جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

واکنش متقاطع آنتی‌بادی‌های انسانی به آنتی‌ژن مایع کیست هیداتیک (HCF) انسان و موش

افرا خسروی[۱]، مرتضی شمسی[۲]، ابراهیم بابا احمدی[۳]، کورش سلیه میری[۴]، کورش ساکی[۵]

چکیده

مقدمه: استفاده از آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک (HCF یا Hydatid cyst fluid) در تشخیص بیماری هیداتیدوز یکی از روش‌هایی است که با بررسی‌های سرولوژیکی به موقع می‌توان اثرات سودمندی در درمان سریع بیماری ایجاد نمود. تهیه آنتی‌ژن با منشأ انسانی مشکل می‌باشد و از نظر مالی نیز هزینه‌بر است، اما آیا در انسان و موش واکنش متقاطع به آنتی‌ژن‌های مایع کیست وجود دارد یا خیر؟ کدام آنتی‌ژن بالاترین پاسخ آنتی‌بادی انسانی را به خود اختصاص می‌دهد؟ در چه محدوده‌ای، کدام ایمونوگلوبولین برای این پاسخ‌ها ارجح‌تر است؟ این سؤالات موضوع بحث مطالعه حاضر بود.

روش‌ها: آنتی‌ژن گوسفندی برای آلودگی تجربی سه گروه موش بالب- سی و سوری مورد استفاده قرار گرفت. سرم انسان‌های بیمار جراحی شده برای کیست هیداتیک علیه آنتی‌ژن مایع انسانی و موشی مورد آزمایش قرار گرفتند. آنتی‌بادی تام و زیرکلاس‌های IgG و نیز IgE به روش ELISA اندازه‌گیری شدند. سرم موش‌های ایمن نیز از نظر IgG، HgG2b، IgE و IgGAM مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج با استفاده از آزمون‌های ANOVA و نیز POST HOC مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: IgG و IgG۴ انسانی بالاترین میانگین پاسخ را علیه آنتی‌ژن‌های خام انسانی و موشی کیست هیداتیک نشان دادند. واکنش متقاطع در پاسخ انسان به هر دو آنتی‌ژن و نیز در پاسخ سرم موش به هر دو آنتی‌ژن در سطح بالایی وجود داشت، ولی علیه آنتی‌ژن موش شدت پاسخ انسان با IgG تام به مراتب بیشتر از پاسخ آنتی‌بادی انسان به آنتی‌ژن انسانی بود. موش‌های سوری آلودگی تجربی به کیست هیداتیک را بیشتر و بهتر از بالب- سی نشان دادند.

نتیجه‌گیری: بین دو آنتی‌ژن هم واکنش متقاطع آنتی‌بادی انسانی و هم آنتی‌بادی موشی وجود دارد. آنتی‌ژن موش جایگزین مناسبی در طراحی کیت‌های تشخیصی کیست هیداتیک می‌تواند باشد. IgG تام و IgG۴ بالاترین پاسخ‌ها را در این واکنش‌های متقاطع نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: کیست هیداتیک، آنتی‌ژن مایع، واکنش متقاطع.

نوع مقاله: *تحقیقی*

دریافت مقاله: ۹۰/۱۰/۱۰ *پذیرش مقاله: ۹۰/۲/۲۳*

۱. دانشیار، گروه ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایران. (نویسنده مسؤول)
Email: afra@medilam.ac.ir
۲. کارشناس ارشد، گروه انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایران.
۳. استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایران.
۴ .استادیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایران.
۵. استادیار، گروه روان‌پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

کیست هیداتیک، مرحله نوزادی کرم نواری اکی نوکوکوس گرانولوزوس است. این کرم ۷-۳ میلی‌متری، انگل روده باریک سگ است. تخم‌های کرم همراه با مدفوع سگ آلوده دفع و در محیط خارج پراکنده می‌شوند. انسان و حیوانات با خوردن تخم‌ها به همراه آب، غذا و سبزیجات آلوده می‌شوند. در نتیجه کیست هیداتیک در بدن آن‌ها تشکیل می‌شود. علایم بالینی بیماری هیداتیدوز در انسان و حیوانات بستگی به تعداد، اندازه و محل تشکیل کیست‌ها دارد. در صورتی که کیست هیداتیک در اندام‌های حیاتی مثل مغز و قلب تشکیل شود، خطرات ناشی از بیماری جدی‌تر است (۱).

این بیماری در بیشتر نقاط جهان به ویژه در کشورهایی که در آن‌ها دامپروری رایج است، شایع می‌باشد. بیماری سالیانه زیان‌های بهداشتی و اقتصادی زیادی را به دنبال دارد (۳، ۲). آلودگی به این انگل ضمن گسترش جهانی، در بیشتر مناطق گرم سیر و نیمه‌گرم سیر دنیا انتشار دارد. آلودگی در کشورهای حوزه مدیترانه، اروپا، آسیای مرکزی، خاورمیانه، خاور دور، روسیه، استرالیا، زلاند نو، آمریکا و آفریقا وجود دارد (۵، ۴). اکی نوکوکوزیس در ایران که از مناطق هیپر آندمیک است، از لحاظ بهداشتی، پزشکی و دامپزشکی حایز اهمیت است. جمعیت روستایی به خصوص در کشورهای توسعه نیافته که در تماس مستقیم با حیوانات اهلی و وحشی به خصوص سگ و سگ‌سانان هستند، بیشتر در معرض آلودگی قرار دارند. البته در ایران الگوی انتشار در جمعیت عشایر و زنان شهری از طریق مصرف میوه و سبزیجات آلوده می‌باشد. بیماری از تمام استان‌های کشور با بالاترین میزان آلودگی در انسان (۴/۴۵ در صد هزار) از استان خراسان و کمترین آن (۰/۱ در صد هزار) از استان هرمزگان گزارش شده است. برای کل کشور میزان متوسط موارد جراحی ۱/۲ در صد هزار تعیین شده است (۶). بیماری هیداتیدوز در ۶۰ درصد موارد، فاقد علایم بالینی است و ممکن است تا ۲۰ سال بدون علامت باقی بماند. همچنین این بیماری به دلیل استقرار انگل در ارگان‌های مختلف انسان مانند کبد، ریه، طحال، قلب، مغز، نخاع و ... تشخیص آن دشوار است و اغلب از روش‌های پارا کلینیکی مثل روش‌های سرولوژیک برای تشخیص استفاده می‌شود (۷). نظر به این که تنها راه درمان بیماری جراحی است، بنابراین تشخیص سریع و قطعی بیماری بسیار حیاتی است (۸). استفاده از آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک (HCF یا Hydatid cyst fluid) در تشخیص بیماری هیداتیدوز یکی از روش‌هایی است که با بررسی‌های سرولوژیکی به موقع می‌توان اثرات سودمندی در درمان سریع بیماری ایجاد نمود. تهیه آنتی‌ژن با منشأ انسانی مشکل است و از نظر مالی (خرید کیت تشخیص) نیز هزینه‌بر است (۸). اگر تشخیص سرولوژیکی با استفاده از آنتی‌ژن حیوانی در مقایسه با آنتی‌ژن انسانی، قابل اتکا و از درصد اعتماد بالایی برخوردار باشد، طراحی کیت تشخیصی با این نوع آنتی‌ژن می‌تواند روشی ساده، ارزان و در دسترس باشد. بیشتر آزمایش‌های سرولوژیک در تشخیص بیماری هیداتیدوز از مشکلات خاص، محدودیت‌ها، حساسیت و ویژگی‌های متفاوتی برخوردار هستند. برخی از این آزمایش‌ها به قابلیت‌های تکنیکی خاص و پرسنل مجرب نیاز دارند. تکنیک ELISA با آنتی‌ژن B مایع کیست هیداتیک در مقایسه با سایر آنتی‌ژن‌ها بیشترین حساسیت را دارد (۹). آزمایش ELISA برای اولین بار توسط فاراگ در تشخیص سرولوژیکی کیست هیداتیک به کار رفت (۱۰). در مطالعات مختلف حساسیت آزمون ELISA به طور متوسط ۹۰-۶۰ درصد و ویژگی آن ۹۰-۷۵ مشخص شده است که بسته به نوع آنتی‌ژن، روش تهیه آن، منطقه جغرافیایی انجام آزمایش و بیماری‌های آندمیک منطقه متفاوت می‌باشد (۱۳-۱۱).

گاهی اوقات واکنش متقاطع در آزمایش‌های سرولوژیکی رخ می‌دهد و دقت تشخیص را کاهش می‌دهد که می‌توان با انجام آزمون ایمونوبلات، با ویژگی بالا به عنوان یک آزمایش تکمیلی همراه با ELISA تشخیص را تأیید نمود (۱۱). از سوی دیگر هم، هر کدام از آنتی‌ژن‌ها دارای فراکشن‌های مختلف هستند. به طور مثال آنتی‌ژن B دارای فراکشن‌های ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۸ کیلودالتونی است که حساسیت هر کدام از آن‌ها

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

در تشخیص بیماری می‌تواند متفاوت باشد. این فراکشن‌ها نیز در هر حیوانی دارای حساسیت‌های متفاوتی هستند (۹). از این رو یافتن آنتی‌ژنی که در پاسخ به سرم حیوانات مختلف دارای فراکشنی با حساسیت و ویژگی بالا باشد، پیشرفت چشمگیری در خصوص ابداع یک روش ارزان و تکامل یک کیت ساده محسوب می‌شود. از طرف دیگر، هر کدام از کلاس‌ها و زیرکلاس‌های برخی از ایمونوگلوبولین‌ها، نقش ویژه‌ای در تشخیص بیماری هیداتیدوز دارند که یافتن نوع آنتی‌ژن و کلاس مناسب آنتی‌بادی نیز کمک‌کننده می‌باشد (۱۴).

اما آیا در انسان و موش واکنش متقاطع به آنتی‌ژن‌های مایع کیست وجود دارد یا خیر؟ کدام آنتی‌ژن بالاترین پاسخ آنتی‌بادی انسانی را به خود اختصاص می‌دهد؟ در چه محدوده‌ای، کدام ایمونوگلوبولین برای این پاسخ‌ها ارجح‌تر است؟ این سؤالات موضوع بحث مطالعه حاضر است.

روش‌ها

این مطالعه از نوع تحلیلی می‌باشد. نمونه‌های مورد آزمایش، نمونه‌های مایع کیست هیداتیک موش و انسان است که به عنوان منبع آنتی‌ژن مورد استفاده قرار گرفت. از نمونه‌های سرمی موش و انسان نیز به عنوان آنتی‌بادی استفاده شد.

الف) روش تهیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک

مایع کیست هیداتیک تازه جمع‌آوری شده از کیست‌های هیداتیک بارور انسان و موش با نیروی g × ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. این عمل باعث رسوب پروتواسکولکس‌ها و ذرات معلق گردید. مایع رویی جدا شد. سپس در لوله‌های فالکون استریل نگهداری گردید. از مایع جمع‌آوری شده کیست هیداتیک گوسفند به خاطر استحصال پروتواسکولکس‌های سالم جهت تزریق به موش‌ها و ایجاد عفونت ثانویه در موش‌ها نیز استفاده شد که در این مورد مایع به مدت ۳-۲ دقیقه با سرعت g ۱۵۰۰ سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی نمونه‌ها با استفاده از انجماد و ذوب مکرر در تانک ازت مایع هموژنیزه شد. سپس محلول حاصل به وسیله دستگاه سونیکاتور که روی ۵۰ سیکل بر ثانیه و ماگزیمم تن ۳۰ ثانیه تنظیم شده بود، در حمام یخ برای ۴ بار سونیکه شد (۱۵). در مرحله بعد به منظور تغلیظ پروتئین‌ها، عمل دیالیز انجام شد (۸). سپس عصاره‌های سوماتیک دیالیز شده در این مرحله با روش براد فورد مورد سنجش پروتئین قرار گرفت (۱۶). این مایع به عنوان منبع آنتی‌ژن مایع جهت اقدامات بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

پروتواسکولکس‌های ته‌نشین شده جهت انجام آزمایش وایابلیتی (باروری) به لوله‌های استریل منتقل شد.

ب) روش آماده‌سازی کیسه‌های دیالیز:

به منظور حذف املاح و مولکول‌های کوچک از مایع هیداتیک، ابتدا قطعات مورد لزوم از تیوب دیالیز با نقطه برش (Cut off) ۱۲ کیلودالتون بریده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در آب مقطر جوشانده شد تا حالت چسبندگی کیسه از بین برود و دو انتهای آن کاملاً باز شود. سپس با اطمینان حاصل کردن از عدم پارگی کیسه‌ها، بعد از ریختن مایع کیست هیداتیک به داخل تیوب و گره زدن دو طرف آن، به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مقابل آب مقطر دیالیز گردید. روزی ۳ مرتبه آب مقطر داخل ظروف تعویض شد.

ج) آلوده کردن موش‌ها جهت به دست آوردن مایع کیست هیداتیک

مدل آزمایشگاهی کیست هیداتیک در موش به وسیله محققین مختلف طراحی شده است (۱۸، ۱۷، ۱۳). مطالعات قبلی نشان دادند که موش‌های بالب- سی (Balb/C) حساسیت بالایی نسبت به عفونت کیست هیداتیک دارند و برای مطالعات ایمونولوژیک این انگل مناسب‌تر می‌باشند (۱۲). موش‌های بالب- سی و موش سوری مورد استفاده در این تحقیق، از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. در این مطالعه از سه گروه ده تایی از موش‌های بالب- سی که سن آنان ۶ هفته و از جنس نر بودند، استفاده شد. برای مقایسه وضعیت پاسخ‌دهی سیستم ایمنی و مدت زمان تشکیل

کیست، نیز ۳۰ سر موش سوری نر به همراه موش‌های بالب- سی، مورد آزمایش قرار گرفتند.

ایمن کردن موش‌ها بر اساس روش (Wulamu mamuti) با تغییرات مختصری به شرح زیر انجام شد (۸).

ابتدا موش‌ها از حیوان‌خانه خارج شدند و به محل آزمایشگاه جهت انجام عملیات واکسیناسیون و تلقیح منتقل شدند. سپس گروه‌بندی آن‌ها صورت گرفت. برای انجام عمل تلقیح، هر کدام از موش‌ها در داخل رک مخصوص قرار گرفتند.

گروه مورد ۱: موش‌ها ابتدا به صورت تزریق داخل صفاقی، ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌ژن مایع کیست هیداتیک که به روش Lightowlers آماده‌سازی شده بود و حاوی ۱۰ میکرولیتر پنی‌سیلین و استرپتومایسین برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها و ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل فروند بود، دریافت نمودند (۱۹). ۴ هفته بعد تزریق مشابه ولی با ادجوانت ناکامل فروند دریافت نمودند. ۲ هفته پس از آخرین تزریق مقدار ۲۰۰ میکرولیتر مایع کیست هیداتیک که حاوی ۲۰۰۰ عدد پروتواسکولکس زنده بود، دریافت نمودند.

گروه مورد ۲: تزریق داخل صفاقی، ۱۰۰ میکرولیتر آنتی‌ژن سطحی گوسفندی استخراج شده به همراه ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل فروند دریافت کردند. چهار هفته بعد، ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت ناکامل فروند به همراه ۱۰۰ میکرولیتر آنتی‌ژن به عنوان یادآور به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه شاهد: گروه شاهد با تزریق داخل صفاقی ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل فروند و ۱۰۰ میکرولیتر فسفات بافر سالین (PBS یا (Phosphate buffered saline) واکسینه شدند. چهار هفته بعد نیز ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت ناکامل فروند با ۱۰۰ میکرولیتر PBS به عنوان یادآور به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق گردید.

د) تهیه نمونه‌های سرم:

نمونه‌های سرم از بیماران مبتلا به کیست هیداتید که ابتلای آن‌ها به بیماری توسط پزشک معالج و انجام آزمایشات سرولوژیکی مربوطه قطعی شده بود، جمع‌آوری شدند. نمونه‌های سرم مثبت موش نیز از موش‌های ایمن شده تهیه شدند. نمونه‌های سرم شاهد منفی نیز از افراد سالم و موش‌های سالم که پیشتر تهیه و نگهداری شده بودند، تهیه شدند.

تعیین غلظت آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان

ابتدا با استفاده از بافر PBS استریل و محلول کار براد فورد، رقت‌های مختلفی از آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان تهیه گردید. OD رقت‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت و ثبت شدند. سپس غلظت آنتی‌ژن محاسبه شد و از طریق نمودار مربوطه کنترل گردید. غلظت آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان ۱/۲ میکروگرم برای هر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

روش انجام ELISA

پس از تهیه آنتی‌ژن به نسبت خالص، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون آنتی‌ژن (با غلظت ۷/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) و بافر کوت‌کننده کربنات (۱ مولار، pH = ۹/۶) تهیه و به همه چاهک‌های ظرف پلی‌استیرینی اضافه شد. سپس ظرف به مدت یک شب در ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از شستشو ۲۰۰ میکرولیتر محلول مسدودکننده بافر TBST (Tris buffered salin ،tween ۲۰) همراه با شیر خشک بدون چربی ۱ درصد به چاهک‌ها اضافه شدند. سپس ظرف به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از شستشو، سرم با رقت ۱:۱۰۰ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از شستشوی دوباره و اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر آنتی‌بادی‌های کنژوگه با HRP (Horseradish peroxidase) Invitrogen با رقت ۱:۱۰۰۰ به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. دوباره پس از شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای (ABTS) [2,2′-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)]. تهیه شده از شرکت سیگما با غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در

میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. قبل از ریختن محلول ABTS به چاهک‌ها، مقدار ۵ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد به ازای ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ABTS، به چاهک‌ها اضافه شد و بعد از به هم زدن، سریع و با ترتیب منظم به درون هر یک از چاهک‌ها ABTS ریخته شد. درب پلیت بسته و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. واکنش بعد از مدت ۱۵ دقیقه انکوباسیون، با افزودن ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده اسید سولفوریک ۲ نرمال به ازای هر چاهک به پایان رسید. میزان جذب نوری (OD یا Optical density) در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه سنجش ELISA (ELISA-reader، مدل ۶۵۰، Bio-Rad) اندازه‌گیری شد.

برای تعیین سطح حداقل (Cut off) در این تحقیق، از تعداد ۳۰ نمونه سرم برای انسان و موش که قطعاً فاقد بیماری کیست هیداتیک بودند، استفاده شد. برای این نمونه‌ها، آزمایش ELISA گرفته شد. سپس از میزان جذب این نمونه‌ها، میانگین و انحراف معیار محاسبه شد. در آخر میانگین به اضافه دو برابر انحراف معیار به عنوان سطح حداقل تعیین شد.

یافته‌ها

آلودگی موش‌های سوری و بالب- سی

از تعداد ۱۰ سر موش سوری مورد تزریق با پروتواسکولکس‌های تازه جدا شده از مایع کیست‌های هیداتیک کبدی و ریوی گوسفند، هر ۱۰ سر (۱۰۰ درصد) پس از گذشت مدت زمان ۹–۶ ماه، آلوده شدند. بهترین و بیشترین میزان آلودگی تشکیل کیست هیداتیک در ناحیه کبد و بعد در ناحیه شکمی نمایان گردید. در حالی که برای موش‌های بالب- سی از تعداد ۱۰ موش تزریق شده پس از مدت زمان ۹–۶ ماه، فقط (۳۳/۳۳ درصد) آلوده شدند. بیشترین موضع آلودگی کیست هیداتیک، کیست کبدی و شکمی بود. طولانی‌ترین مدت زمان برای آلودگی موش بالب- سی ۹ ماه و کوتاه‌ترین زمان، ۶ ماه بود. بهترین موضع کیست ایجاد شده، کیست شکمی بود.

آزمون ELISA: پاسخ آنتی‌بادی‌های انسانی در دو گروه مورد و شاهد به آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان

میانگین OD آنتی‌بادی‌های انسانی علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان در یک گروه مورد ۳۰ نفره از افراد مبتلا به کیست هیداتیک که این بیماران جراحی شدند، به روش ELISA مورد ارزیابی قرار گرفتند. در بین زیرکلاس‌های IgG بالاترین میزان میانگین OD در پاسخ به آنتی‌زن مایع کیست هیداتیک انسانی مربوط به IgG۴ و پایین‌ترین میانگین OD مربوط به IgG۳ بود (جداول ۱ و ۲). میانگین به دست آمده از تمامی آنتی‌بادی‌ها در پاسخ به آنتی‌ژن انسانی بالاتر از میزان محاسبه شده Cut off برای آن‌ها بود. بنابراین همه نمونه سرم‌ها مثبت تلقی می‌شوند. با انجام آنالیز واریانس برای داده‌های به دست آمده، مشاهده گردید که اختلاف میانگین OD آنتی‌بادی‌های انسانی علیه آنتی‌ژن مایع کیست هیداتیک از نظر آماری کاملاً معنی‌دار است ($P < ۰/۰۰۱$)؛ به عبارت دیگر، پاسخ ایمنی هومورال انسانی علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک از نظر نوع آنتی‌بادی کاملاً متفاوت می‌باشد. بهترین پاسخ در بین زیرکلاس‌های IgG مربوط به IgG۴ می‌باشد، اما IgE هم پاسخی بالاتر از دیگر زیرکلاس‌های IgG داده است (جدول ۲).

جدول ۱: نتایج ELISA گروه شاهد، کوتینگ با آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک

Ab	OD Mean	Std.Deviation	Min	Max	Number	Range	Cut off
IgG	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۱۱	۲۴	۰/۱	۰/۰۸
IgG۲	۰/۰۴	۰/۰۴	۰	۰/۱۳	۲۴	۰/۱۳	۰/۱۲
IgG۳	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۱۲	۲۴	۰/۱۲	۰/۱۱
IgG۴	۰/۰۹	۰/۰۴	۰	۰/۱۵	۲۴	۰/۱۵	۰/۱۵
IgE	۰/۰۲	۰/۰۴	۰	۰/۰۶	۲۴	۰/۰۶	۰/۰۶

$P = ۰/۰۰۱$، $F = ۱۵/۹۸$

جدول ۲: نتایج ELISA گروه مورد، فرایند کوتینگ با آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان

Ab	OD Mean	Std.Deviation	Min	Max	Number	Range	Cut off
IgG	۰/۴۲	۰/۰۲	۰/۳۹	۰/۴۷	۲۸	۰/۰۸	۰/۰۸
IgG۲	۰/۳۴	۰/۰۴	۰/۲۲	۰/۴۱	۳۰	۰/۱۹	۰/۱۲
IgG۳	۰/۱۶	۰/۰۴	۰/۱۲	۰/۳۸	۳۰	۰/۲۶	۰/۱۱
IgG۴	۱/۵۸	۰/۱۸	۱/۳۱	۱/۹۹	۳۰	۰/۶۸	۰/۱۵
IgE	۰/۴۹	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۷۶	۳۰	۰/۶۲	۰/۰۶

P < ۰/۰۰۱، F = ۷۲۵/۳۸

در بررسی پاسخ IgG تام انسانی به آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی با استفاده از آزمون ELISA، در بین گروه‌های مورد و شاهد حساسیت آزمایش با استفاده از انتقال نقاط برش OD، ۱۰۰ درصد و ویژگی آن برابر ۹۵/۸ درصد محاسبه گردید.

آزمون ELISA: پاسخ آنتی‌بادی‌های موش در دو گروه مورد و شاهد به آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان

در ادامه بررسی، نحوه واکنش آنتی‌بادی‌های IgG، IgE، IgGAM و زیرکلاس IgG2b در موش‌های بالب- سی و سوری به آنتی‌ژن‌های خام مایع کیست هیداتیک انسانی با آزمون ELISA مورد ارزیابی قرار گرفتند. این موش‌ها از طریق تزریق پروتواسکولکس‌های استحصال شده، مبتلا به عفونت ثانویه کیست هیداتیک شده بودند و وجود کیست‌ها بعد از ۹-۶ ماه از طریق جراحی اثبات گردید. در این بررسی، آنتی‌بادی پلی‌کلونال IgGAM بیشترین پاسخ را علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی نسبت به دیگر آنتی‌بادی‌ها از خود نشان داد. اما در بین آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، IgG2b بالاترین میزان OD را نشان داد. با توجه به این که میانگین ODهای به دست آمده بالاتر از میزان Cut off محاسبه شده می‌باشد، از این رو تمام نمونه‌ها مثبت تشخیص داده شدند (جداول ۳ و ۴). انجام آنالیز واریانس، تفاوت معنی‌دار بین میزان میانگین OD آنتی‌بادی‌های موشی علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی نشان داد (P < ۰/۰۰۱). میزان حساسیت و ویژگی محاسبه شده برای پاسخ آنتی‌بادی‌های IgE، IgG تام، IgGAM و زیرکلاس IgG2b موش علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان در آزمون ELISA ۱۰۰ درصد تعیین گردید.

جدول ۳: میانگین OD پاسخ آنتی‌بادی‌های موش‌های سوری و Balb/C علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان (گروه شاهد)

Ab	OD Mean	Std.Deviation	Min	Max	Number	Range	Cut off
IgG	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۴	۳۰	۰/۰۳	۰/۰۴
IgG2b	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۵	۳۰	۰/۰۴	۰/۰۵
IgE	۰/۰۲	۰/۰۱	۰	۰/۰۴	۳۰	۰/۰۴	۰/۰۴
IgGAM	۰/۰۳	۰/۰۲	۰	۰/۰۷	۳۰	۰/۰۶	۰/۰۷

P = ۰/۱۴۶، F = ۱/۸۹

OD: Optical density

جدول ۴: میانگین OD پاسخ آنتی‌بادی‌های موش‌های سوری و Balb/C علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان (گروه مورد)

Ab	OD Mean	Std.Deviation	Min	Max	Number	Range	Cut off
IgG	۰/۱۸	۰/۰۳	۰/۱۵	۰/۲۶	۳۰	۰/۱۲	۰/۰۴
IgG2b	۰/۴۶	۰/۰۶	۰/۴۲	۰/۶۷	۳۰	۰/۲۶	۰/۰۵
IgE	۰/۲۵	۰/۰۳	۰/۲۱	۰/۳	۳۰	۰/۰۹	۰/۰۴
IgGAM	۰/۸۴	۰/۰۵	۰/۷۵	۰/۹۱	۳۰	۰/۱۶	۰/۰۷

P = ۰/۰۰۱، F = ۶۴۵/۱

جدول ۵: میانگین OD پاسخ آنتی‌بادی‌های انسان علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک موش (گروه مورد)

Ab	OD Mean	Std.Deviation	Min	Max	Number	Range	Cut off
IgG	۰/۷۱	۰/۱۴	۰/۴۹	۰/۹۹	۳۰	۰/۵	۰/۰۶
IgG۲	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۱۲	۰/۱۷	۳۰	۰/۰۵	۰/۱۲
IgG۳	۰/۱۲	۰/۰۰۴	۰/۱۱	۰/۱۲	۳۰	۰/۰۱	۰/۱۶
IgG۴	۰/۲۹	۰/۳۶	۰/۰۷	۰/۹۷	۳۰	۰/۹	۰/۰۴
IgE	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۱	۰/۱۴	۳۰	۰/۰۴	۰/۱۱

جداول ۵ و ۶ داده‌های مربوط به میانگین OD پاسخ آنتی‌بادی‌های انسان علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک موش را در دو گروه مورد و شاهد نشان می‌دهند. بیشترین مقدار OD مربوط به پاسخ IgG تام و IgG۴ علیه آنتی‌ژن موش است. در بررسی شدت پاسخ IgG تام انسانی به آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک موش بالب- سی و سوری به روش ELISA در بین گروه‌های مورد و شاهد، حساسیت آزمایش با استفاده از انتقال نقاط برش میانگین ODها، برابر ۱۰۰ درصد و ویژگی آن نیز ۱۰۰ درصد محاسبه گردید. همچنین حساسیت و ویژگی برای پاسخ IgG۲ انسانی به آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک موش‌ها با استفاده از روش ELISA در بین گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب برابر ۹۰ و ۱۰۰ درصد محاسبه گردید. این نسبت‌ها برای IgG۳ و IgG۴ به ترتیب برابر ۱۰۰ درصد حساسیت و ۱۰۰درصد ویژگی و برای پاسخ IgE انسان علیه آنتی‌ژن خام مایع هیداتیک موش‌ها، حساسیت و ویژگی آزمایش ELISA به ترتیب برابر ۷۰ و ۱۰۰ درصد تعیین شد.

جدول ۶: میانگین OD پاسخ آنتی‌بادی‌های انسان علیه آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک موش (گروه شاهد)

Ab	OD Mean	Std.Deviation	Min	Max	Number	Range	Cut off
IgG	۰/۰۲	۰/۰۲	۰	۰/۰۴	۳۰	۰/۰۴	۰/۰۶
IgG۲	۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۱۱	۳۰	۰/۰۹	۰/۱۲
IgG۳	۰/۰۴	۰/۰۴	۰	۰/۱۳	۳۰	۰/۱۳	۰/۱۶
IgG۴	۰/۰۲	۰/۰۱	۰	۰/۰۴	۳۰	۰/۰۴	۰/۰۴
IgE	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۹	۳۰	۰/۰۸	۰/۱۱

با انجام آزمون Post Hoc، ارتباط بین پاسخ IgG تام انسان علیه آنتی‌ژن موش از نظر آماری معنی‌دار به دست آمد (P < ۰/۰۰۱). همچنین آزمون Post Hoc برای بررسی ارتباط بین آنتی‌ژن‌ها با یکدیگر در پاسخ به IgG تام موش مورد ارزیابی قرار گرفت که حاصل آن وجود رابطه معنی‌دار بین آنتی‌ژن انسان با آنتی‌ژن موش (P < ۰/۰۱۸) بود.

بحث

آلودگی موش‌ها

بررسی کیست هیداتیک در حیوانات مختلف از آن جهت مهم می‌باشد که این بیماری انگلی در طیف وسیعی از میزبانان واسط انتشار دارد. خود این حیوانات قادرند سیکل این بیماری مهلک را در طبیعت حفظ نمایند اما مطالعه انگل در این حیوانات کاری بس دشوار است. اکثر محققان برای بررسی رشد کیست هیداتیک در حیوانات آزمایشگاهی، از پروتواسکولکس که کم‌خطر می‌باشد، استفاده می‌نمایند. یکی از ساده‌ترین راه‌ها برای مطالعه خصوصیات فیزیولوژیکی، ایمونولوژیکی و اثرات پیش‌گیری و درمانی انگل، مطالعه بر روی موش‌های آزمایشگاهی است. برای این منظور آلوده کردن موش آزمایشگاهی بهترین راه است اما شکلی که فرا روی محقق وجود دارد طولانی بودن زمان آلودگی است که به طور معمول برای موش‌های Balb/C بین ۹–۳ ماه می‌باشد. از طرف دیگر موش بالب- سی هم گران و هم حساس است. از این رو نگهداری آن نیز دشوار است. اما مطالعاتی که تاکنون برای آلودگی موش صورت گرفته است، بیشتر در موش‌های بالب- سی صورت گرفته است (۲۰–۱۸). دلیل انتخاب موش بالب- سی برای آلودگی، حساسیت بالای حیوان نسبت به عفونت کیست هیداتیک می‌باشد. همچنین برای مطالعات ایمونولوژیک انگل مناسب می‌باشد (۱۳). آزمایش انجام شده توسط رفیعی و Craig، مشخص نمود که کیست هیداتیک ایجاد شده در موش بالب- سی، به صورت توده‌های سفید رنگ به اندازه ۳–۲ میلی‌متر و بیشتر از نوع کیست شکمی می‌باشد. میزان آلودگی موش به کیست هیداتیک نیز بعد از ۴۶ هفته ۹۲ درصد گزارش شد (۲۱). در صورتی که مطالعه ما نشان می‌دهد که در موش‌های بالب- سی بالاترین میزان آلودگی در ناحیه کبد است و تشکیل اولیه کیست و آلوده شدن موش‌ها در مدت زمان ۳ ماهگی آشکار می‌شود. اما استحصال مایع کیست در ۹ ماهگی و بعد از آن صورت گرفت. میزان آلودگی آنان به کیست هیداتیک ۳۳/۳ درصد است که رقم بالایی نمی‌باشد. آن چه به نظر می‌رسد در این مطالعه امتیازی محسوب گردد، توفیق در آلودگی بیشتر و بهتر موش‌های سوری است که دلیل آن دو نکته می‌تواند باشد. اول استحصال پروتواسکولکس‌های زیاد از جداره داخلی کیست هیداتیک گوسفندی در نمونه‌ای که قرار است به موش تزریق شود. دوم تزریق یادآوری به موش‌ها که در فاصله هفتگی صورت گرفت و باعث آلودگی بیشتر و بهتر موش‌ها گردید. در حالی که محققانی همچون Dempster و همکاران عنوان نمودند که موش بالب- سی بهترین موش برای مطالعات تحقیقاتی در هیداتیدوز است (۱۳)، تحقیق حاضر اثبات کرد که موش سوری در شرایط مساعد به مراتب نتایج بهتری را ارایه می‌نماید.

ELISA

در پاسخ سرم انسان به آنتی‌ژن‌های خام مایع کیست هیداتیک انسانی، بالاترین پاسخ مربوط به زیرکلاس IgG۴ بود که این نتایج با نتایج Siracusano و همکاران (۲۲)، Dreweck و همکاران (۲۳) و Grimm و همکاران (۲۴)، Sbihi و همکاران (۲۵) و Khabiri و همکاران (۲۶) همخوانی داشت. IgG۴ انسانی علیه آنتی‌ژن موش نیز پاسخ بالاتر از بقیه زیرکلاس‌ها نشان داد. بنابراین می‌توان به راحتی در خصوص این که بیشترین میانگین OD ایجاد شده مربوط به IgG۴ و IgG تام علیه این دو آنتی‌ژن متفاوت می‌باشد، اظهار نظر نمود. مثل این که Cross–reaction پاسخ‌های سرم انسانی علیه هر دو آنتی‌ژن مایع کیست هیداتیک انسان و موش وجود دارد. اما نکته قابل توجه میزان OD یا شدت پاسخ است که در آنتی‌ژن‌های بررسی شده به

شرح زیر می‌باشد (شدت واکنش برابر است با OD علیه هر آنتی‌ژن تقسیم بر Cut off آن آنتی‌ژن). شدت پاسخ IgG۴ انسانی به آنتی‌ژن انسانی و موشی با

آنتی‌ژن انسان: ۱۰/۵ ≈ ۰/۱۵ / ۱/۵۸،

آنتی‌ژن موش: ۷/۲۵ ≈ ۰/۰۴ / ۰/۲۹ برابر است.

همان گونه که از محاسبات فوق پیدا است، شدت پاسخ آنتی‌بادی انسانی علیه آنتی‌ژن انسان بالاتر از آنتی‌ژن موش است اما این نکته به هیچ وجه ارزش آنتی‌ژن موش را که OD آنتی‌بادی انسان علیه آن ۷ برابر بالاتر از Cut off است را از بین نمی‌برد. مزیت این مطالعات نیز همین است که بر اساس نتایج اگر نتوان از آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان استفاده نمود، کیست هیداتیک موش نیز دارای ارزش بالایی می‌باشد. در شرایط طبیعی ۷ برابر Cut off مربوط، ایجاد پاسخ می‌نماید. بنابراین انتخاب مناسبی برای طراحی کیت‌های تشخیص در مقیاس‌های کوچک متناسب با نیاز و توانمندی منطقه می‌باشد.

این شدت پاسخ برای IgG تام هم به شرح زیر محاسبه شد.

IgG انسانی به آنتی‌ژن انسانی: ۵/۲۵ = ۰/۰۸ / ۰/۴۲

IgG انسانی به آنتی‌ژن موش: ۱۲ = ۰/۶ / ۰/۷۲

همان گونه که مشخص است شدت پاسخ IgG انسانی به آنتی‌ژن موش بیشتر از آنتی‌ژن انسانی است و حتی بیش از دو برابر آنتی‌ژن انسانی است.

نکته دیگر که آن هم قابل توجه است، حساسیت و ویژگی آزمایش‌های تشخیص است که در مطالعه حاضر مدنظر قرار گرفت. همان گونه که پیش‌تر ذکر شد، برای IgG۴ و آنتی‌ژن‌های مختلف حساسیت ۱۰۰ درصد به دست آمد. ویژگی نیز رقم بسیار قابل قبولی به دست آمد. به عنوان یک نتیجه کلی در این مبحث می‌توان گفت که فرضیات مطالعه ما به اثبات رسید. واکنش متقاطع بین آنتی‌ژن‌های مختلف به وجود می‌آید. به گونه‌ای که می‌توان از یک آنتی‌ژن خاص که دارای شرایط لازم برای ایجاد پاسخ سرم انسانی است، استفاده نمود. این آنتی‌ژن که می‌تواند آنتی‌ژن مایع کیست هیداتیک انسان یا موش باشد، از حساسیت و ویژگی خاص خود نیز برخوردار است. اگر بهترین پاسخ و بالاترین شدت پاسخ مد نظر قرار گیرد، به طور قطع آنتی‌ژن انسان با استفاده از IgG۴ به عنوان انتخاب اصلی و آنتی‌ژن موشی با استفاده از IgG تام به عنوان آنتی‌بادی رفرانس مدنظر قرار می‌گیرد. مطالعاتی که توسط Sbihi و همکاران انجام شدند، نیز نتایج این مطالعه را تأیید می‌نمایند (۲۵). در این مطالعات آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی و آنتی‌ژن B به عنوان منبع آنتی‌ژنی است که آنتی‌بادی‌های تام IgG و IgE علیه آنتی‌ژن‌های مورد نظر دارای بیشترین پاسخ ایمونولوژیک هستند (۲۵). در مطالعه‌ای که توسط Grimm و همکاران بر روی آنتی‌ژن خام مایع کیست هیداتیک بیماران مبتلا به هیداتیدوز صورت گرفت، دریافتند که به ترتیب IgG۴ بیشترین پاسخ و نسبت به IgG۲ و IgG۳ کمترین پاسخ را علیه آنتی‌ژن‌های خام و تخلیص شده مایع کیست هیداتیک، ایجاد می‌نماید (۲۴). نتایج این مطالعات نشان دادند که مطالعه کنونی می‌تواند فصل خطابی برای انتخاب آنتی‌ژن و آنتی‌بادی در طراحی کیت تشخیصی باشد.

نتیجه‌گیری

آنتی‌ژن مایع کیست هیداتیک انسان و موش واکنش متقاطع دارند. در مواردی آنتی‌ژن موش ارجحیت دارد و می‌تواند در طراحی کیست هیداتیک مورد استفاده قرار گیرد. در طراحی کیت‌های تشخیصی می‌توان از IgG تام و IgG۴ استفاده نمود. موش‌های سوری می‌توانند مورد مناسبی برای آلودگی‌های تجربی باشند.

References

1. Roberts LS, Schmidt GD, Janovy J. Foundations of Parasitology. 7th ed. New York: McGraw-Hill Higher Education; 2005. p. 338-41.
2. Thompson RC. Biology and systematic of Echinococcus. In: Thompson RC, Lymbery AJ, Editors. Echinococcus

and hydatid disease. Oxford: CAB International; 1995. p. 1-50.
3. Todorov T, Boeva V. Human echinococcosis in Bulgaria: a comparative epidemiological analysis. Bull World Health Organ 1999; 77(2): 110-8.
4. Eslami A. Veterinary Helmintology, Cestodes. 3rd ed. Tehran: University of Tehran Publication; 2005.
5. Scantz PM, Chai J, Echert A, Craig PS. Epidemiology and control of hydrated disease. In: Thompson RC, Lymbery AJ, Editors. Echinococcus and hydatid disease. Oxford: CAB International; 1995. p. 232-74.
6. Mobedi I, Dalimi Asl A. Epidemiology of Hydatid Cyst in Iran and World. Tehran: Moghaddam Publication; 1994. p. 132-47.
7. McManus DP, Smyth JD. Hydatidosis: changing concepts in epidemiology and speciation. Parasitol Today 1986; 2(6): 163-8.
8. Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus Echinococcus identified by mitochondrial DNA sequencing. Mol Biochem Parasitol 1992; 54(2): 165-73.
9. Bowles J, McManus DP. Rapid discrimination of Echinococcus species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. Mol Biochem Parasitol 1993; 57(2): 231-9.
10. Bowles J, Blair D, McManus DP. Molecular genetic characterization of the cervid strain ('northern form') of Echinococcus granulosus. Parasitology 1994; 109(Pt 2): 215-21.
11. Thompson RC, McManus DP. Towards a taxonomic revision of the genus Echinococcus. Trends Parasitol 2002; 18(10): 452-7.
12. Thompson RC, Lymbery AJ, Constantine CC. Variation in Echinococcus: towards a taxonomic revision of the genus. Adv Parasitol 1995; 35: 145-76.
13. Dempster RP, Berridge MV, Harrison GB, Heath DD. Echinococcus granulosus: development of an intermediate host mouse model for use in vaccination studies. Int J Parasitol 1991; 21(5): 549-54.
14. Pednekar RP, Gatne ML, Thompson RC, Traub RJ. Molecular and morphological characterisation of Echinococcus from food producing animals in India. Vet Parasitol 2009; 165(1-2): 58-65.
15. Lavikainen A, Lehtinen MJ, Meri T, Hirvela-Koski V, Meri S. Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of Echinococcus granulosus. Parasitology 2003; 127(Pt 3): 207-15.
16. Eckert J, Thompson RC. Intraspecific variation of Echinococcus granulosus and related species with emphasis on their infectivity to humans. Acta Trop 1997; 64(1-2): 19-34.
17. Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakaya K, Nakao M, Lightowlers MW, et al. Usefulness of hydatid cyst fluid of Echinococcus granulosus developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic Echinococcosis in humans. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9(3): 573-6.
18. Zhang W, You H, Li J, Zhang Z, Turson G, Aili H, et al. Immunoglobulin profiles in a murine intermediate host model of resistance for Echinococcus granulosus infection. Parasite Immunol 2003; 25(3): 161-8.
19. Lightowlers MW, Liu DY, Haralambous A, Rickard MD. Subunit composition and specificity of the major cyst fluid antigens of Echinococcus granulosus. Mol Biochem Parasitol 1989; 37(2): 171-82.
20. Fotiadis C, Sergiou C, Kirou J, Troupis TG, Tselentis J, Doussaitou P, et al. Experimental echinococcus infection in the mouse model: pericystic cellular immunity reaction and effects on the lymphoid organs of immunocompetent and thymectomized mice. In Vivo 1999; 13(6): 541-6.
21. Rafee A, Craig PS. Echinococcos Granulosis in Laboratoral animals. Journal of Veterinary Research 2003; 58(3): 227-30.
22. Siracusano A, Buttari B, Delunardo F, Profumo E, Margutti P, Ortona E, et al. Critical points in the immunodiagnosis of cystic echinococcosis in humans. Parassitologia 2004; 46(4): 401-3.
23. Dreweck CM, Luder CG, Soboslay PT, Kern P. Subclass-specific serological reactivity and IgG4-specific antigen recognition in human echinococcosis. Trop Med Int Health 1997; 2(8): 779-87.
24. Grimm F, Maly FE, Lu J, Llano R. Analysis of specific immunoglobulin G subclass antibodies for serological diagnosis of Echinococcosis by a standard enzyme-linked immunosorbent assay. Clin Diagn Lab Immunol 1998; 5(5): 613-6.
25. Sbihi Y, Janssen D, Osuna A. Specific recognition of hydatid cyst antigens by serum IgG, IgE, and IgA using western blot. J Clin Lab Anal 1997; 11(3): 154-7.
26. Khabiri AR, Bagheri F, Assmar M, Siavashi MR. Analysis of specific IgE and IgG subclass antibodies for diagnosis of Echinococcus granulosus. Parasite Immunol 2006; 28(8): 357-62.

Cross Reaction of Human Antibody to Hydatid Cyst Fluid Antigens of Human and Mice

Afra Khosravi[1], Mortaza Shamsi[2], Ebrahim Babaahmadi[3], Kourosh Salyemiri[4], Kourosh Saki[5]

Abstract

Background: The aim of the current study was to assess the cross reaction of the crude hydatid cyst fluid (HCF) antigens of *Echinococcus granulosus*, obtained from mice experimentally infected with hydatid cyst and from naturally infected human using sera of infected human who had surgery at different hospitals in Iran.

Methods: hydatid cysts obtained from lungs and livers of naturally infected sheep slauthered from local abattoirs in Ilam, Iran. HCF recovered from cysts was centrifuged at 10000 rpm for 25 minutes. The supernatant was dialysed against PBS, freezed- thawed and used as crude HCF.

Findings: HCFs obtained from two different host species were highly useful for ELISA and most sera from CE patients equally recognized the HCF antigen of both mice and human. Mice sera showed a cross-reaction with human sera in recognition of HCF antigens of echinococcosis. IgG4 was the highest IgG subclass recognizing HCF of both mice and human HCF. Human IgG was high in response to both antigens while the OD ratio was two times using human IgG against mice antigen compared to human antigen.

Conclusion: IgG and IgG4 of human sera are reacting against both mice and human HCF with the greatest response from IgG total to mice HCF. Cross reaction of human IgG and IgG4 was observed for both mice and human HCF. Mice HCF can be relied on as an appropriate antigen in detection of human hydatidosis.

Key words: Hydatid Cyst, Hydatid cyst fluid (HCF), IgG, Cross reaction.

* This article derived from master thesis.

1- PhD, Department of Immunology, School of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. (Corresponding Author), Email: afra@medilam.ac.ir
2- MSc, Department of Parasitology, School of Veterinary Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.
3- Assistant Professor, PhD, Department of Pathology, School of Veterinary Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.
4- Assistant Professor, PhD, Department of Epidemiology, School of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran.
5- Assistant Professor, Department of Psychology, School of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran.