

## تشخیص کیست هیداتیک تجربی در گوسفند با بررسی وجود پادگن انگل در سرم و ادرار به روش کوآگلوتیناسیون

دکتر محمد حسین راضی جلالی<sup>۱</sup>، دکتر مسعود قربانپور<sup>۱</sup>، دکتر ناصر حقوقی راد<sup>\*</sup>، دکتر صالح اسماعیل زاده<sup>۱</sup>، دکتر لیلی نبوی<sup>۱</sup>، دکتر عبداله رفیعی<sup>۱</sup>، دکتر محمد رحیم حاجی حاجیکلائی<sup>۱</sup>

دریافت مقاله: ۲۲ تیرماه ۱۳۸۳  
پذیرش نهایی: ۱۰ آذرماه ۱۳۸۳

**Diagnosis of experimentally infected sheep hydatidosis through antigen detection in serum and urine, with coagglutination (Co.A) test**

Razi Jalali, M.H.,<sup>1</sup> Ghorbanpoor, M.,<sup>1</sup> Hoghooghi Rad, N.,<sup>1</sup> Esmail Zadeh, S.,<sup>1</sup> Nabavi, L.,<sup>1</sup> Rafiei, A.,<sup>2</sup> Haji Hajikolaie, M.R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahid Chamran, Ahwaz, Ahwaz-Iran. <sup>2</sup>Department of Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, University of Jundi-Shapur, Ahwaz, Ahwaz-Iran. <sup>3</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahid Chamran, Ahwaz, Ahwaz-Iran.

**Objective:** To evaluate coagglutination test in the serum and urine of sheep for diagnosing of hydatidosis.

**Design:** Experimental study.

**Animals:** Two rabbits, three dogs and nineteen sheep.

**Procedure:** Ovine hydatid cysts from affected livers and lungs, were collected from Ahwaz abattoir (Khuzestan province, Iran). The hydatid fluid (HF) and protoscolces were aseptically obtained in lab. Hydatid fluid was centrifuged and injected to rabbits in two steps. After then, rabbit hyperimmune sera were collected. Furthermore, each dog was given 15,000 viable protoscoleces. Less than two months later, dogs were autopsied after euthanasia and all *Echinococcus granulosus* worms were collected and their eggs were released. Almost, 2000 eggs were orally administered to each (N= 13). The six other sheep were kept as control. All sheep were bled each week and their urine samples were collected fortnight. All sera and urine samples were examined with coagglutination (Co.A) test.

**Results:** While sensitivity of coagglutination test, was nil during five weeks of post-infection (p.i.), its values showed a biphasic pattern. While, it increased up to 23% in the sixth week and after then up to 100% in the 12th and 13th week of p.i. it decreased in the following weeks. Specificity of test was 100% throughout the experiment. While examination of urine in the affected sheep resulted in positive reaction from 6th week of p.i, its sensitivity and the sensitivity gradually increased up to 100% at 12th week of p.i. Furthermore, specificity of the test for urine of non-infected sheep remained 100%.

**Discussion:** These results suggest that the time of appearance of hydatid antigens in serum and urine is approximately alike. While positive results are very valuable, negative ones do not rule out hydatidosis. *J.Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 60,3:213-218,2005.*

**Keywords:** sheep, hydatidosis, *Echinococcus granulosus*, coagglutination test.

**Corresponding author's email:** hoghooghirad@yahoo.com

هدف: ارزیابی روش کوآگلوتیناسیون در تشخیص هیداتیدوزیس گوسفند با آزمایش سرم و ادرار.

نوع مطالعه: مطالعه تجربی.

حیوانات: ۲ قطعه خرگوش، ۳ قلاده‌سگ و ۱۹ رأس گوسفند.

روش: کبد و ریه‌های گوسفند دارای کیست هیداتیک از کشتارگاه اهواز تهیه شد. از مایع کیست هیداتیک سانتریفوژ شده به دو قطعه خرگوش طی دو مرحله تزریق شد. پس از آن سرم هیپرایمن خرگوشها جمع‌آوری گردید. پروتواسکولکس‌های کیست‌ها پس از تعیین قدرت حیاتی به تعداد ۱۵/۰۰۰ به هر قلاده‌سگ خوراند شد. در عرض دو ماه کالبد گشایی سگها انجام شد و از روده باریک کرم‌های بالغ اکینووکوکوس گرانولوزوس جمع‌آوری و تخم‌ها با لاله کردن بندهای بارور آزاد و شمارش شدند. به هر یک از ۱۳ رأس گوسفند مورد آزمایش تقریباً حدود ۲۰۰۰ تخم خوراند شد و ۶ رأس گوسفند دیگر بعنوان شاهد در شرایط کاملاً برابر با گوسفندان مورد آزمایش نگهداری شدند. هر هفته از تمام گوسفندان مورد آزمایش و شاهد خونگیری و هر دو هفته یکبار نمونه‌های ادرار تهیه شد. تمام نمونه‌ها پس از جمع‌آوری با روش کوآگلوتیناسیون مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایج: با انجام آزمایش کوآگلوتیناسیون معلوم شد که حساسیت این آزمایش در مورد سرم گوسفندان آلوده تا ۵ هفته صفر و از هفته ششم حدود ۲۳ درصد و در هفته‌های دوازدهم و سیزدهم ۱۰۰ درصد و در هفته‌های بعد به تدریج کاهش می‌یابد. ویژگی آزمایش ۱۰۰ درصد بوده است. آزمایش کوآگلوتیناسیون در روی ادرار گوسفندان فقط از هفته ششم در مورد برخی نمونه‌ها مثبت شد و به تدریج افزایش یافت تا آنکه در هفته ۱۲ به ۱۰۰ درصد رسید. سپس در هفته‌های بعد رو به کاهش نهاد. ویژگی این آزمایش روی ادرار گوسفندان شاهد نیز ۱۰۰ درصد بوده است.

نتیجه‌گیری: چنین به نظر می‌رسد که زمان ظهور و تشخیص پادگن‌های کیست هیداتیک در سرم و ادرار کم و بیش یکسان است. گرچه اخذ جواب مثبت ارزش بسیاری دارد ولی نتایج منفی نشانه عدم وجود کیست هیداتیک نمی‌باشد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۳، ۲۱۸-۲۱۳.

واژه‌های کلیدی: هیداتیدوزیس گوسفند، اکینووکوکوس گرانولوزوس، آزمایش کوآگلوتیناسیون.

بیماری کیست هیداتیک ناشی از اکینووکوکوس گرانولوزوس دارای انتشار جهانی است که هم از نظر بهداشتی و هم از جنبه اقتصادی حائز اهمیت فراوانی است (۳). در ایران نیز که به عنوان یکی از مناطق هیپراندمیک معرفی شده است این

(۱) گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران.

(۲) گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز-ایران.

(\* نویسنده مسؤول: hoghooghirad@yahoo.com)



## مواد و روش کار

۱- آلوده کردن سگ: سه قلاده سگ شش ماهه انتخاب شد. ابتدا داروی ضد انگلی به همه سگها داده شد. سپس تعدادی کیست های هیداتیک کبدوریه گوسفند از کشتارگاه اهواز جمع آوری و در آزمایشگاه مخلوط مایع و پروتواسکولکس های کیست در شرایط استریل جدا شد. سپس مخلوط مزبور ساتریفیوژ شد تا مایع شفاف و روشن روی رسوب پروتواسکولکس هادرلوله های استریل ریخته شود. قدرت حیاتی پروتواسکولکس ها با استفاده از انوزین ادرصد تعیین شد. پروتواسکولکس هایی که دارای قدرت حیاتی بیش از ۸۰ درصد بودند جدا و مطابق روش حسینی و همکاران به سگها خوراندند (۲). پس از ۵ هفته آزمایش مدفوع سگها هر ۲ تا ۳ روز انجام می شد تا آنکه در هفته های ۶ و ۷ پس از آلودگی تخم تنیاد مدفوع مشاهده شد. در این زمان، سگها با تزریق دز بالایی از تیوپنتال سدیم آسان کشی شدند و سپس کالبدگشایی گردیدند. روده باریک سگها از لاشه ها جدا و با قیچی روده بر باز شدند و در محلول نمکی هنکس به مدت ۲ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. کرمهای اکینوкок آزاد شده در سرم فیزیولوژی نگهداری و سپس باله کردن بند بارور آنها تخمها آزاد گردیدند. شمارش تخمها انجام شد و تعداد تخم در هر میلی لیتر سرم فیزیولوژی تعیین شد.

۲- آلوده کردن گوسفندان: تعداد ۱۹ رأس گوسفند نژاد عرب از گروه دامپروری دانشکده کشاورزی واقع در ملاثانی اهواز که دارای سنین ۱۲-۶ ماه بودند خریداری شد. از این تعداد ۶ رأس بعنوان شاهد و ۱۳ رأس دیگر به عنوان گوسفندان مورد آزمایش در آغل های مجزا نگهداری شدند. به هر یک از گوسفندان مورد آزمایش تعداد ۲۰۰۰ تخم اکینوкок با استفاده از لوله مری خوراندند. گوسفندان مورد آزمایش و شاهد فقط تا ۱۶ هفته زنده نگه داشته شدند.

۳- نمونه برداری از گوسفندان: طی ۱۶ هفته نمونه های خون در گوسفندان شاهد و مورد آزمایش به طور هفتگی با استفاده از سرنگ دارای سرسوزن شماره ۱۸ از ورید و داج تهیه و سرم آنها جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. همزمان نمونه های ادرار همه گوسفندان به وسیله سوند ادرار هر دو هفته یکبار جمع آوری و در ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

۴- تهیه سرم هیپرایمن از خرگوش: دو قطعه خرگوش بالغ انتخاب و به هر کدام یک میلی لیتر مایع کیست هیداتیک جمع آوری شده مخلوط با یک میلی لیتر آدجوانت کامل فروند از راه عضلانی تزریق شد. شش هفته بعد یک میلی لیتر دیگر از مایع کیست هیداتیک این بار با یک میلی لیتر آدجوانت ناقص مخلوط و مانند دفعه قبل به هر خرگوش تزریق شد. عیار پادتن ضد مایع کیست هیداتیک در سرم خرگوش ها با روش هماگلو تیناسیون غیر مستقیم تعیین می گردید (۱۵). زمانی که عیار پادتن به ۱/۲۰۴۸ رسید از خرگوش ها خونگیری شد و سرم جدا و با استفاده از سولفات آمونیوم خالص سازی شد. نمونه های سرمی خالص شده و سرم کامل خرگوش هادر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

۵- تغلیظ ادرار: نمونه های ادرار اخذ شده از طریق ترسیب اتانل مطابق

بیماری هم در انسان و هم در حیوانات اهلی ضایعات و ضررهای بهداشتی و اقتصادی قابل توجهی بوجود می آورد (۱،۳). میزان آلودگی انسان در ایران ۱/۱۲ درصد هزار گزارش شده است (۱).

یکی از مسائل عمده بیماری هیداتیدوزیس تشخیص و وجود کیست هیداتیک در انسان و حیوانات است. اگر چه تاکنون با انجام روشهای سروئوزی متعدد نظیر هماگلو تیناسیون غیر مستقیم (IHA) (۱۸، ۱۵) الیزا (ELISA) و دات الیزا (ELISA Dot) و واکنش های زنجیره ای پلیمرز (PCR) (۷) که دارای حساسیت هایی بین ۸۵ تا ۹۵ درصد و ویژگی ۸۷ تا ۹۷ درصد می باشند با تعیین وجود پادتن متاستند اکینوкок در سرم افراد مبتلا و حیوانات موفق به تشخیص بیماری می شدند، اما کسب پاسخهای منفی کاذب در بیماران انسانی و حیوانی که حدوداً ۳ تا ۱۵ درصد است (۷، ۵) و حتی در منطقه شدیداً آلوده ای مانند تورکانا در کشور کنیا میزان آن به ۲۵ تا ۴۰ درصد می رسد (۶) محققین را بر آن داشت که برای تشخیص هیداتیدوزیس به مشخص کردن پادگن کیست هیداتیک نه تنها در سرم (۲۶، ۲۵، ۲۴، ۲۱، ۱۸، ۱۷، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۷، ۶، ۵، ۴) بلکه در ادرار (۲۳، ۲۲، ۲۱) افراد مبتلا و حیوانات دارای هیداتیدوزیس با انجام روشهایی نظیر کوآگلو تیناسیون (۲۶، ۲۳، ۲۲، ۲۱) لاکس آگلو تیناسیون (LAT) (۱۴، ۱۰) کانترایمنوالکتروفورزیس (CIEP) (۲۲، ۲۱) و دات الیزا (۲۷، ۱۸، ۱۶، ۵) اقدام نمایند. در مورد آلودگی به کرمهای دیگر نظیر متاستند تنیایی زیفرمیس با آزمایش سرم و مشخص کردن پادگن انگل به روش الیزا (۵) به تشخیص آلودگی دست می یابند. Ravinder و همکاران (۲۳) و Parija (۲۲)، (۲۱) روش کوآگلو تیناسیون را با استفاده از استافیلوکوکوس اورئوس جهت شناسایی پادگن کیست هیداتیک در ادرار و سرم بیماران انسانی مبتلا به هیداتیدوزیس ابداع نمودند. بر اساس گزارش Ravinder و همکاران (۲۳) حساسیت این آزمایش در تشخیص پادگن کیست هیداتیک در ادرار بیماران که وجود کیست هیداتیک طی عمل جراحی به اثبات رسیده است ۴۳/۷۵ درصد و در سرم همین افراد ۸۱/۲۵ درصد بوده است. ویژگی آزمایش کوآگلو تیناسیون در مورد ادرار و سرم افرادی که سالم بودند به ترتیب از ۸۸ درصد تا ۱۰۰ درصد بوده است. Parija و همکاران در سال ۱۹۹۸ حساسیت این آزمایش را در تشخیص پادگن انگل در سرم بیماران دارای کیست هیداتیک ۹۵ درصد و ویژگی آنرا ۱۰۰ درصد گزارش کرده است (۲۲). دلیل اختلاف در تعیین حساسیت و ویژگی آزمایش کوآگلو تیناسیون را گات اشتین (۱۳) به خاطر تغییرات کمی پادگن های کیست هیداتیک بر حسب مکان کیست، ساختمان دیواره کیست، نوع رشد و سرعت آن و احتمالاً آزاد شدن فاکتورهای دیگر در خون می داند. از آنجا که ارزیابی آزمایش کوآگلو تیناسیون در روی بیماران انسانی با محدودیت های فراوانی روبه رو است بدین جهت تصمیم گرفته شد مواد اولیه آزمایش مزبور تهیه و به آزمایش ادرار و سرم گوسفندانی که به طور تجربی به کیست هیداتیک آلوده می شوند اقدام گردد. بدیهی است که با اطلاع از شروع آلودگی و سیر رشد انگل در بدن گوسفند بهتر بتوان به ارزیابی آزمایش مزبور پرداخت.



جدول ۱- نتایج آزمایش سرم گوسفندان دارای کیست هیداتیک با روش کوآ گلو تیناسیون طی هفته ها پس از آلودگی

هفته ها پس از آلودگی							گوسفندان دارای کیست هیداتیک
۱۶	۱۵ تا ۱۴	۱۳ تا ۱۲	۱۱ تا ۱۰	۹ تا ۸	۷ تا ۶	۵ تا ۱	
۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	تعداد آزمایش شده
۱۰	۱۲	۱۳	۱۲	۵	۳	۰	تعداد موارد مثبت
۷۶	۹۲	۱۰۰	۹۲	۳۸	۲۳	۰	نسبت درصد (حساسیت آزمایش)

جدول ۲- نتایج آزمایش ادرار گوسفندان دارای کیست هیداتیک با روش کوآ گلو تیناسیون طی هفته ها پس از آلودگی

هفته ها پس از آلودگی							گوسفندان دارای کیست هیداتیک
۱۶	۱۴	۱۲	۱۰	۸	۶	۴ تا ۲	
۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	تعداد آزمایش شده
۱۰	۱۲	۱۳	۱۲	۶	۳	۰	تعداد موارد مثبت
۷۶	۹۲	۱۰۰	۹۲	۴۶	۲۳	۰	نسبت درصد

گوسفندان مثبت شدند (جدول ۱).

آزمایش سرم خون گوسفندان شاهد، در تمام مدت بررسی مزبور (۱۶ هفته) منفی بوده است. به عبارت دیگر ویژگی این آزمایش ۱۰۰ درصد دیده شد.

آزمایش نمونه های ادرار گوسفندان دارای کیست هیداتیک با روش کوآ گلو تیناسیون نشان داد که این آزمایش تا هفته چهارم و پنجم منفی است. از هفته ششم آزمایش برخی از نمونه های ادرار گوسفندان مثبت شد و در هفته دوازدهم آزمایش ادرار همه گوسفندان مورد آزمایش مثبت گردید (حساسیت ۱۰۰ درصد). سپس به تدریج موارد مثبت کاهش یافت به نحوی که در هفته شانزدهم ۷۶ درصد نمونه های ادرار گوسفندان مثبت گردید (جدول ۲). ضمناً ویژگی این آزمایش در مورد گوسفندان فاقد کیست هیداتیک (شاهد) ۱۰۰ درصد بوده است. به عبارت دیگر هیچ یک از نمونه های ادرار این گوسفندان طی ۱۶ هفته بررسی واکنش مثبت نشان نداد.

### بحث

در هیچ یک از گزارشات موجود ارزیابی آزمایش کوآ گلو تیناسیون در روی گوسفندان که به طور تجربی آلوده به کیست هیداتیک گردیده و زمان شروع آلودگی و دوره رشد متاستد اکینوکوک مشخص باشد صورت نگرفته است. نتایج این آزمایش در روی سرم و ادرار چنین گوسفندانی نشان داد که پادگن های متاستد تقریباً همزمان در خون و ادرار حیوان ظاهر می شوند و قابل تشخیص اند. حساسیت آزمایش کوآ گلو تیناسیون تا ۵ هفته اول چه در مورد سرم و چه در مورد ادرار صفر درصد است و بتدریج با رشد کیست ها در هفته ششم افزایش یافته و در هفته دوازدهم و سیزدهم ۱۰۰ درصد می گردد و سپس بتدریج

روش Ravinder و همکاران (۲۰۰۰) تغلیظ گردیدند (۲۳).

۶- آزمایش کوآ گلو تیناسیون: مواد لازم برای انجام این آزمایش مطابق روش های Parija, Parija و همکاران و Ravinder و همکاران بشرح زیر تهیه شد (۲۲، ۲۳، ۲۶):

الف- تهیه و جمع آوری باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارای پروتئین (SAPA): از سویه استاندارد این میکروب (Cowan's Strain 1) تحت عنوان SAPA در آگار مولر و هینتون کشت سفره ای به عمل آمد و پس از ۱۸ ساعت باکتری از سطح محیط کشت جمع آوری و در PBS سوسپانسیونی از آن تهیه که با دور ۳۰۰۰ گرم سانتریفوژ گردید. رسوب سه بار با PBS محتوی ۰/۰۵ درصد آزید سدیم شستشوداده شد و سرانجام رسوب به دست آمده با فرمالدئید ۱/۵ درصد در PBS ثابت گردید و در دمای آزمایشگاه به مدت ۹۰ دقیقه نگهداری شد. پس از این مدت مجدداً سه بار شستشوداده شد و به ۱۰ برابر حجم رسوب از محلول PBS حاوی ۰/۰۵ درصد آزید سدیم اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در ۸۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. سپس دوبار شستشوانجام گردید و سرانجام با PBS حاوی ۰/۰۵ آزید سدیم سوسپانسیون ۱۰ درصد از SAPA تهیه گردید.

ب- حساس سازی میکروب SAPA: به ازای هر ده میلی لیتر از سوسپانسیون ۱۰ درصد باکتری یک میلی لیتر از سرم هیپرایمن خالص شده اضافه شد و مخلوط گردید. سپس به مدت نیم ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد و سپس با PBS یکبار شستشوداده و سرانجام سوسپانسیون ۲ درصد از باکتری در PBS محتوی ۰/۱ درصد آزید سدیم تهیه شد.

ج- روش انجام آزمایش: روی تعدادی از پلیت های شیشه ای که هر یک دارای ۱۲ گودی می باشد آزمایش کوآ گلو تیناسیون انجام می شد. درون هر گودی ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون ۲ درصد SAPA حساس شده با سرم هیپرایمن خرگوش ریخته می شد و روی آن ۱۰ میکرو لیتر از سرم گوسفند و یا ادرار تغلیظ شده ریخته و مخلوط می گردید. برای کنترل از سوسپانسیون ۲ درصد باکتری حساس نشده استفاده می گردید. در صورت مشاهده آگلو تیناسیون و تجمع ذرات در سوسپانسیون باکتری حساس شده تست مثبت تلقی می شد. در صورت ایجاد مایع یکنواخت نتیجه آزمایش منفی تلقی می شد.

### نتایج

۱۳ گوسفند مورد آزمایش و ۶ گوسفند شاهد پس از ۱۶ هفته ذبح شدند. در گوسفندان مورد آزمایش کیست های متعددی بقطر چند میلی متر تا حداکثر دو سانتی متر عمدتاً در کبد و ندرتاً در ریه مشاهده شد که با نمونه برداری و تهیه مقاطع آسیب شناسی تشخیص کیست هیداتیک آنها محرز گردید. در هیچ یک از اعضای گوسفندان شاهد کیستی مشاهده نشد. با انجام آزمایش کوآ گلو تیناسیون روی سرم گوسفندان دارای کیست هیداتیک معلوم شد که این آزمایش تا ۵ هفته پس از شروع آلودگی منفی است. سرم برخی از گوسفندان از هفته ششم به بعد مثبت گردیدند و فقط در هفته های دوازدهم و سیزدهم همه گوسفندان مورد آزمایش مثبت شدند (حساسیت ۱۰۰ درصد). از هفته چهاردهم به بعد از تعداد موارد مثبت کاسته شد به نحوی که در هفته شانزدهم فقط ۷۶ درصد



کاهش می یابد.

ارزیابی قرارداد (۱۳).

ظهور پادگن های انگل بر حسب نوع انگل، میزبان و روش تشخیص آن متفاوت است. در خرگوشهایی که به طور تجربی به متاستد تنیایی زیفرمیس آلوده شدند پادگن های متاستد ۴۸ ساعت پس از شروع آلودگی ظاهر و حداکثر تا دو هفته در خون قابل تشخیص بودند. کمپلکس های ایمنی زمانی در خون ظاهر شدند که پادتن های متاستد در خون حضور داشتند. در عین حال پادتن های ضد آنکوسفر و خصوصاً ضد متاستد در خون پدیدار شدند و بتدریج از میزان پادگن های متاستد کاسته شد (۵). Parija و همکاران (۲۲) با روش کانترایمونیوالکترو فورزیس (CIEP) به تشخیص پادتن های کیست هیداتیک در ادرار بیماران پرداختند و توانستند حساسیت این آزمایش را در مورد بیماران دارای کیست هیداتیک ۴۳/۷۵ درصد و ویژگی آنرا بین ۹۲ تا ۱۰۰ درصد گزارش نمایند. Parija و Devi با استفاده از روش لاتکس آگلوتیناسیون (LAT) توانستند با تشخیص پادگن های موجود در مایع کیست هیداتیک با حساسیت و ویژگی ۱۰۰ درصد کمک فراوانی به جراحانی نمایند که با کشیدن مایع از درون کیست های موجود در اعضای مختلف بدن بیماران انسانی تردید آنها را در تشخیص کیست هیداتیک بر طرف سازند (۱۰).

تشخیص کیست هیداتیک در انسان عمدتاً به وسیله روشهای تصویری نظیر رادیوگرافی، اولتراسونوگرافی و سی تی اسکن انجام می شود ولی حساسیت این روشها در ماههای ابتدایی تشکیل کیست کم بوده و از طرفی امکان اشتباه با سایر اختلالات نظیر آبسه و تومور همیشه در این روشها وجود دارد، از این رو انجام تستهای سرولوژی برای تشخیص سریعتر بیماری ضروری به نظر می رسد (۱۱، ۳). در بررسی حاضر صرف نظر از میزان حساسیت آزمایش کوآگلوتیناسیون در مراحل مختلف دوره رشد کیست هیداتیک در گوسفندان، میزان ویژگی آن ۱۰۰ درصد بوده است و همین امر ارزش تشخیص این آزمایش را افزایش می دهد. در مجموع در ایران تهیه مواد اولیه ارزان و انجام آن ساده و سهولت توسط افرادی که حتی آموزش مختصری دیده باشند در مورد سرم و خصوصاً ادرار بیماران قابل اجرا است. در عین حال باید توجه داشت که بر اساس نتایج بررسی حاضر پاسخ منفی آن در آزمایش سرم و ادرار دلیل بر عدم وجود کیست نیست. بدین جهت توصیه می شود برای تشخیص قطعی کیست هیداتیک از مجموعه ای از آزمایشات سرولوژی برای تشخیص پادگن ها، پادتن ها و حتی کمپلکس ایمنی در سرم و ادرار تهیه شده در نوبتهای مختلف استفاده کرد تا نتیجه قطعی عاید شود.

بر اساس تحقیقات انجام شده آزمایش های تشخیص پادگن های متاستد و اکینوکوک وقتی مثبت می شوند که کیست هیداتیک فعال باشد چه در صورتی که کیست غیر فعال شود و یا با عمل جراحی برداشته شود نتیجه آزمایشات منفی خواهد بود (۲۲). متأسفانه در بررسی حاضر مدت نگهداری و آزمایش گوسفندان مورد آزمایش و شاهد فقط برای چهار ماه (۱۶ هفته) برنامه ریزی شده بود چه در صورت نگهداری گوسفندان برای مدت طولانی، مشاهده تغییر حساسیت آزمایشات به هنگام غیر فعال شدن کیست به علت طبیعی و یا در نتیجه اثر مواد شیمیایی و جراحی و غیره امکان پذیر بود.

در کوآگلوتیناسیون میکروب استافیلوکوکوس اورئوس که حاوی پروتئین A می باشد به صورت ناقل پادتن های هیداتیک عمل می کند. پروتئین A به قسمت FC پادتن G موجود در سرم هیپرایمن خرگوش می چسبد و بدین ترتیب قسمت Fab برای چسبیدن به پادگن های متاستد اکینوکوک آزاد هستند (۲۲). Ravinder و همکاران (۲۳) حساسیت کوآگلوتیناسیون را در آزمایش سرم بیماران دارای کیست هیداتیک بمیزان ۸۱/۲۵ درصد و در آزمایش ادرار این افراد ۴۳/۷۵ درصد و Parija و Shariff (۲۶) حساسیت این تست را روی سرم افراد ۹۵ درصد و بالاخره Sadaka و همکاران (۲۴) حساسیت این آزمایش را روی ادرار کسانی که دارای کیست هیداتیک بودند ۱۰۰ درصد گزارش کرده اند. چنین بنظر می رسد که گزارش نسبت درصدهای متفاوتی از حساسیت این آزمایش مربوط به جمع آوری نمونه های خون و ادرار بیماران در زمانهای مختلف است، همان گونه که در بررسی حاضر در مورد گوسفندان دارای کیست هیداتیک مشاهده می شود. اساساً نتایج آزمایشات سرولوژی در تشخیص هیداتیدوزیس انسانی و حیوانی بخاطر عدم وجود علائم بالینی خاص و یا نشانه های اختصاصی اهمیت فراوانی دارند (۲۱).

عمده روشهای سرولوژی متداول بر مبنای مشخص کردن پادتن های متاستد در سرم بیماران انسانی و یا حیوانات آلوده استوار است (۷، ۸، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷) ولی در جایی که پاسخهای منفی کاذب به میزان ۳ تا ۱۵ و گاهی تا ۴۰ درصد وجود دارند (۸) جستجو برای مشخص کردن وجود پادگن های انگل در سرم و ادرار و بزاق افراد یا حیوانات مبتلا به هیداتیدوزیس احتمالاً می تواند نقش واکنش های منفی کاذب را خنثی سازد (۲۷، ۲۵، ۲۰، ۱۸، ۸، ۷، ۶، ۵، ۴). پادگن های انگل ناشی از مواد دفعی - ترشحاتی (ES) وقتی زیاد شوند با پادتن های اختصاصی تشکیل کمپلکس های ایمنی را می دهند که برای مدتی کوتاه در جریان خون باقی می ماند (۴) نتیجه آنکه آزمایشات حساس برای تشخیص پادتن متاستد را منفی می سازند (۲۵). بنابراین شاید مشخص کردن کمپلکس های ایمنی و خصوصاً پادگن های انگل در خون بتواند مشکل منفی های کاذب را حل کند بشرط آنکه پادتن وجود نداشته باشد (۸). Liu و همکارانش بر علیه پادگن های اختصاصی ۵ و B متاستد اکینوکوکوس گرانولوزوس پادتن تک دودمانی (منوکلونال) تهیه کردند و سپس باروش الیزابرای تشخیص پادگن های موجود در خون افرادیکه دارای کیست هیداتیک بودند اقدام نمودند ولی تنها موفق به تشخیص ۱۹ درصد بیماران دارای کیست هیداتیک شدند. در نهایت محققین مزبور به این نتیجه رسیدند که وقتی می توان پادگن متاستد را در سرم تشخیص داد که هم مقدار آن به اندازه قابل ملاحظه برسد و هم نوع آن قابل تشخیص باشد (۲۰). گات اشتین حتی مقدار پادگن متاستد اکینوکوک موجود در سرم ۷ بیمار از ۲۱ بیمار دارای کیست هیداتیک به میزان ۶۸۰-۳۱۰ نانوگرم پروتئین در هر میلی لیتر سرم را مشخص کرد. وی مشاهده کرد که پس از عمل جراحی و برداشتن کیست ها مقدار پادگن موجود در سرم بشدت کاهش می یابد و نتیجه آزمایشات برای تشخیص پادگن های انگل منفی می شود و بدین ترتیب می توان از روی وجود یا عدم وجود پادگن های انگل نتیجه عمل جراحی را مورد



## References

۱. اسلامی، ع. (۱۳۷۶): کرم شناسی دامپزشکی - سستدها - انتشارات دانشگاه تهران جلد دوم - شماره ۲/۲۰۳۰.
۲. حسینی، س. ح. (۱۳۷۴): تعیین سویه های اکینوкокوس گرانولوزوس در ایران. پایان نامه دکترای تخصصی ازگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره: ۲۷.
3. Anderson, F. L. (1997): Introduction to cystic echinococcosis and description of cooperative research project in Morocco. Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special references to Morocco. Editor: Ferron L. Anderson. Brigham Young University, Provo, U. S. A., pp: 1-17.
4. Barbieri, M., Severi, M. A., Pirez, M. I., Battistoni, J., and Nieto, A. (1994): Use of specific antibody and circulating antigen serum level in the hydatid immunodiagnosis of asymptomatic population, Int. J. of Parasitol., 27, 7: 937-942.
5. Craig, P. S. (1984): Circulating antigens and antibodies and immune complexes in experimental *Taenia pisiformis* infections of rabbits. Parasitol., 89: 121-131.
6. Craig, P. S. (1986): Detection of specific circulating antigen, immune complexes and antibodies in human hydatidosis from turkana (Kenya) and Great Britain, by enzyme-immunoassay. Para. Immunol., 8: 171-188.
7. Craig, P. S. (1997): Immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* and a comparison of techniques for diagnosis of canine ehinococcosis. Compendium on cystic echinococcosis Africa and in middle eastern countries with special reference to Morocco. Editor: F. L. Andersson. Brigham Young University, Provo, Ut. 84602, U. S. A.
8. Craig, P. S. and Nelson, G S. (1984): The detection of circulating antigen in human hydatid disease. Ann. Trop. Med. Parasitol., 78, 3: 219-227.
9. D'Amelio, R., De Rosa, F., Pontesilli, O., Dayal, R., Brighthouse, G., Teggi, A., Barnet, M. and Lambert, P. H. (1989): Hydatid disease: analysis of parasite antigens in circulating immune complexes and in performed hydatid antigen-antibody complexes. Med. Microbiol. Immunol., 78: 177-186.
10. Devi, Chandsakesan, S., Parija, S. C. (2003): Latex-agglutination test (LAT) for antigen detection in the cystic fluid for the diagnosis of cystic echinococcosis. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 45, 2: 123-126.
11. Dottorini, S., Sparvoli, M., Bllucci, C. and Magnini, M. (1985): *Echinococcus granulosus*: diagnosis of hydatid disease in man. Ann. Trop. Med. Parastitol., 79, 1: 43-49.
12. El Zayyat, E. A., Ramzy, R. M., Abdel-Baki, M. H., Fahmi, I. A., Rifaat, M., Helmy, H. and Abdel Hameed, D.M. (1999): Human cystic ehinococcosis: diagnostic value of different antigenic fractions of hydatid cyst fluid with different specific immunoglobulin G subclasses blot. J. Egypt. Soc. Parasitol., 29, 3: 817-830.
13. Gottstein, B. (1984): An immunoassay for the detection of circulating antigens in human echinococcosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 33, 6: 1185-1191.
14. Hoghooghi, N., Sabbaghian, H., Ghadirian, E., Kagan, I.G. and Schiller, E. L. (1976): Evaluation of the slide - latex agglutination and intradermal (Casoni) tests for echinococcosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 35, 4: 660 - 661.
15. Hoghooghi, N., Kagan, I.G., Schiller, E.L., and Aminzadeh, M. (1977): Evaluation of the indirect haemagglutination and intradermal tests on hydatid and non-hydatid cases. Trop. Geogr. Med., 29, 2: 393 - 398.
16. Jenkins, P., Dixon, J. B., Rakha, N. K. and Carter, S. D. (1990): Regulation of Macrophage mediated larvicidal activity in *Echinococcus granulosus* and *Mesocestoides corti* (Cestoda) infection in mice. Parasitol., 100: 309-315.
17. Judson, D. G., Dixon, J. B., Clarkson, M. J. and Pritchard, J. (1985): Ovine hydatidosis: some immunological charactersitics of the seronegative host. Parasitol., 91: 349-357.
18. Kagan, I. G., Agosin, M. (1968): *Echinococcus* antigens. Bulletin of the World Health Organization (WHO), 39: 13-24.
19. Kinder, A., Carter, S.D., Allan, J., Marshall-Clark, S. and Craig, P. S. (1992): Salivary and serum antibodies in experimental canine taeniasis. Vet.



- Parasitol., 41: 321-327.
20. Liu, D., Rickard, M. D., Lightowers, M. W. (1993): Assessment of monoclonal antibodies to *Echinococcus granulosus* Antigen 5 and Antigen B for detection of human hydatid antigens. Parasitol., 106: 75-81.
21. Parija, S. C. (1998): A review of some simple immunoassays in the serodiagnosis of cystic hydatid disease. Acta. Trop., 70: 17-24.
22. Parija, S. C., Ravinder, P. T. and Subba Rao, K. S. V. K. (1997): Detection of hydatid antigen in urine by countercurrent immunoelectrophoresis. J. Clin. Microbiol., 35, 6: 1571-1574.
23. Ravinder, P. T., Parija, S.C. and Subba Rao, K. S. V. K. (2000): Urinary hydatid antigen detection by coagglutination, a cost - effective and rapid test for diagnosis of cystic echinococcosis in a rural or field setting. J. Clin. Microbiol., 33,3: 2972-2974.
24. Sadaka, H. A., Khalifa, A. M., Eldein, S. Z., Taha, K. and Eldein, K. M. (2002): Urinary antigen detection for diagnosis of hydatid disease. J. Egypt. Soc. Parasitol., 32,1: 69-78.
25. Schantz, P. M. (1988): Circulating antigen and antibody in hydatid disease. N. Engl. J. Med., 318,22: 1469-1470.
26. Shariff, M., Parija, S. C. (1993): Co-agglutination (Co-A) test for circulating antigen in hydatid disease. J. Med. Microbiol., 38,6: 391-394.
27. Yang, Y., Zhang, J. Y. and Li, Y. G. (1993): Evaluation of detection of circulating antibody, circulating antigen and circulating immune complex in human hydatidosis. Chin. J. Para. Dis. 6,3: 195-197.

