

بررسی مقدماتی پیرامون ایمن سازی گوساله گاومیش با استفاده از پادگن های تخم و آنکوسفر/کینوکوکوس گرانولوزوس

دکتر شاهرخ نویدپور^{۱*} دکتر ناصر حقوقی راد^۲ دکتر حبیباله پایکاری^۳

تاریخ دریافت: ۳۰ آذرماه ۱۳۸۱

تاریخ پذیرش: ۱۷ اسفندماه ۱۳۸۱

Perliminary study on immunisation of buffalo calf using the egg and oncosphere antigens of *Echinococcus granulosus*

Navidpour, S.,¹ Hoghooghi-Rad, N.,² Paaykari, H.³

¹Department of Parasitology, Razi Serum and Vaccine Research Institute Ahwas, Ahwaz - Iran. ²Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid-Chamran University of Ahwas, Ahwaz - Iran. ³Department of Parasitology, Razi Serum and Vaccine Research Institute Hesarake Karaj, Karaj - Iran.

Objective: Comparison of the effects of buffalo-originated *Echinococcus granulosus* egg and onchosphere antigens in preventing the establishment and development of hydatid cysts in buffalo.

Design: Clinical trial.

Animals: Nine male buffalo calves, 7-8 months of age.

Procedure: Collection of *E. granulosus* from dogs, orally infected with buffalo-originated viable protoscoloces, separation of eggs from the gravid proglottids, culture of eggs and collection of activated onchospheres, sonication the eggs and onchospheres and preparation their homogenized antigens, intramuscularly injection of each of these antigens, mixed with complete Freund's adjuvant (CFA) to two groups of 3 buffaloes, first injection of PBS plus CFA to controls, second injection, with the same materials to the cases and controls, after 6 weeks, challenging each case and control with 500 *E. granulosus* eggs and slaughtering all buffaloes after 10 months.

Statistical analysis: Analysis of variance, tukey test.

Results: The numbers of liver and lung hydatid cysts were significantly smaller than those of controls. Intestinal protection due to egg and onchosphere antigens were 84.5% and 89% respectively. Site protection of liver and lung against hydatid cyst establishment, achieved by the egg and onchosphere antigens were 45.3% and 53.37% respectively. Immunological protection due to egg and onchosphere antigens were 76.7% and 83.5% respectively, too. **Conclusion:** Antigens derived from the *E. granulosus* eggs and onchosphere are able to protect buffaloes against hydatidosis, although the protection potential of activated onchosphere antigen is much higher than the egg antigen. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 58, 2: 187-191, 2003.*

Key words: Egg antigen, Onchosphere antigen, Buffalo, *Echinococcus granulosus*, Immunisation.

corresponding author email: Navidpour@37.com

اهواز، ۷/۳۲ درصد گاومیشهای تبریز و ۸-۴ درصد گاومیشهای شیراز آلوده به کیست هیداتیک می باشند (۲،۳). به این ترتیب با توجه به اهمیت ابتلا دامهای مختلف به مراحل نوزادی سستوهای انگلی تحقیقات عیدیه‌ای در جهت دستیابی به روشهای مؤثر در ایمن کردن دامها به انجام رسیده است به گونه‌ای که براساس برخی گزارشهای پادگن های تهیه شده از تخم و آنکوسفر سستوهای انگلی ۱۰۰-۹۰ درصد محافظت را در دامهای مورد آزمایش ایجاد نموده است (۱،۳،۱۴،۶).

نتایج به دست آمده از مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف در خصوص ایمنی‌زایی علیه کیست هیداتیک به شرح فوق می باشد:

هدف: مقایسه تأثیر پادگن های استخراج شده از تخم و آنکوسفر فعال *کینوکوکوس گرانولوزوس* با منشأ گاومیش در جلوگیری از تشکیل و رشد کیست هیداتیک در گاومیشهای مورد مطالعه.

طرح: کارآزمایی بالینی.

حیوانات: نه رأس گوساله گاومیش نر ۷-۸ ماهه

روش: تهیه کینوکوکوس گرانولوزوس از سگ متعاقب خوراندن کیست هیداتیک گاومیش، جدا کردن تخم از بند بارور کرهها، کشت آزمایشگاهی تخم و تهیه آنکوسفر فعال، سونیکه کردن تخم و آنکوسفر فعال و تهیه پادگن هموزن از آنها، تزریق عضلانی یک میلی لیتر از پادگن های فوق همراه با یاورفروند به گاومیشها و تکرار تزریق با همان مقادیر قبلی ۶ هفته بعد به صورت زیر جلدی، آلوده کردن تجربی گاومیشها با ۵۰۰ عدد تخم *کینوکوکوس گرانولوزوس* و کشتار گاومیشها و بررسی امعا و احشا آنها ۱۰ ماه پس از آلودگی تجربی.

تجزیه و تحلیل آماری: تقسیم بندی گاومیشهای مورد مطالعه در سه گروه ۳ رأسی با کمک جدول تصادفی و مقایسه نتایج به دست آمده با استفاده از روش توکی و با درجه اطمینان ۹۹ درصد.

نتایج: تعداد کیستهای هیداتیک کبد و ریه در گاومیشهای ایمن شده با پادگن به طور معنی داری کمتر از گاومیشهای گروه شاهد بود ($P < 0.01$). محافظت روده‌ای حاصل از تزریق پادگن ۸۴/۵ درصد و در مورد پادگن آنکوسفر ۸۹ درصد به دست آمد و محافظت ایجاد شده در محل استقرار کیست (کبد و ریه) در مورد پادگن تخم ۴۵/۳ درصد و در مورد پادگن آنکوسفر ۵۳/۳۷ درصد بود که در هر مورد اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($P < 0.01$). ایمنی حفاظتی حاصل از تزریق پادگن تخم ۷۶/۷ درصد و در مورد پادگن آنکوسفر ۸۳/۵ درصد به دست آمد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان دادند که پادگن های تخم و آنکوسفر فعال توانایی ایجاد محافظت را علیه استقرار و رشد کیست هیداتیک در گاومیش داشته و توانایی پادگن آنکوسفر فعال در این خصوص بیشتر از پادگن تخم است. مجله

دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۲)، دوره ۵۸، شماره ۲، ۱۹۱-۱۸۷.

واژه‌های کلیدی: پادگن تخم، پادگن آنکوسفر، گاومیش، کینوکوکوس گرانولوزوس، ایمنی‌زایی.

کیست هیداتیک که در اثر خوردن تخم (*Echinococcus granulosus*) ایجاد می شود یکی از بیماریهای عفونی مهم با انتشار جهانی و پراکندگی جغرافیایی متفاوت است. اهمیت بهداشتی بیماری در جوامع بشری، هزینه‌های فراوان درمان و کنترل دارویی و همچنین خسارات اقتصادی ناشی از کاهش محصولات دامی حیوانات آلوده، که بنا بر برخی گزارشها بالغ بر میلیونها دلار است، باعث گردیده که محققین نقاط مختلف جهان توجه ویژه‌ای به آلودگی پیدا نمایند و تحقیقات عیدیه‌ای را در راستای پیشگیری و کنترل مؤثر آن انجام دهند (۳). مطالعات انجام شده در خصوص کیست هیداتیک در گاومیش نشان می دهد در بنگلادش، هند، پاکستان و عراق به ترتیب ۶۹/۶ درصد، ۴۸/۶ درصد، ۴۹ درصد و ۸/۸ درصد گاومیشها آلوده به کیست هیداتیک می باشند (۳).

در ایران مطالعات نشان می دهد که ۹/۶ و ۸/۵ درصد گاومیشهای ارومیه، ۱/۵۴ درصد گاومیشهای خوی، ۲۵/۰۱ و ۵۷/۷۶ درصد گاومیشهای

(۱) گروه انگل شناسی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه اهواز، اهواز - ایران.

(۲) گروه آموزشی انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.

(۳) گروه انگل شناسی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی حصارک کرج، کرج - ایران.

* نویسنده مسئول Navidpour@37.com



به منظور فعال کردن انکوسفر ابتدا سرم فیزیولوژی نمکی حاوی تخم برای مدت سه دقیقه در ۲۰۰۰ دور سانتیفریوژ شد سپس مایع رویی دور ریخته شد و به رسوب انتهایی در یک لوله در پیچدار شیره مصنوعی معده اضافه گردید. سپس به مدت یک ساعت در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سانتیفریوژ گردید. سپس مایع رویی دور ریخته شد و روی رسوب انتهایی شیره مصنوعی روده اضافه گردید و بلافاصله درب لوله‌ها بسته شد. مدت زمان مرحله دوم (در معرض شیره روده) بین ۶۰-۳۰ دقیقه بود که پس از نمونه برداری و اطمینان از آزاد شدن جنین شش قلاب از داخل تخم، عملیات هضم روده‌ای متوقف گردید (۱۱).

مرحله بعد خرد کردن تخم و انکوسفر فعال بود که برای این کار پس از چند بار فریز و آب کردن محلولهای حاوی تخم و انکوسفر با استفاده از سونیکاتور با پراب ۶ میلیمتری شش بار و هر بار برای مدت یک دقیقه عمل سونیکه کردن در حضور یخ انجام و به منظور جلوگیری از فعالیت آنزیم پروتئاز آزاد شده از سلولها، به لوله‌ها بافر مهار کننده پروتئاز که حاوی EDTA بود اضافه شد. سپس نمونه‌ها غلظت سنجی شده (با روش برادفورد) و در شرایط ۳۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند (۶).

ب) ایمن کردن گوساله‌گاو همیشه: برای این مرحله از تحقیق ابتدا ۹ رأس گوساله گاو همیشه نر ۸-۷ ماهه از گاو همیشه داریهای اطراف شهرستان دزفول خریداری شد و پس از ثبت مشخصات و وزن کشی، شماره گذاری گردن و گوش انجام شد. سپس در جایگاه‌های واحد مستقر شدند و عملیات درمانی علیه کرمهای روده‌ای، واکسیناسیون علیه طاعون، پاستورلوز، بروسلوز و تب برفکی و همچنین تست سل انجام شد. سپس گوساله‌های گاو همیشه با کمک جدول تصادفی به سه گروه تقسیم شدند و عملیات ایمن کردن به شرح ذیل به اجرا درآمد.

ایمنی‌سازی در دو مرحله و به فاصله زمانی ۶ هفته انجام شد. در مرحله اول یک میلی لیتر از پادگن خام تخم (حاوی ۴۰ میلی گرم در میلی لیتر پادگن-اندازه‌گیری شده با روش برادفورد) با حجم مساوی یاور فروند کامل با کمک همزن برقی به صورت سوسپانسیون یکنواخت و خمیری درآمد و داخل عضلانی در دو طرف کپل سه رأس گوساله گاو همیشه تزریق شد و همین عمل در مورد پادگن انکوسفر (با غلظت ۴۰ میلی گرم در میلی لیتر) انجام گردید (در گروه دوم) و به عنوان کنترل به گاو همیشه‌های گروه سوم فقط یاور فروند به علاوه محلول سرم فیزیولوژی استریل داخل عضلانی تزریق گردید. ۶ هفته بعد همین مقادیر پادگن به علاوه یاور ناقص فروند زیربوستی در دو طرف قفسه سینه و روی دنده‌ها در گروه اول و دوم تزریق شد. در مورد گروه سوم (کنترل) یاور فروند به علاوه سرم فیزیولوژی تزریق گردید. سه هفته بعد از دومین تزریق پادگن هر ۹ رأس گاو همیشه (در سه گروه) از راه دهانی به وسیله ۵۰۰ عدد تخم ا. گرانولوزوس با منشأ گاو همیشه (که در مرحله قبل تهیه شده بود) آلوده شدند.

ج) ذبح گاو همیشه‌ها و انجام مطالعات بافت‌شناسی: ۱۰ ماه پس از آلودگی تجربی، گاو همیشه‌ها ذبح شدند و اندامهای داخلی شامل کبد، ریه، طحال، کلیه‌ها، قلب، مغز و زبان به طور مجزا بررسی شد و کیستهای هیداتیک مشاهده شده از بافت جدا شده و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. سپس برای اطمینان از تشخیص برخی از کیستهای مشکوک نمونه‌های لازم جهت تهیه مقاطع آسیب‌شناسی به بخش آسیب‌شناسی مؤسسه رازی کرج ارسال گردید.

به منظور تعیین میزان درصد ایمنی حاصله در سطح روده‌ای و محل

مطالعات Gemmel در سال ۱۹۶۶، Heath و Osborn در سال ۱۹۸۲، Dempster و همکاران در سال ۱۹۹۱ که نشان دادند استفاده از پادگن‌های تخم و انکوسفر فعال تأثیر قابل توجهی در ایمن کردن حیوانات مورد آزمایش علیه کیست هیداتیک را دارند. براساس این مطالعات Lightowlers و همکاران در سال ۱۹۹۶ واکسنی به نام EG95 را تهیه نمودند که در مطالعات انجام شده در گوسفندان نیوزلند، آرژانتین و استرالیا ۹۶ تا ۱۰۰ درصد ایمنی را نشان داد (۹).

تنها گزارش موجود در مورد گاو میش شامل مطالعه‌ای است که طی آن Singh در سال ۱۹۹۷ از پادگن‌های دفعی-ترش‌ی برای ایمن کردن گوساله گاو میش استفاده نموده و ایمنی قابل توجهی را به دست آورده است (۸۶ تا ۹۰ درصد) و هیچ مطالعه‌ای در خصوص تأثیر پادگن‌های تخم و انکوسفر در ایمن کردن گاو میش یافت نشد. لذا با توجه به اهمیت گاو میش در استان خوزستان به عنوان یکی از اولویت‌های تحقیقاتی و همچنین قابل توجه بودن درصد آلودگی به کیست هیداتیک در گاو میش‌های خوزستان مطالعه حاضر انجام گردید.

مواد و روش کار

الف) تهیه آکینوکوکوس گرانولوزوس با منشأ گاو میش و پادگن‌های تخم و انکوسفر: پس از هماهنگی با کشتارگاه‌های استان خوزستان، کیستهای هیداتیک گاو میش جمع‌آوری و از نظر استریل یا غیراستریل بودن بررسی شدند، به این ترتیب که با سرنگ ۵۰ میلی لیتری و سرسوزن ۱۴ مایع داخل کیست با دقت خارج شده و در یک ظرف استریل ریخته شده سپس تعداد پروتواسکولکسها در حجم معینی شمارش شده و با کمک مطالعه حرکت سلولهای شعله و رنگ آمیزی با اتوزین یک درصد، درصد پروتواسکولکسهای فعال مشخص شدند (۱). در مرحله بعدی سه قلابه سگ ۴ ماهه را در شرایط تحت کنترل قرار داده و پس از عادت به شرایط قفس با استفاده از پرازیکنانتل و لوامیزول هر کدام به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به فاصله سه روز از یکدیگر اقدام به درمان سگها شد و مدفوع سگها تا ۷۲ ساعت بعد از تجویز دارو به دقت جمع‌آوری و معدوم می‌شد. سپس هر یک از سگها از راه دهان با ۱۵-۱۰ عدد پروتواسکولکس آلوده شدند و پس از اطمینان از آلودگی به آکینوکوکوس گرانولوزوس (مشاهده تخم در مدفوع)، با تزریق وریدی ۲۰ میلیگرم فنوباریتال سدیم به ازای هر کیلو وزن بدن مرگ در حالت بیهوشی انجام شد و پس از خارج کردن روده از محوطه بطنی کرمهای بالغ از روده جدا گردیدند. به منظور جدا کردن موکوس چسبیده به جدار کرمها، آنها را دوبار با سدیم بی کربنات شسته سپس بندهای بارور جدا شده و با استفاده از هاون چینی و همزن برقی آنها را خرد نموده و تخمها پس از عبور از الکهای شماره ۳۰۰ و ۶۲۵ جدا شدند. سپس تخمها با محلول نمکی استریل شسته شده و در سرم فیزیولوژی استریل حاوی بنزیل پنی‌سیلین و استرپتومایسین سولفات و نیستاتین ریخته شدند و تا قبل از استفاده در یخچال نگهداری گردیدند (۱۱).

به منظور تهیه انکوسفر فعال ابتدا شیره مصنوعی معده و شیره مصنوعی روده تهیه شد. برای محلول اول سرم فیزیولوژی نمکی استریل به علاوه یک درصد پیسین و یک درصد اسید کلریدریک غلیظ و برای محلول دوم آب مقطر استریل به علاوه یک درصد پانکراتین (خوکی) و یک درصد بی کربنات سدیم به اضافه ۵ درصد صفرای گوسفند (به صورت استریل از کیسه صفرای گوسفند ذبح شده در کشتارگاه) استفاده گردید.



جدول ۱- میانگین، تعداد، درصد و جمع کل کیستهای فعال و غیرفعال جمع آوری شده از کبد و ریه گاومیشهای مورد مطالعه. ۱۰ ماه پس از آلودگی تجربی با تخم/کینو کوکوس گرانولوزوس

شماره گاومیش	کبد					ریه					جمع کل کیستهای ریه و کبد		
	تعداد کیستهای فعال و غیرفعال		کیست فعال		کیست غیرفعال		تعداد کیستهای فعال و غیرفعال		کیست فعال			کیست غیرفعال	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد		تعداد	درصد
۲۴۵	۴	۱	۲۵	۳	۷۵	۳	۲۳/۳	۲	۶۶/۷	۲	۷		
۲۴۷	۳	۱	۳۳/۳	۲	۶۶/۷	۲	۵۰	۲	۵۰	۲	۷		
۲۴۴	۱	۰	۰	۱	۱۰۰	۱	۰	۰	۱۰۰	۲	۳		
جمع کل	۸	۲	۲۵	۶	۷۵	۹	۲۳/۳	۶	۶۶/۷	۱۷			
$\bar{X} \pm SD$	$2/67 \pm 1/53$	$0/167 \pm 0/158$		2 ± 1		3 ± 1	1 ± 1	2 ± 0		$5/167 \pm 2/53$			
۲۶۱	۲	۰	۰	۲	۱۰۰	۳	۰	۰	۱۰۰	۵			
۲۹۸	۳	۱	۳۳/۳	۲	۶۶/۷	۲	۵۰	۱	۵۰	۵			
۲۵۰	۲	۱	۵۰	۱	۵۰	۰	۰	۰	۰	۲			
جمع کل	۷	۲	۲۸/۵۷	۵	۷۱/۴۳	۵	۲۰	۴	۸۰	۱۲			
$\bar{X} \pm SD$	$2/33 \pm 0/158$	$0/167 \pm 0/158$		$1/67 \pm 1/53$		$0/33 \pm 0/158$	$1/33 \pm 1/53$		$4 \pm 2/11$				
۲۳۱	۱۶	۱۰	۶۲/۵	۶	۳۷/۵	۱۸	۵۰	۹	۵۰	۳۴			
۲۴۶	۲۴	۸	۳۳/۳	۱۶	۶۶/۷	۱۵	۸۰	۳	۲۰	۳۹			
۲۷۰*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
جمع کل	۴۰	۱۸	۴۵	۲۲	۵۵	۳۳	۶۳/۶	۱۲	۳۶/۴	۷۳			
$\bar{X} \pm SD$	$20 \pm 5/66$	$9 \pm 1/41$		$11 \pm 7/07$		$16/5 \pm 2/12$	$16/5 \pm 2/12$	$10/5 \pm 2/12$	$6 \pm 4/24$	$36/5 \pm 7/78$			

* گاومیش شماره ۲۷۰ دو ماه پس از شروع مطالعه به دلیل سیتی سمی باکتریایی تلف شد.

جدول ۲- ویژگی کیستهای مورد مطالعه در گاومیشهای واکنش با پادگن تخم و انکوسفر و گروه شاهد ۱۰ ماه پس از آلودگی تجربی با تخم/کینو کوکوس گرانولوزوس

گروه مورد مطالعه	میانگین قطر کیست (میلی متر)		تعداد کیست فعال	تعداد کیست غیرفعال	جمع کل کیست	درصد کیست زنده	درصد کیست غیرفعال
	ریه	کبد					
اول (پادگن تخم)	$3/5 \pm 1/5^*$	$4/9 \pm 2/1$	۵	۱۲	۱۷	۲۹/۳	۷۰/۶
دوم (پادگن انکوسفر)	$3/3 \pm 1^*$	$5/4 \pm 2/4$	۳	۹	۱۲	۲۵	۷۵
سوم (شاهد)	$5/1 \pm 1/3^*$	$8/3 \pm 4/7$	۳۹	۳۴	۷۳	۵۳/۴	۴۶/۴

* انحراف معیار (SD).

جدول ۳- متوسط تعداد کیستهای هیداتیک فعال و غیرفعال و مجموع کیستهای جمع آوری شده به ازاء هر رأس گاومیش مورد مطالعه.

گروه مورد مطالعه	متوسط تعداد کیست فعال به ازاء هر حیوان	متوسط تعداد کیست غیرفعال به ازاء هر حیوان	متوسط تعداد کیستهای فعال و غیرفعال به ازاء هر حیوان
اول (پادگن تخم)	۱/۶۶	۴	۵/۶۶
دوم (پادگن انکوسفر)	۱	۳	۴
سوم (شاهد)	۱۹/۵	۱۷	۳۶/۵

در نهایت نتایج به دست آمده از بررسی کیست های هیداتیک تشکیل شده در اندامهای آلوده با استفاده از روش آماری Tukey و با درجه اطمینان ۹۹ درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

نتیجه گیری و بحث

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که پادگن های خام تخم و انکوسفر فعال/کینو کوکوس گرانولوزوس با منشأ گاومیش توانایی ایجاد ایمنی حفاظتی قابل توجه علیه تخمهای خورانیده شده از راه دهان دارد هر دو پادگن بیشترین فعالیت را علیه مراحل قبل از تشکیل کیست نشان دادند و یک کاهش معنی دار ($P < 0/01$) بین میانگین تعداد کیستهای تشکیل شده در کبد و ریه گاومیشهای ایمن (با پادگن های تخم و انکوسفر) در مقایسه با گاومیشهای کنترل مشاهده گردید (جدول ۱ و ۲).

با بررسی نتایج جدول ۳ و قرار دادن نتایج مندرج در جدول ۲ در فرمول گمل، محافظت روده‌ای حاصل از تزریق پادگن تخم ۸۴/۵ درصد و در مورد

استقرار کیست در بدن گاومیشهای مورد مطالعه در تحقیق از فرمولهای زیر استفاده شد (۵).

$$\text{درصد ایمنی حاصله در سطح روده‌ای} = \left(1 - \frac{Nt+Vt}{Nc+Vc}\right) \times 100$$

$$\text{درصد ایمنی حاصله در محل استقرار کیست} = \left[\frac{\frac{Nt}{Nt+Vt} - \frac{Nc}{Nc+Vc}}{1 - \frac{Nc}{Nc+Vc}} \right] \times 100$$

Nt = تعداد کیستهای غیرفعال برای هر حیوان در گروه مورد مطالعه،
 Nc = تعداد کیستهای غیرفعال برای هر حیوان در گروه شاهد،
 Vt = تعداد کیستهای فعال هر حیوان در گروه مورد مطالعه،
 Vc = تعداد کیستهای فعال هر حیوان در گروه شاهد.

محافظت ایجاد شده در گاومیشها با استفاده از فرمول زیر در دو گروه ایمن شده با پادگن تخم و پادگن انکوسفر محاسبه گردید (۴).

$\text{درصد محافظت ایجاد شده در گروه های تحت مطالعه} = \left(1 - \frac{\text{میانگین تعداد کیست در گروه مورد مطالعه}}{\text{میانگین تعداد کیست در گروه شاهد}}\right) \times 100$



در مقایسه با گروه کنترل ۱۰۰-۹۰ درصد محافظت را نشان می‌دهد و این مقادیر در بین گروه‌های ایمن شده با دو پادگن فوق تفاوت معنی‌داری ندارد در صورتی که در گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر است. به علاوه تعداد کیست‌های فعال تشکیل شده در گوسفندان ایمن در مقایسه با گوسفندان شاهد به طور معنی‌داری کمتر است.

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که پادگن تخم و انکوسفر فعال، تهیه شده از تخم/کینوکوکوس/گرانولوزوس با منشأ گاومیش دارای توان ایمنی‌زایی و ایجاد ایمنی حفاظتی در گاومیش می‌باشد و در صورت انجام مطالعات تکمیلی شامل شناسایی، جداسازی و خالص نمودن باندهای پروتئینی ایمنی‌زا و محافظت‌کننده از پادگن‌های مزبور می‌توان میزان این ایمنی حفاظتی را تا حد قابل توجهی بالا برد و حتی در گام‌های بعدی اقدام به تهیه واکسن نوترکیب (مشابه EG95 در گوسفند) نمود.

References

- حسینی، س.ح. (۱۳۷۳-۷۴): تعیین سوبه‌های/کینوکوکوس/گرانولوزوس در ایران، پایان‌نامه دکترای تخصصی انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی تهران- شماره ۲۷.
- صاکی، ع. (۱۳۷۸): بررسی میزان آلودگی گاومیش‌های کشتار شده در کشتارگاه اهواز به کیست هیداتیک، پژوهش و سازندگی، شماره ۴۰، ۴۱ و ۴۲، صفحه: ۱۳۳-۱۳۱.
- موبدی، ا. دلیمی‌اصل، ع. (۱۳۷۳): اپی‌دمیولوژی کیست هیداتیک در ایران و جهان، انتشارات مقدم.
- Dempster, R.P., Berridge, M.V., Harrison, G.B.L. and Heath, DD. (1991): *Echinococcus granulosus*: Development of an intermediat host mouse model for use in vaccination studies. Int. J. Parasit. 21: 549-554.
- Gemmel, M.A. (1966): Immunological response of the mammalian host against tapeworm infections, IV. Species specificity of hexacant embryos in protecting sheep against *E. granulosus*. Immunology, 11: 325-335.
- Heath, DD. and Holcman, B. (1997): Vaccination against *Echinococcus* in perspective. Acta Tropica. 67: 37-41.
- Heath, DD. and Lightowlers, M.W. (1995): Successful development of a recombinant vaccine against hydatid disease. 16th International Congress of Hydatology. 77-78.
- Heath, DD. and Lawrence, SB. (1981): *E. granulosus* cysts: Early development in vitro in the presence of serum from infected sheep. Int. J. Parasit. 11: 261-266.
- Lightowlers, M.W., Gensen, O., Fernandez, E., Iriate, J.A., Woollard, D.J., Gauci, C.G., Jenkins, D. and Heath, DD. (1999): Vaccination trials in Australia and Argentina confirm the effectiveness of the EG95 hydatid vaccine in sheep. Int. J. Parasitol. 29: 531-534.
- Lightowlers, M.W., Lawrence, S.B., Gauci, C.G., Young, J., Ralston, M.J. and Mass, D. (1996): Vaccination against hydatidosis using a defined recombinant antigen Parasite Immunology, 18: 457-62.

پادگن انکوسفر ۸۹ درصد بدست آمد و محافظت ایجاد شده در محل استقرار کیست (در کبد و ریه) در مورد پادگن تخم ۴۵/۳ درصد و در مورد پادگن انکوسفر ۵۳/۳۷ درصد بود که هر دو مورد اختلاف میان پادگن تخم و انکوسفر معنی‌دار بودند ($P < 0.01$).

مطالعات انجام شده توسط Heath و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان می‌دهد که سطح خارجی انکوسفر/کینوکوکوس/گرانولوزوس حاوی تعدادی پروتئین اختصاصی است که پس از ورود به بدن میزبان واسط از واکنش با پادتن اختصاصی ضد این پروتئین‌ها در حضور کمپلمان توانایی ایجاد آسپه‌های جدی و شدید را به غشای پلاسمایی انکوسفرهای خارج شده از تخم دارند و استفاده از پادگن‌های انکوسفر ۹۱ در آلودگی تجربی با تخم انگل مقاومتی برابر ۹۱ درصد ایجاد می‌نماید.

در مطالعاتی که Dempster و همکاران در سال ۱۹۹۲ در گوسفند انجام دادند مشخص شد که استفاده از پادگن‌های انکوسفر/کینوکوکوس/گرانولوزوس که با سدیم دودسیل سولفات تهیه شده‌اند توانایی ایجاد محافظت علیه آلودگی تجربی را تا ۹۱ درصد دارد که در مقایسه با سایر ترکیبات استفاده شده کرم بالغ و کیست اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد به گونه‌ای که این مقاومت در هنگامی که از مایع کیست، مواد استخراجی از کرم بالغ، برود کیسول و پروتواسولکس به عنوان پادگن استفاده می‌شوند به ترتیب ۳، ۵۷، ۴۴، ۷۸ درصد می‌باشد.

Heath و Osborn در سال ۱۹۸۲ نشان دادند که پادگن‌های استخراج شده از محیط کشت انکوسفر در شرایط آزمایشگاهی پس از تزریق به بره‌های جوان به میزان قابل توجهی سطح آنتی‌بادی سرمی را بالا برده به گونه‌ای که سرم گوسفندان ایمن شده قادر به از بین بردن ۹۸ درصد انکوسفرها در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

همچنین Singh در سال ۱۹۹۷ طی تحقیقی که در گاومیش انجام داد به این نتیجه رسید که سرم گاومیش‌های مورد مطالعه پس از تزریق پادگن دفعی-ترشعی استخراج شده از انکوسفر (در شرایط آزمایشگاهی) ۹۴ درصد انکوسفرها را از بین می‌برد.

Gemmel در سال ۱۹۶۶ نشان داد که پادگن‌های تخم و انکوسفر فعال/کینوکوکوس/گرانولوزوس هر دو توانایی ایجاد واکنش ایمنی به میزان تقریباً یکسان را در گوسفند داشته و این واکنش برای مدت طولانی باقی خواهد ماند.

اختلاف معنی‌دار موجود بین نتایج مندرج در جداول ۱ و ۲ مربوط به گروه‌های اول و دوم با گروه کنترل در بررسی حاضر نشان می‌دهد که کاهش معنی‌دار تعداد کیست‌های فعال و قطر کیست‌های هیداتیک تشکیل شده ناشی از بالا بودن توان پادگن‌های مورد استفاده در ایجاد ایمنی حفاظتی در موضع استقرار کیست است. بدین ترتیب علاوه بر ایمنی ایجاد شده در سطح روده‌ای که منجر به کاهش کلی در تعداد کیست‌های تشکیل شده در اندام‌های می‌شود، این مکانیسم (ایمنی در محل استقرار) باعث عدم رشد و یا کاهش رشد کیست‌های جوان خواهد شد و در نتیجه تعداد کیست‌های فعال و زنده در گاومیش‌های ایمن در مقایسه با گاومیش‌های گروه کنترل به طور قابل توجهی کمتر می‌باشد و از طرفی آن دسته از کیست‌ها که از بین نرفته و قادر به ادامه رشد می‌باشند دارای رشد بطئی و بسیار کندتری در مقایسه با کیست‌های فعال گروه کنترل می‌باشند. در تأیید این مطلب Gemmel در سال ۱۹۶۶ طی تحقیقی که انجام داد نشان داد که ایمنی در سطح روده‌ای و همچنین ایمنی در محل استقرار کیست در گوسفندانی که با پادگن‌های تخم و انکوسفر فعال/کینوکوکوس/گرانولوزوس ایمن شده‌اند،



11. Osborn, P.J., Heath, DD. and Roberts, MG. (1982): Vaccination of sheep against *Teania ovis*. The response to various dose rate of antigens obtained by incubation of oncospheres in vitro. Res. Vet. Sci. 32: 351-353.
12. Osborn P.J. and Heath, DD. (1982): Immunisation of lambs against *Echinococcus granulosus* using antigens obtained by incubation of oncospheres in vitro. Res. Vet. Sci. 33: 132-133.
13. Rickard, M.D. and Bell, K.J. (1981): Successful vaccination of lambs against infection with *T. ovis* using antigens produced during in vitro cultivation of the larval stages. Res. Vet. Sci. 12: 401-402.
14. Rickard, M.D., Arundel, J.H. and Adolph, A.Y. (1971): A preliminary field trial to evaluate the use of immunisation for the control of naturally acquired *T.saginata* infection in cattle. Res. Vet. Sci. 30, 1: 104-108.
15. Singh, B.P. (1997): Immunisation of buffalo calves against *E. granulosus* using excretory and secretory antigens of oncospheres. J. Vet. Parasitol. 11. 2: 189-191.

