus infection in stray dogs and herbivores in Shiraz, Iran. *Vet Parasitol*. 1999 Oct ;86(3):217-20.
- 13- Mirzanejad-Asl H. Sero-epidemiological survey of human cystic echinococcosis with ELISA method in Moghan plain, Ardabil province. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2009 Dec; 9(4): 334-346.[Full text in Persian]
- 14- Mamishi S, Sagheb S, Pourakbari B. Hydatid disease in Iranian children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2007 Oct;40(5):428-31.
- 15- Azordegan N, Yazdankhah A, Pouraliakbar H. Hydatid disease of the spleen (report of 2 cases). *Travel Med Inf Dis*. 2007 Jan;5(1):60-1.
- 16- Maharlooei MK, Attar A, Goran A, Amuee S, Dehghan A, Monabati A. Hydatid cyst of ovary: a case report. *IJMS*. 2015 May ;34(1):76-9.
- 17- Emamy H, Asadian A. Unusual presentation of hydatid disease. *Am J Surg*. 1976 Sep ;132(3):403-5.