

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 5-19years 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 آلتوئلار و سیستیک اکینوکوزیس انسانی به روشن الیزا و سونوگرافی پرتابل در جلگه مغان، استان اردبیل، شمال غرب ایران

حافظ میرزا نژاد اصل*

گروه انگل شناسی و میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۷ ۳۵۱۰۰۴۵ - فاکس: ۰۳۵۲۳۴۲۹ - پست الکترونیک: h.mr2006@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: آلتوئلار و سیستیک اکینوکوزیس به ترتیب ناشی از مراحل لاروی کرم‌های نواری اکینوکوس مولتی لوکولاریس و اکینوکوس گرانولوزوس می‌باشد. 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 (CE و AE) به طور معنی داری با سن افزایش می‌یابد.

روش کار: در این مطالعه از روش ELISA و برای بار اول جهت غربالگری از HCF-Ag (آنتی ژن خام کیست هیداتیک) استفاده شد و با آنتی ژن‌های اختصاصی AgB، آنتی ژن ۵ و Em²⁺ به ترتیب شیوع سیستیک اکینوکوزیس و آلتوئلار اکینوکوزیس بررسی شد. ۲۰۰ 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 Ag HCF-Ag مورد آزمایش قرار گرفت. پس از آن، سروولوژی تمام سرم‌ها با استفاده از آزمون ELISA و آنتی ژن‌های اختصاصی برای آلتوئلار و سیستیک اکینوکوزیس مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: از ۲۰۰ نمونه سرم ۲۴ مورد از سرم‌ها ۱۹/۱٪ AE مثبت شد. آلودگی در مردان بیشتر از زنان (۱۱/۲٪ در مقابل ۶/۰٪) بود. گروه سنی ۱۹-۵ ساله کمترین میزان آلودگی و ۵-۰٪ بالاترین میزان آلودگی را نشان دادند (۲/٪). در مورد سیستیک اکینوکوزیس با آنتی ژن اختصاصی ۵-Ag-B تعداد ۱۶۴ نمونه سرمی، مثبت شدند یعنی میزان آلودگی ۶/۷٪ و با آنتی ژن اختصاصی Ag-B تعداد ۱۵۶ نمونه سرمی مثبت شدند.

نتیجه گیری: داده‌های موجود نشان می‌دهد که بیشترین میزان عفونت در منطقه بران و عیوضلو (پلنگلو) دشت مغان و پایین ترین میزان عفونت انسانی در منطقه پارس آباد (نادرکنده و آغ قباق) 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. آلودگی سگ‌های جلگه مغان، یکی از اصلی ترین شاخص‌ها و عوامل خطرهای بالقوه برای آلودگی انسان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آلتوئلار اکینوکوزیس، سیستیک اکینوکوزیس، آنتی ژن خام کیست هیداتیک، جلگه مغان

دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۳۰ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۳۰

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 تبیده و به ترتیب جنس و گونه/اکینوکوزیس مولتی لوکولاریس و اکینوکوس گرانولوزوس است

مقدمه

آلتوئلار اکینوکوزیس (AE) و سیستیک اکینوکوزیس (CE)^۱ از مهمترین بیماری‌های کرمی

^۱ Alveolar Echinococcosis and Cystic Echinococcosis

۲۰ درصد، نشان‌دهنده میانگین بالای آلودگی است [۱]. ساکنان روستایی ایرانی زیاد بوده و اکثراً کشاورز، دامدار و نیز چوپان گلهای 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 سروایپدمیولوژیک و تعیین عوامل خطر مرتبط با بیماری AE و CE در کشورمان خیلی کم بوده است. با توجه به اهمیت بیماری‌های زئونوز ناشی از کرم‌ها و کمبود اطلاعات در مورد شیوع آن در جوامع کشاورزی و دامداران و عشایر در منطقه مغان، مطالعه سروایپدمیولوژیکی 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 جامعه‌آماری

مطالعه حاضر بررسی مقطعی^۳ 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 اوجی) 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^۱ به عنوان میزبان واسط تصادفی مطرح می‌باشد [۱]. این انگل‌ها جانی 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 هیداتیید 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، آسیت، درد شکمی، هپاتومگالی، اسپلنومگالی، اختلالات سیستم عصبی مرکزی است [۴]. AE و CE در سرتاسر منطقه مدیترانه‌ای 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 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^۲ میزبان واسط اصلی برای اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس است و گوسفند، بز، شتر و گاو برای اکینوکوکوس گرانولوزوس به عنوان میزبانان واسط اصلی در ایران ایفای نقش می‌کنند. گزارش‌های شیوع و AE در میزبانان واسط از نقاط مختلف کشور از

³ Cross-Sectional

¹ Cestoda

² Microtus Socialis

با استفاده از آنتیژن‌های اختصاصی آنتیژن B، آنتیژن ۵، ۵⁺ Em 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 CE و AE و AE حتماً بایستی روش‌های استاندارد سرولوژی 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 (садه)، IV (جامد) یا V (کلسیفیکه یا به طور جزئی کلسیفیکه شده) طبقه‌بندی شده بودند، به ترتیب ۸/۸، ۸۷/۸ و ۹۵/۵ درصد در آزمایش سرم مثبت شدند. قبل از خونگیری، افراد به یک اتاق منتقل و بصورت بالینی در صورت داشتن علائم تبیک 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 گرفته شد و به لوله‌های اپندوروف 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 آنتی‌بادی‌های اختصاصی

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 آبخیزهای 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 سرولوژیکی آزمایش شدند. خانواردها 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 (سودا)، 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 سرولوژی

از هر نفر ۱۰ میلی لیتر خون گرفته شد و به لوله‌های اپندوروف 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 آنتی‌بادی‌های اختصاصی

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 ۵-۷۹ سال) اما سونوگرافی آنها هم منفی بود. بنابراین، با در نظر گرفتن هر دو موارد جدید و قبلی، در حال حاضر میزان آلودگی به AE و CE 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 درصد در گروه سنی ۱-۵ سال، به ترتیب به ۲ و ۱۳/۱ درصد در گروه سنی ۵-۹ و ۰-۴ ساله افزایش یافته است. (آزمون کایدو روند خطی = ۴۳/۶۴ و $p=1/0.64$) (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 عشاير کوج کننده) بیشترین عفونت برای AE و CE مثبت به ترتیب ۱/۷ و ۱۳/۲ درصد و منطقه ۲ (منطقه پارس آباد، نادرکندي و آق قباق عليا و سفلی) کمترین میزان آلودگی (۰٪ و ۰/۲٪) را دارا می‌باشد. 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: ۴ و برای CE: $p=0.000$) وجود داشت.

به ترتیب خانوارهایی که در داخل حیاط و اطراف گله‌های خود سگ نگهداری می‌کردند، میزان آلودگی به کیست هیداتید آنها (CE) از خانوارهایی که سگ

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.

یافته‌ها

جامعه آماری

۲۰۰۳ نفر از پنج منطقه مغان (جمعیت‌های شهری و روستایی و عشايری)، 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 ۸۱-۶ و ۲۴ نفر از این افراد AE مثبت شدند (۱۹٪) با میانگین سنی ۳۹، محدوده سنی آلودگی به AE تا ۷۵ سال بود.

سرولوژی و سونوگرافی

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

اختصاصی آنتی-زن B، آنتی-زن ۵، آنتی-زن ۲⁺ برای شناسایی ایمونوگلوبولین‌های بیماری هیداتیک بالا بود (به ترتیب آنتی-زن، حساسیت ۱/۶، ۴/۷ و ۶/۴). بنابراین حساسیت روش سرولوژیک برای درصد. بنابراین حساسیت روش سرولوژیک برای CE، ۸/۴ درصد بود. به طور کلی، کیست‌های کبدی نوع جامد (نوع IV) که به وسیله اولتراسوند تشخیص داده شده بودند، سخت ترین 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 CE 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 تنبا 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

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 اصلاح‌دوز و بوران و بیله سوار، به ترتیب ۱/۹، ۲/۶ و ۵/۴ 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 (۴/۰%). 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 (۴/۴٪ آلودگی و $p=0.103$). گروه سنی ۵۰ تا ۶۹ ساله بالاترین میزان سرولوژی مثبت را داشتند (۱۳/۱٪ و ۴/۰٪ برای AE) در این مطالعه مردان بیشتر از زنان (۸/۲٪) و مردان در مقابل ۴/۳٪ آلودگی زنان برای CE و ۴/۰٪ در مقابل ۰/۲۶٪ برای AE) آلوده بودند. اما اختلاف معنی‌دار نبود. ۴ بیمار تازه تشخیص داده شده از چهار ناحیه دشت مغان و شانزده نفر دیگر از مناطق عشايری 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 اندemic 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 (کلسيفيه یا به طور جزئی کلسيفيه شده) طبقه بندی شده بودند، به ترتیب ۸/۸، ۸/۷، ۸/۰ و ۹۵/۵ درصد در آزمایش سرولوژی مثبت بودند. حساسیت روش سرولوژی الیزا با آنتی-زن‌های خالص

در گروه شغلی دانشآموzan به ترتیب ۴ و ۰/۲۶ درصد بود. اکینوکوکوز کیستی و حبابچه ای (CE) در افرادی که از آب چشمeh استفاده می‌کردند (AE) بیشتر از افراد دیگر (۰/۷۵ و ۰/۳٪) بود ($p=0.055$). این میزان آلودگی در بین افراد کوچ کننده (عشاير) گزارش شد که مصرف عمده آنها از آب چشمehها و رودخانهها بود. طبقه‌بندی نوع آب مصرفی: ۱. آب لوله کشی، ۲. آب چشمeh، ۳. آب رودخانه، ۴. آب چاه. کمترین میزان آلودگی مربوط به افرادی بود که از آب لوله کشی و آب چاه استفاده می‌کردند.

کشاورز (نسبت به افرادی که مشاغل دیگری داشتند، $p=0.003$) میزان آلودگی به AE و CE بالایی داشتند ($p=0.07$). طبقه‌بندی شغل‌ها در پرسشنامه به صورت: ۱. بیکار و شاغلین آزاد، ۲. دانش آموzan، ۳. معلم، ۴. دامدار و کشاورز بود. میزان آلودگی به CE و AE براساس شغل‌ها: بیشترین میزان آلودگی به CE و AE و ۱۱/۱ 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 معلمین بود. میزان آلودگی به AE و CE در گروه شغلی بیکار و شغل‌های آزاد به AE و CE و ۰/۳ درصد بود. آلودگی به AE و CE ترتیب ۰/۸ و ۰/۶ درصد بود.

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

نوع B	الیزا مثبت (CE) با آنتیژن اختصاصی نوع ۵	درصد الیزا مثبت (CE) با آنتیژن خام کیست هیداتید	تعداد بیماران الیزا مثبت (CE) با آنتیژن خام کیست هیداتید	نتایج	
				تیپ های طبقه بندی شده	تیپ های کیست های طبقه بندی شده
(۸۱/۶)۸۹	(۸۳/۴)۹۱	۱۰۹	۱۰۹	تیپ ۱ (غیر قابل انعطاف)	
(۵۲/۹)۹	(۴۴/۷)۱۱	۱۷	۱۷	تیپ ۲ (لایه غشایی)	
(۵۷/۸)۱۱	(۶۳/۱)۱۲	۱۹	۱۹	تیپ ۳ (کیست های دختر)	
(۶۵/۵)۱۹	(۷۲/۴)۲۱	۲۹	۲۹	تیپ ۴ (جامد)	
(۷۱/۴)۱۵	(۷۶/۱)۱۶	۲۱	۲۱	تیپ ۵ (کلسیفیه شده)	
(۷۶/۳)۱۳	(۷۶/۳)۱۳	۱۷	۱۷	تیپ ۶ (کیست های متعدد)	
۱۵۶	۱۶۴	۲۱۲	۲۱۲	مجموع	

= آنتیژن خام مایع کیست هیداتید اکینوکوکوس گرانولولزوس

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

سنی	الیزا	آزمایش شده با آنتیژن خام کیست هیداتید	میزان الیزا مثبت با آنتیژن خام کیست هیداتید	میزان الیزا مثبت با آنتیژن آنتی۵	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	نتایج	
													گروههای سنی	گروههای سنی
۵ - ۱۹	۳۹۹	۲۰	۵	۹	۲/۲	۱۱	۳۱۲	۱۱	۸/۵	۴۴۱	۸/۱	۳۶	۱۱	۳/۵
۲۰ - ۳۹	۴۵۶	۴۶	۱۰/۸	۳۹	۸/۵	۱/۵	۴۳۹	۱۳/۱	۱۳/۱	۱/۳	۴۸	۴۸	۱۰/۹	۸/۱
۴۰ - ۵۹	۴۵۰	۶۹	۱۵/۳	۵۹	۱۵/۳	۵۹	۴۳۹	۳۹۱	۷/۶	۳۰	۸/۹	۳۹۱	۲۸	۷/۱
۶۰ - ۷۹	۳۹۳	۳۵	۸/۹	۳۰	۷/۶	۲۸	۳۷۲	۷/۱	-	-	-	۱۹	۵/۱	۸/۱
≥۸۰	۳۷۸	۴۲	۱۱	۲۷	۷/۱	۱۹	۱۲۵	-	-	-	-	-	-	-
تعداد نمونه گم شده	۴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۷/۲
مجموع	۲۰۰۳	۲۱۲	۱۰/۵	۱۶۴	۷/۶	۱۹۵۵	۱۴۲	۱۶۴	۷/۶	۴۴۱	۳۶	۱۱	۳/۵	۷/۲

جدول ۳. نتایج سونوگرافی و سرولوژی آلودگی به AE با آتنی ژن HCF-Ag و آتنی ژن اختصاصی Em2⁺ براساس سن افراد

درصد	تعداد مثبت	تعداد افراد سونوگرافی مثبت و درصد	تعداد نمونهای آزمایش شده با الیزا	تعداد نمونهای آزمایش شده با الیزا	نتایج	
					آزمایش شده با الیزا	گروههای سنی
۰/۲۵	۱	۰/۴۵	۱	۳۹۹	۵ - ۱۹	
۰/۵	۳	۰/۶۵	۳	۴۵۶	۲۰ - ۳۹	
۱/۵	۷	۲	۹	۴۵۰	۴۰ - ۵۹	
۰/۶	۲	۱/۳	۵	۳۹۳	۶۰ - ۷۹	
۰/۵	۲	۱/۵	۶	۳۷۸	≥۸۰	
-	-	-	-	۴	تعداد نمونه کم شده	
۰/۶۲	۱۴	۱/۱۹	۲۴	۲۰۰۳	مجموع	

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 ($p=0/023$ 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، $p=0/06$ و $p=0/04$). 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 CE و AE بالای داشتند ($p=0/02$ برای CE و $p=0/03$ برای AE). نتایج حاصل از میزان آلودگی بر اساس شغل‌ها بدین صورت بود که: بیشترین آلودگی به CE و AE با $11/9$ درصد مربوط به شغل دامداری و کشاورزی بوده و کمترین آلودگی مربوط به شغل معلمی با $1/3$ درصد برای CE و $4/0$ درصد برای AE بود. میزان آلودگی به CE در گروه شغلی بیکار و شغل‌های آزاد $6/8$ درصد و به $3/3$ AE درصد و در گروه دانش آموزان آلودگی به CE و AE به ترتیب $4/26$ درصد بود. اکینوکوکوز کیستی و حبابچه ای (AE و CE) در افرادی که از آب چشم‌های استفاده می‌کردند بیشتر از افراد دیگر ($6/6$ و $3/0$ ٪) بود

بحث

مطالعه حاضر به منظور تعیین و گزارش بیماری‌های اکینوکوکوزیس 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 (نادرکنی و آغ‌قباق) 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 70 مورد در بین 156 خانوار مثبت گزارش شدند از این تعداد نمونه مثبت 8 مورد AE و 148 مورد CE بود. از 156 خانوار، 85 خانواده سگ نداشتند، اما سبزیجات وحشی را بدون شستشو و ضدغوفونی مصرف می‌کردند و در طول سال سبزیجات وحشی را هم بدون ضدغوفونی کردن مصرف می‌کردند. در این مطالعه در بین افرادی که سبزیجات وحشی یا خوراکی را با نمک یا مواد شوینده ضدغوفونی می‌کردند، میزان عفونت پایین بود (برای CE و برای AE، $p=0/003$) که نشان می‌دهد عوامل خطر مرتبط با

شیوع اختصاصی براساس متغیر سن در نمونه‌های شهری، به طور کلی با بالارفتن سن، افزایش را نشان می‌دهد. شیوع AE و CE از ۰/۵ درصد در گروه سنی ۱-۵ سال، به ترتیب به ۰/۸ و ۰/۹ درصد در گروه سنی ۵-۶۹ ساله افزایش یافته است (آزمون^۲ روند خطی = ۴۳.۶۴، $p=0.024$). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل سرولوژی با آنتیژن‌های اختصاصی در مناطق روستایی نشان داد که منطقه ۳ (مرتبط با بوران و عشاير کوج کننده) بیشترین عفونت برای AE و CE به ترتیب (۱۱٪ و ۱۱٪) و منطقه ۲ (منطقه پارس آباد، نادرکندي و آق قباق علیا و سفلی) کمترین میزان آلدگی (۰٪ و ۰٪) 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، ۰/۱۶ و ۰/۱ درصد (در بخش اصلاحندوز و تربیت کندي و کورعباسلو و خومه)، ۱ و ۱۱٪ درصد (در مناطق بران و عیوضلو و عشاير این مناطق)، ۰/۰ و ۰/۳ درصد (در شهرستان پارس آباد-نادرکندي، آغ قباق علیا و سفلی و مناطق ما بين بابک و قره قباق سفلی) و در منطقه بیله سوار و جعفرآباد و مناطق قشلاق احمد ۰/۳۱ و ۰/۲ درصد. در این مطالعه، مردان بیشتر از زنان آلدوده بودند. در مطالعه دیگری در ایران و در سایر مناطق، خاورمیانه و شمال آفریقا زنان بیشتر از مردان آلدوده بودند که این ممکن است منعکس کننده این باشد که زنان بیشتر به دنبال درمان هستند [۱۴، ۳]. 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 آلدگی و AE و ۲۰ و ۵۹-۴ بالاترین میزان آلدگی را برای CE نشان دادند. باستانی و همکاران در سال ۱۹۹۵ طی مطالعه‌ای در ایران نشان دادند که ۶۰ درصد از بیماران اکینوکوکوزیس در گروه‌های سنی دهه سوم و چهارم زندگی خود هستند.

(۰/۰۵ و $p=0.05$). این شرایط و میزان آلدگی در بین افراد کوج کننده (عشایر) گزارش شد که عمده مصرف آنها از آب چشمها و رودخانه‌ها بود. تعداد مشخصی از موارد بیماری هستند که در بیمارستان‌ها مخفی مانده و تشخیص داده نمی‌شوند، زیرا اینگونه عفونت‌ها بدون علامت بوده با در موردهشان مداخله جراحی نمی‌کنند. سگ‌های آلدوده منبع مستقیم یا غیرمستقیم عفونت CE برای انسان است و از این رو شیوع عفونت و آلدگی سگ‌های جلگه مغان، یکی از اصلی‌ترین شاخص‌ها و عوامل خطرهای بالقوه برای آلدگی 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 آلدگی میزبانان واسط اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس صورت نگرفته است. در بعضی از استان‌ها، کرم‌های بالغ اکینوکوکوس گرانولوزوس در ۱۷/۲۷ 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، اکینوکوکوس گرانولوزوس در محتويات 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 آلدگی به CE و AE در منطقه مغان به ۲۴ و ۷/۶ درصد (۱۶۴ مورد برای CE و ۲۴ مورد برای AE از ۲۰۰ نمونه سرمی) می‌باشد.

بیماری بومی است، هرگونه توده یا تومور رو به رشد باید سوء ظن بیماری هیداتید را ایجاد کند [۱۷]. یافته های این مطالعه در تشخیص، شیوع و تعیین عوامل خطر هر دو بیماری هیداتید سیستیک و آلوئولار و موارد مداخله بیمارستانی، بسیار سودمند بوده و نشان می دهد که کیست هیداتید جزو بیماری های انگلی مهم تهدید کننده سلامت عمومی و ایجاد کننده مشکلات اقتصادی در ایران به ویژه در منطقه مغان استان اردبیل می باشد. همچنین نشان می دهد که روش های سرو لوزی جهت تائید بیماری پیش از جراحی ضروری می باشد. عوامل خطر بیماری در منطقه برای ایجاد و استقرار و شیوع عفونت وجود دارد. بیماری و عفونت در سگ های ولگرد و سایر گوشت خواران (فراوانی روباه قرمز و شغال و گرگ در منطقه مغان)، کشتار گاه های غیر بهداشتی و غیر استاندارد، کشتار مکرر حیوانات در اماکنی غیر از کشتار گاه ها و در دسترس بودن آسان لشه های این کشتارها برای سگ های ولگرد و حتی سگ های اهلی خصوصاً در روستاهای و مهاجرت های قانونی و غیر قانونی از همسایگان شمالی کشور، دلایل اصلی شیوع بالای اکینو کوکوزیس در ایران است. محدودیت های این پژوهش شامل کوچ عشاير و در دسترس نبودن آنها، برخی باور های غلط در بین افراد جامعه و نیز ممانعت سگ های عشاير در ورود به منطقه و نمونه گیری بود.

در مطالعه تورگرسون^۱ و همکاران، تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که احتمال ابتلا به بیماری CE با سن کاهش می یابد [۳]. در مطالعه حاضر ۷۵/۸ درصد کیست ها کبدی، ۱۷/۷ درصد ریوی، در حالی که طحال ۲/۳ درصد، شکم ۷/۰ درصد و سایر اعضای بدن ۲/۹ درصد بود. بنابراین، بیش از ۹۰ درصد از کیست های هیداتید در کبد و ریه ها تشکیل می شوند و بقیه کیست های می توانند در طحال، غدد تیروئید، شکم، مغز و سایر اعضاء یافت شوند [۲]. کیست های طحال در حدود ۲/۵ درصد اتفاق می افتد و در دو مطالعه دیگر دو مورد بیماری هیداتید طحال در شهر ایذه از شهر های استان خوزستان گزارش شده است [۱۵]. ممیشی و همکاران نشان دادند که ۷۷ درصد کیست ها در کبد و ۴۸ درصد در ریه ها مستقر هستند و ۱۰ درصد بیماران هم در گیری چند گانه داشتند، که به طور همزمان کبد و ریه و سایر اعضای بدن در گیر بودند [۱۴]. در عین حال، کیست های هیداتید ممکن است در مکان های غیر معمول هم یافت شود. برای مثال، در یک بیمار ایرانی، کیست هیداتید در تخمدان یافت شده است [۱۶]. تشابه قابل توجه باليیني بين بیماری هیداتید (CE و AE) و سایر بیماری های بد خیم در برخی از ارگان ها، تشخیص و تمایز صحیح را ضروری می کند. در کشورهایی مثل کشور ما که این

¹ 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, Benkert 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, Mehmendar 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, Lotfollahzadeh 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 Persiaan]
- 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- Maherlooeei 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.