مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره چهاردهم/ تابستان ۱۳۸۸/۲۰-۱۴

شناسایی آنتی ژن اختصاصی کیست هیداتیک توسط روش وسترن بلاتینگ به منظور کاربرد تشخیصی

دکتر شاهین فکور[۱] دکتر بهنام مشکی[۲]

۱- استادیارگروه علوم بالینی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی سنندج، سنندج، ایران (مؤلف مسؤول) تلفن تماس: ۳۲۸۹۴۳۰ Fakours@yahoo.com

۲- دانشیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت بیماری هیداتیدوز در جمعیت‌های انسانی و دامی، بررسی حاضر با هدف شناسایی آنتی‌ژن تشخیصی کیست هیداتیک با استفاده از روش ایمونوبلاتینگ انجام گرفت.

روش بررسی: بدین منظور بعد از تهیه کیست هیداتیک گوسفندی، چهار نوع آنتی‌ژن مایع خام، مایع جوشانده، آنتی‌ژن هموژنیزه پروتواسکولکس و آنتی‌ژن دیواره کیست هیداتیک تهیه گردید. نمونه‌های سرمی مثبت و عاری از آلودگی در بازرسی کشتارگاهی تهیه شد. الکتروفورز پادگن‌ها توسط روش (SDS-PAGE) با استفاده از سیستم ژل ناپیوسته با ژل جداکننده به غلظت ۱۲٪ و ژل متراکم‌کننده به غلظت ۵٪ در مجاورت نشاندار با وزن مولکولی مشخص صورت گرفت. در استفاده از روش وسترن بلاتینگ برای شناسایی پادگن اختصاصی، یک ورقه از غشا نیتروسلولز بر روی ژل انتقال یافت و تحت الکتروفورز قرار گرفت. بعد از انتقال پروتئین‌ها به غشا نیتروسلولز از شیر خشک بدون چربی بعنوان بافر مسدودکننده و سپس بترتیب از آنتی‌بادی اولیه و ثانویه و از سوبسترای دی آمینو بنزیدین جهت مشخص شدن باندهای اختصاصی استفاده شد.

یافته‌ها: بررسی نتایج الگوی الکتروفورتیک چهار آنتی‌ژن تهیه شده از کیست هیداتیک نشان داد در آنتی‌ژن خام مایع کیست ۹ باند پروتئینی از ۱۴ تا بیش از ۱۱۶ کیلو دالتون وجود دارد که در بین آنها چهار باند با وزن مولکولی ۱۸، ۲۳، ۴۰ و ۶۴ کیلو دالتون مشخص‌تر و مشترک با پادگن مایع جوشانده هستند. در الکتروفورز آنتی‌ژن دیواره ۹ باند از ۱۴ تا بیش از ۱۱۶ کیلو دالتون و در پروتواسکولکس ۱۰ باند پروتئینی با وزن مولکولی بیشتر از ۳۵ کیلو دالتون وجود داشت.

نتیجه‌گیری: در ایمونوبلاتینگ آنتی‌ژن مایع خام یک باند پروتئینی با وزن مولکولی ۳۵ و در آنتی‌ژن دیواره کیست ۳ باند ۳۰، ۳۳ و ۴۶ کیلو دالتون بعنوان آنتی‌ژنهای اختصاصی شناسایی شدند.

کلید واژه‌ها: کیست هیداتیک، آنتی‌ژن، وسترن بلاتینگ.

وصول مقاله: ۸۸/۵/۱ اصلاح نهایی: ۸۸/۶/۱۵ پذیرش مقاله: ۸۸/۶/۱۹

مقدمه

هیداتیدوز حیوانی و انسانی در کشورهایی که دامپروری نشخوارکنندگان رونق دارد از شیوع بیشتری برخوردار است، به طوری که بخش‌های مختلفی از دنیا نظیر خاورمیانه را شامل می‌شود (۱). در حال حاضر روش‌های متعدد سرمی نظیر: الایزا[۱]، هماگلوتیناسیون غیر مستقیم[۲]، ایمونوبلات[۳]، رادیو ایمونواسی[۴]، ایمونوالکتروفورز[۵]، ایمونوفلورسانت غیر مستقیم[۶] و لاتکس آگلوتیناسیون[۷] جهت تشخیص موارد هیداتیدوز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶-۲). این روشها بر اساس

1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

2. Indirect Haemaglutination Test (IHT)
3. Immuno Blotting (IB)
4. Radio Immuno Assay (RIA)
5. Immuno Elctrophorese (IE)
6. Indirect Fluorescent Antibody (IFA)
7. Latex Aglutination Test (LA)

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

شناسایی آنتی‌ژن و یا آنتی‌بادی اختصاصی کیست هیداتیک طراحی شده‌اند ولی در تشخیص این بیماری علاوه بر تنوع و تعدد روشهای موجود نوع آنتی‌ژن مورد استفاده سبب شده است تا هر روشی از مزایا و معایبی مختص به خود برخوردار باشد. البته باید وجود سویه‌های مختلف کیست هیداتیک را در مناطق مختلف جغرافیایی در نظر داشت چرا که مسلماً بر نتایج روشهای تشخیص سرمی تأثیرگذار است (۷).

در بین روشهای تشخیص سرمی آلودگی با کیست هیداتیک روش ایمونوبلات یکی از آزمونهای انتخابی محسوب می‌شوند. الوت و همکاران از این روش در تشخیص هیداتیدوز ریوی انسان استفاده کردند (۸). دوئیز نیز استفاده از این روش را با توجه به حساسیت و ویژگی بالای آن در جمعیت‌های انسانی توصیه می‌کند (٦). اگرچه بهره‌گیری از این روش بعد از الکتروفورز باعث صرف وقت بیشتر و پیچیده‌تر کردن آزمایش می‌گردد ولی به علت فواید فراوانی که دارد کاربرد آن بسیار با ارزش است. اهمیت این روش به خاطر تلفیق دو روش حساس جداسازی الکتروفورزی پروتئین‌ها و شناسایی ایمونولوژیکی آنها است. مقدار آنتی‌ژن در این روش تا حدود یک نانوگرم قابل تشخیص می‌باشد. در استفاده از آنتی‌ژن ۵ واکنش متقاطع با اکینوکوکوس مولتی‌لوکولاریس و اکینوکوکوس فولگی و همچنین با سیستی‌سرکوس سلولوزه و دیگر انگل‌ها دیده می‌شود، در حالی که استفاده از آنتی‌ژن B علی رغم ایمنی زایی پایین، ویژگی بالایی دارد و تنها با اکینوکوکوس مولتی‌لوکولاریس و اکینوکوکوس فوگلی واکنش متقاطع نشان می‌دهد. باندهای ۸ و ١٦ کیلو دالتونی که زیر واحدهایی از آنتی‌ژن B هستند با ویژگی ۱۰۰٪ و حساسیت ۸۰٪ بدون واکنش متقاطع با سرم بیماران غیر هیداتیک از ارزش بالایی در تشخیص افتراقی برخوردارند. زیر واحد ۸ کیلو دالتونی اختصاصی‌ترین آنها بوده و به تنهایی ۷۸٪ حساسیت دارد. ایمونوبلات می‌تواند به عنوان روشی جهت تایید قطعی آلودگی به کیست هیداتیک استفاده شود. خالص‌سازی آنتی‌ژن در این آزمون احتمال واکنش متقاطع باسیستی سرکوزیس، لیشمانیازیس، فیلریازیس، توکسوپلاسموزیس و دیگر بیماری‌ها را کاهش می‌دهد (۹). در بررسی حاضر آنتی‌ژن اختصاصی کیست هیداتیک توسط روش وسترن بلاتینگ با هدف تشخیص سرمی بیماری مورد شناسایی قرار گرفت.

روش بررسی

تحقیق حاضر به صورت توصیفی و با هدف شناسایی آنتی‌ژن اختصاصی در تشخیص کیست هیداتیک طی سه مرحله به شرح زیر انجام پذیرفت:

۱) تهیه آنتی‌ژن

بعد از انتقال اندام آلوده به کیست هیداتیک به آزمایشگاه مایع کیست استخراج گردید و در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵/۰۰۰ دور سانتریفوژ شد تا پرتو اسکولکس‌ها جدا شوند (۱). تهیه و استخراج پادگن از دو منبع مایع و پرتواسکولکس به شرح زیر صورت گرفت:

با منشأ مایع کیست هیداتیک دو نوع آنتی‌ژن تهیه شد و در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

- آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک

آنتی‌ژن خام مایع کیست بعد از دیالیز مایع کیست تهیه گردید.

- آنتی‌ژن جوشانده مایع

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

بر اساس روش روگان و همکاران پادگن جوشانده مایع کیست، پس از قرار دادن مایع در حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه تهیه شد (۱۰).

-پادگن هموژنیزه پرتواسکولکس

پادگن هموژنیزه پرتواسکولکس با فریز و ذوب کردن و سپس سونیکه کردن پرتواسکولکس و سانتریفوژ نمونه تهیه شد.

- دیواره کیست

پادگن دیواره کیست هیداتیک بعد از جداسازی دیواره و شست و شوی آن در فسفات بافر سالین با هموژنیزه کردن، سونیکاسیون و سانتریفوژ نمونه تهیه گردید. همه نمونه‌ها بعد از تعیین غلظت توسط روش لوری به میزان ۵۰ میکرولیتر در هر میکروتیوب در فریز۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده تحت نگهداری قرار گرفت (۱۱).

۲) تهیه سرم

تهیه سرم با همکاری و مساعدت سازمان دامپزشکی انجام گرفت. در هر بار مراجعه (در مجموع ۱۰-۸ نوبت) قبل از ذبح هر راس گاو، از آن خون‌گیری به عمل آمد و هر نمونه همراه با دام مربوطه شماره‌گذاری شد و در چرخه کشتار ضمن بازرسی اندام‌های مختلف هر نوع آلودگی ثبت گردید و چنانچه در دو اندام کبد و یا ریه آلودگی به کیست هیداتیک وجود داشت، نمونه سرمی به عنوان سرم مثبت هیداتیک در نظر گرفته شد.

در طی هر بار بازرسی کشتارگاهی، نمونه‌ها با حفظ شماره و نوع آلودگی به آزمایشگاه انتقال یافت و بعد از تهیه سرم، بسته به نوع آلودگی ثبت شد. بدین ترتیب تعداد ۵ نمونه مثبت سرمی هیداتیک و ۵ نمونه سرم منفی و عاری از آلودگی (به عنوان کنترل) تهیه گردید، علاوه بر این نمونه‌های سرمی مثبت از نظر فاسیولا و دیکروسلیوم جهت بررسی واکنش متقاطع (۵ نمونه) نیز تهیه شد. همه نمونه‌ها به تیوب‌های به حجم یک سانتی‌متر مکعب انتقال یافت و در برودت ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

۳) تعیین الگوی الکتروفورتیک و ایمونوبلاتینگ

برای تعیین الگوی الکتروفورتیک آنتی‌ژنهای تهیه شده، نمونه‌ها تحت SDS-PAGE قرار گرفت و در مرحله بعد به منظور شناسایی آنتی‌ژنهای اختصاصی توسط ایمونوبلاتینگ و به شرح ذیل تعیین هویت شدند.

- سدیم دو دسیل سولفات پلی اکریلامید ژل الکتروفورزیس

جهت الکتروفورز آنتی‌ژنها از سیستم ژل ناپیوسته با ژل جداکننده به غلظت ۱۲٪ و ژل متراکم‌کننده به غلظت ۵٪ حاوی سدیم دو دسیل سولفات (SDS) بر اساس روش لاملی (۱۲). استفاده شد. پس از اطمینان از انعقاد ژل پلی اکریلامید، نمونه‌های تهیه شده را که با اضافه کردن یک حجم بافر نمونه به مدت ۱۰-۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته بودند، به میزان ۳۰-۲۰ میکرولیتر به چاهک‌های ژل متراکم‌کننده منتقل شدند. پس از استقرار صفحات حاوی ژل در تانک مربوطه اقدام به الکتروفورز نمونه‌ها در ولتاژ ۸۰ و سپس ۱۱۰ ولت در مجاورت نشاندار با وزن مولکولی مشخص گردید. بعد از اتمام الکتروفورز ژل‌ها با استفاده از کوماسی بلو رنگ‌آمیزی شد و توسط محلول رنگ بر باندهای پروتئینی آشکار شدند.

-وسترن بلاتینگ

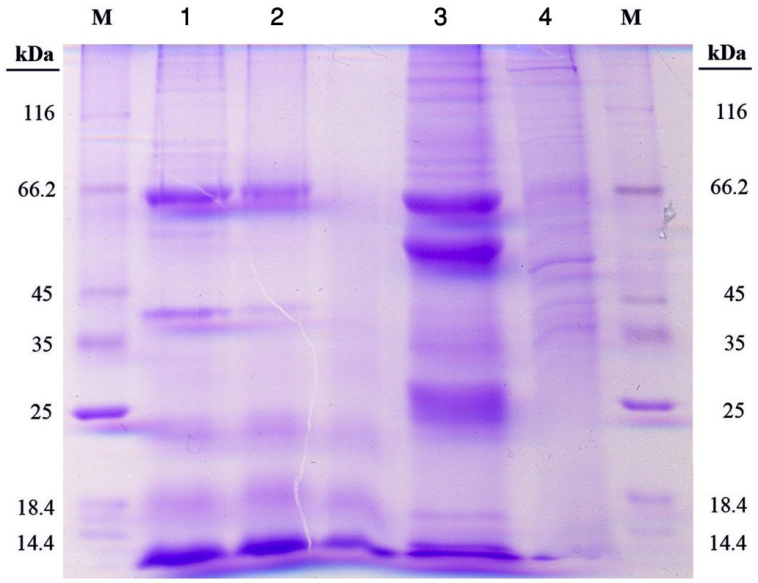
به منظور شناسایی آنتی‌ژن یا آنتی‌ژنهای اختصاصی، بعد از الکتروفورز نمونه بر روی ژل پلی اکریلامید یک ورقه از غشا نیتروسلولز به اندازه ژل بریده شد و بر روی ژل انتقال یافت و پس از قرار گرفتن

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

چندین لایه کاغذ واتمن در دو طرف آنها، به مدت ۱۲ ساعت در ولتاژ ۳۰ ولت الکتروفورز گردید. بعنوان بلوکینگ بافر (بافر مسدودکننده) از شیر خشک بدون چربی با غلظت ۳٪ در فسفات بافر سالین حاوی ۰/۵٪ توئین ۲۰ استفاده شد. پس از ۳ بار شستشوی غشا آن را بمدت ۱ ساعت در آنتی‌بادی اولیه و بعد از ۳ نوبت شستشو به آنتی‌بادی ثانویه (آنتی‌بادی کونژوگه با پراکسیداز) انتقال داده و از سوبسترای دی آمینو بنزیدین به همراه ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰٪ جهت مشخص شدن باندهای مورد نظر استفاده شد و در پایان از کاغذ حاوی باند، اسکن تهیه گردید (۱۲).

یافته‌ها

همانطور که در روش کار توضیح داده شد الگوی الکتروفورتیک آنتی‌ژنهای مایع خام، مایع جوشانده، دیواره و پروتواسکولکس کیست هیداتیک گوسفند توسط روش SDS-PAGE تعیین هویت شد. نتایج این قسمت از بررسی که در تصویر ۱ ملاحظه می‌شود وجود ۹ باند پروتئینی از ۱۴ تا بیش از ۱۱۶ کیلو دالتون را در مایع خام کیست هیداتیک (ستون ۱) نشان می‌دهد که در بین آنها چهار باند با وزن مولکولی ۱۸، ۲۳، ۴۰ و ۶۴ کیلو دالتون مشخص‌تر و مشترک با پادگن مایع جوشانده (ستون ۲) هستند.



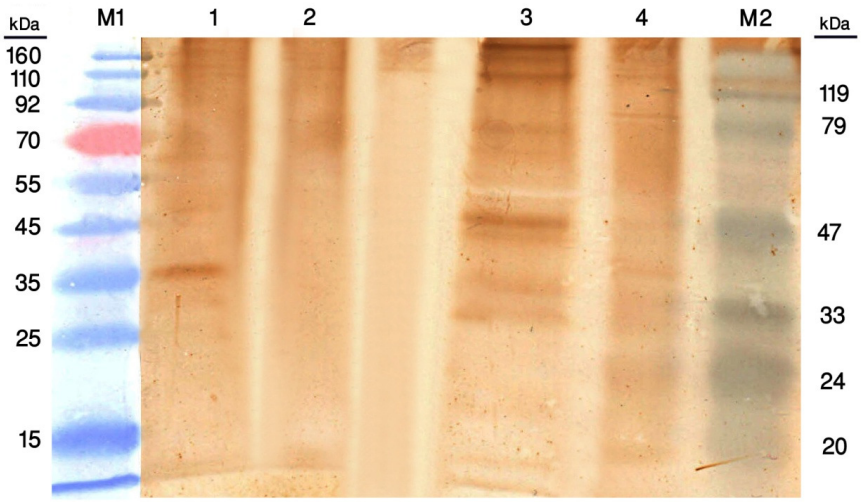
تصویر ۱: الگوی الکتروفورتیک چهار آنتی‌ژن تهیه شده از کیست هیداتیک
آنتی‌ژن‌های مورد استفاده در بررسی الگوی الکتروفورتیک بر اساس تصویر ۱) ستون ۱: آنتی ژن خام مایع، ستون ۲: آنتی ژن جوشانده مایع، ستون ۳: آنتی ژن دیواره، ستون ۴: آنتی ژن پروتواسکولکس، M: مارکر پروتئینی (فرمنتاز SM0431)

در الکتروفورز آنتی‌ژن دیواره (ستون ۳) در محدوده ۱۵ تا ۱۱۶ کیلو دالتون ۷ باند و در پروتواسکولکس (ستون ۴) ۱۰ باند با وزن مولکولی بیشتر از ۳۵ کیلو دالتون وجود داشت.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

قابل ذکر است که می توان از آنتی‌ژن مایع خام کیست بصورت خالص و یا تغلیظ شده استفاده کرد که آنتی‌ژن تغلیظ شده توسط کیسه دیالیز با نتایج بهتری همراه بود. وسترن بلاتینگ آنتی‌ژنهای مختلف در تصویر ۲ مشاهده می شود. باندهای اختصاصی در آنتی‌ژن مایع (ستون ۱) و دیواره کیست (ستون ۳) شناسایی شده است.

همانگونه که در تصویر ۲ مشاهده می شود در آنتی‌ژن مایع خام یک باند پروتئینی با وزن مولکولی ۳۵ و در آنتی‌ژن دیواره کیست ۳ باند مشخص ۳۰، ۳۳ و ۴۶ کیلو دالتون شناسایی شده‌اند.



تصویر ۲: وسترن بلاتینگ آنتی‌ژنهای مختلف کیست هیداتیک
آنتی ژن‌های اختصاصی در وسترن بلاتینگ تصویر ۲) ستون ۱: آنتی ژن خام مایع، ستون ۲: آنتی ژن جوشانده مایع، ستون ۳: آنتی ژن دیواره، ستون ۴: آنتی ژن پروتواسکولکس، M1وM2: مارکر پروتئینی (فرمنتاز SM0671وSM0441)

بحث

معمولاً ابتلا به کیست هیداتیک فاقد علائم بالینی مشخصی در میزبان است. عواملی نظیر نوع اندام درگیر با کیست، تعداد و اندازه کیست، محل استقرار کیست در اندام و از طرفی دوره نهفتگی، متغیر از چند ماه تا چند سال از جمله مواردی است که بر لزوم روشهای تشخیص سرمی که از کفایت و کارایی بالایی برخوردار باشند تاکید دارد (۶). مورو و شانتز معتقدند با وجود پیشرفت‌های زیادی که بخصوص در دهه اخیر در زمینه تشخیص و کنترل کیست هیداتیک انجام گرفته است، اما بیماری هیداتیدوز-اکینوکوکوز بعنوان یک معضل بزرگ بهداشتی در بسیاری از کشورها مطرح می‌باشد (۱۳). نوعی کیت تشخیصی هیداتیدوز بر اساس وجود آنتی‌بادی‌های اختصاصی توسط سبیهی و همکاران طراحی شد که از حساسیت (۹۴/۸۷٪)، ویژگی (۸۵/۷۱٪) و سرعت بالایی بر خوردار بوده و برای انجام آن نیازی به تجهیزات خاص نیست (۱۴).

در بررسی حاضر اگرچه در آنتی‌ژن مایع خام کیست هیداتیک ۹ باند پروتئینی وجود داشت ولی چهار باند با وزن مولکولی ۱۸، ۲۳، ۴۰ و ۶۴ کیلو دالتون

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

مشخص‌تر و باندهای بیش از ۶۶ کیلو دالتون ضعیف‌تر بودند. سیمسیک و کوروقلو نیز در بررسی مایع کیست هیداتیک ۶ باند با وزن مولکولی ۲۹، ۴۵، ۵۸، ۶۸، ۹۸ و ۱۱۶ کیلو دالتون را شناسایی کردند (۱۵). در این مورد اگر چه اساس استفاده از مایع کیست هیداتیک در تشخیص هیداتیدوز وجود دو آنتی‌ژن تشخیصی شامل آنتی‌ژن B و ۵ است (۱۶). ولی وجود پلی مورفیسم بالایی که در آنتی‌ژن B وجود دارد و تاکنون حداقل ۱۰۱ ترادف نوکلوتیدی از آن شناسایی شده است استفاده از آن را برای تشخیص هیداتیدوز پیچیده می‌سازد (۱۷) و ممکن است عدم وجود باند مشابهی در بررسی حاضر و گزارش سیمسیک و کوروقلو (۱۵) به همین دلیل باشد.

این محققین در ایمونوبلاتینگ مایع کیست باند ۱۱۶ کیلو دالتون را بعنوان پروتئین اختصاصی در تشخیص هیداتیدوز گوسفند معرفی کردند و در مقایسه با بررسی حاضر باند پروتئینی با وزن مولکولی ۳۵ کیلو دالتون از آنتی‌ژن مایع خام برای هیداتیدوز گاوی معرفی می‌شود. از طرفی در بررسی مشابهی دو پروتئین ۳۹ و ۴۲ کیلودالتون در مایع کیست هیداتیک گوسفندی را بعنوان پروتئین‌های اختصاصی برای تشخیص بیماری در جمعیت‌های انسانی پیشنهاد کرده‌اند که حاکی از وجود اختلاف پروتئین‌های اختصاصی در میزبان‌های متفاوت دارد، این محققین همچنین بر استفاده از روش وسترن بلاتینگ در پیگیری‌های بعد از عمل جراحی تاکید دارند. البته در حال حاضر ایمونوبلات می‌تواند به عنوان روشی جهت تایید قطعی آلودگی به کیست هیداتیک استفاده شود (۵).

اگرچه یکی از شایعترین منابع آنتی‌ژنی برای شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد هیداتیک استفاده از آنتی‌ژنهای مایع است ولی سوارنا و پاریجا در ارزیابی آنتی‌ژنهای مایع، پروتواسکولکس و دیواره کیست هیداتیک برای تشخیص هیداتیدوز انسانی توسط روش الایزا نقطه‌ای استفاده از پادگن پروتواسکولکس و دیواره کیست را هم مناسب دانستند (۶). بر این اساس در تحقیق انجام گرفته دو آنتی‌ژن پروتواسکولکس و دیوار کیست نیز تحت آزمایش قرار گرفت. در مطالعه قربان پور و همکاران نیز با ایجاد آلودگی تجربی به کیست هیداتیک در گوسفند، وجود آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژنهای اختصاصی هیداتیک در سرم و ادرار مشخص گردید (۱۸). در این مورد دوی و پاریجا (۲۰۰۳) هم با هدف جستجوی آنتی‌ژن‌های سرمی هیداتیک نوعی روش سرمی را تحت مطالعه قرار دادند (۱۹). در بررسی حاضر در الکتروفورز پروتواسکولکس ۱۰ باند پروتئینی با وزن مولکولی بیشتر از ۳۵ کیلو دالتون و در آنتی‌ژن دیواره ۱۰ باند از ۱۴ تا بیشتر از ۱۱۶ کیلو دالتون وجود داشت ولی در نتایج ایمونوبلاتینگ فقط در آنتی ژن دیواره کیست هیداتیک ۳ باند ۳۰، ۳۳ و ۴۶ کیلو دالتون تعیین هویت گردید.

نتیجه‌گیری

جهت ارزیابی دقیق نتایج بدست آمده پیشنهاد می‌شود آنتی‌ژنهای اختصاصی شناسایی شده با دو منشا مایع و دیواره کیست هیداتیک بعد از خالص سازی توسط یک روش ایمونوآنزیمی نظیر الایزا مورد بررسی قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری و مساعدت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج جهت تأمین اعتبار جهت انجام این مطالعه سپاسگزاری می‌گردد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

References

1. Abdel-Hafez SK, Kamhawi SA. Cystic echinococcosis in the Levant Countries (Jordan, Palestinian Autonomy, Israel, Syria and Lebanon). In F.L. Andersen, H. Ouhelli & M. Kachani. (eds.) Compendium on Cystic Echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with Special Reference to Morocco. Provo, UT: Brigham Yound University 1997; 292-316.
2. Verastegui M, Moro P, Guevara A, Rodriguez T, Mirand E, Gilman RH. Enzyme likned immunoelectrotransfer blot test for diagnosis of human hydatid disease. J Med Microb 1992; 67: 129-143.
3. Craig PS. Echinococcus granulosus: Immunodiagnosis and vaccination, a perspective. Parasitologia 1997; 39: 345-347.
4. Lightowlers MW, Gottstein B. Echinococcosis hydatidosis: antigens immunological and molecular diagnosis. In: R.C.A. Thompson, A. J. Lymbry, (eds) Echinococcosis and Hydatid Disease. Wallingford, UK: CAB International 1995; 355-410.
5. Doiz O, Benito R, Sbihi Y, Osuna A, Clavel A, Gomez-Lus R. Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. Diag Microbiol Infec Dis 2001; 41: 139-142.
6. Swarna SR, Parija SC. DOT-ELISA for evaluation of hydatid cyst wall, protoscoleces and hydatid cyst fluid antigens in the serodiagnosis of cystic echinicoccosis. Rev Ins Med Trop Sant Paulo 2008; 50: 233-236.
7. Gatti A, Alvarez AR, Araya D, Mancini S, Herrrero E, Santillan G, et al. Ovine echinicoccosis. Immunological diagnosis by enzyme immunoassay. Article 2007; 143: 112-121.
8. Olut AI, Erguven S, Emri Ozunlu H, Akay H. Diagnostic value of a dot immunobinding assay for human pulmonary hydatidosis. The Korean J Parasitol 2005; 43: 15-18.
9. Burgu A. Analysis of fluids of hydatid cysts from sheep by SDS-PAGE, and Determination of specific Antigens in protein structure by western blotting. Turkish Jl Vet Animal Science 2000; 24: 493-500.
10. Rogan MT, Craig PS, Zeyhle E. Evaluation a rapid of Dot-ELISA as a field test for the diagnosis of cystic hydatid disease. Trans Roy Soc Tropical Med Hyge 1991; 85: 773-777.
11. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol chem 1951; 193: 265-275.
12. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970; 227: 680-685.
13. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. Inter J Infec Dis 2009; 13: 125-133.
14. Sbihi Y, Gil JR, Alvarez PA, Ourduna A, Rodriguez-Torres A, Osuna A. Development of a dipstick dye immunoassay for diagnosing hydatidosis. J Clin Lab Anal 2003; 17: 219-222.
15. Simsek S, Koroglu E. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) for immunodiagnosis of hydatid disease in sheep. Acta Tropica 2004; 92: 17-24.
16. Carmena D, Benito A, Eraso E. Antigens for the immunodiagnosis of Echinococcus granulosus infection. Acta Tropica 2006; 98: 74-86.
17. Rosenzvit MC, Camicia F, Kamenetzky L, Muzulin PM, Gutierrez AM. Identification and intra-specific variability analysis of secreted and membrane-bound proteins from Echinococcus granulosus. Parasitol Inter 2005; S63-S67.
18. Ghorbanpoor M, Razi Jalali MH, Hoghooghi Rad N, Nabavi L, Esmail Zadeh S, Rafiei A, et al. Detection of specific hydatid antigens and antibodies in serum and urine of experimentally infected sheep. Vet Parasitol 2006; 142: 91-94.
19. Devi CS, Parija SC. A new serum hydatid antigen detection test for diagnosis of cystic echinicoccosis. Americ J Tropic Med Hyg 2003; 69: 525-528.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]