Archive of SID

ارزیابی و مقایسه آنتی ژنهای مایع و پروتواسکولکس کیست هیداتید حیوانات مختلف و انسان به روش الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید و وسترن بلاتینگ

دکتر عبدالله رفیعی[۱]، محمد لرگرد دزفولی نژاد[۲] ، اسد میرزایی[۳]

تاریخ دریافت: ۸۴/۶/۶ تاریخ پذیرش: ۸۴/۷/۶

چکیده

مقدمه: وجود سویه‌هایی از انگل اکینوکوکوس گرانولوزوس که با میزبان خود سازش یافته‌اند در نقاط مختلف جهان توسط مطالعات ژنتیکی فراوان به اثبات رسیده است. اما بررسیهای اندکی جهت وجود اختلافات آنتی ژنی در بین این سویه‌ها صورت گرفته است. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی و مقایسه آنتی ژن مایع و پروتواسکولکس کیست هیداتید گوسفند، گاو، گاومیش،شتر و انسان صورت گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه آزمایشگاهی ۱۳۱نمونه مایع کیست هیداتید و ۴۲ نمونه پروتواسکولکس تهیه شده از گوسفند، گاو، گاومیش، شتر و انسان به روش الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید به منظور وجود باندهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین به منظور پی بردن به آنتی ژنتیک بودن باندهای مذکور از روش وسترن بلات با استفاده از نمونه های سرم انسانی افراد مبتلا به کیست هیداتید و سرم افراد سالم استفاده شد. کیستهای مورد بررسی از آزمایشگاههای اهواز، تهران و شوشتر در سال ۱۳۸۳ جمع‌آوری شدند. ارزیابی و مقایسه باندها پس از رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو و آنتی ژن بودن باند و بعد از ایمنوبلاتینگ صورت گرفت.

یافته‌های پژوهش: بررسی مایع و پروتواسکولکس کیست هیداتید حیوانات مختلف و انسان، وجود باندهای ۸ تا ۱۶۲ کیلودالتون را نشان دادند. مقایسه کیست هیداتید در بین نمونه‌های حیوانات مختلف با همدیگر اختلاف هایی را در بین آنها پس از الکتروفورز و ایمنوبلاتینگ نشان دادند ، در حالیکه در بین نمونه‌های بدست آمده از یک نوع حیوان، این اختلافها تنها در الکتروفورز و رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی‌بلو مشاهده شد. نمونه‌های پروتو اسکولکس پس از انجام الکتروفورز الگوی یکسانی از باندها را برای نمونه‌های بدست آمده از یک نوع حیوان و نیز حیوانات مختلف نشان دادند، اما پس از ایمنوبلاتینگ این آنتی ژن، تنها تفاوتهایی در باندهای نمونه شتری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری نهایی: وجود باندهای مشابه در نمونه‌های پروتواسکولکس گوسفند، گاو، شتر و انسان ممکن است ناشی از آلودگی آنها با سویه سگی- گوسفندی باشد. در حالیکه وجود باندهای با وزن مولکولی بالا در نمونه‌های آنتی ژن مایع و پروتواسکولکس کیست هیداتید شتری و عدم وجود آنها در نمونه‌های دیگر حیوانات و انسان می‌تواند این احتمال را مطرح سازد که سویه شتری دارای اختلافات آنتی ژنی با سویه گوسفندی میباشد.

واژه‌های کلیدی: اکینوکوکوس گرانولوزوس، کیست هیداتید، پروتواسکولکس

[۱] – استادیار گروه علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور ، نویسنده مسوول- Email:abdollahrafiei@yahoo.com

[۲] – کارشناس ارشد بخش انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور

[۳] – مربی انگل شناسی مرکز انتقال خون ایلام

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آلودگی به مرحله لاروی کرم اکینوکوکوس گرانولوزوس، بیماری کیست هیداتید یا هیداتیدوز نامیده می‌شود. میزبان نهایی اکینوکوکوس همیشه یک گوشتخوار است. میزبانان واسط این بیماری، حیواناتی نظیر گوسفند، گاو، گاومیش، بز، خوک، شتر و گاهی اوقات انسان می‌باشند. چرخه‌ی مختلفی از این انگل وجود دارد که در نقاط مختلف دنیا و همچنین ایران شناخته شده‌اند(۱). وجود سویه‌های مختلفی در این چرخه‌ها که با میزبان خود سازش یافته‌اند توسط مطالعات اپیدمیولوژیکی، مورفولوژیکی و ژنتیکی به اثبات رسیده است(۲۳،۱۹،۱۸،۹،۸،۶،۴).

در رابطه با اختلافات آنتی ژنی در بین این سویه‌ها مطالعاتی نیز صورت گرفته است. در سال ۱۹۸۹ مطالعاتی با استفاده از روش الکتروفورز در ژل پلی اکرایل آمید[1]مایع کیست هیداتید گوزن وحشی، گوسفند، شتر و گاو ، باندهایی را در محدوده ۲۰۰-۱۴ کیلودالتون نشان دادند. بیشتر باندهای ایجاد شده در محدوده ۶۲-۵۲ کیلودالتون قرار داشتند اما باندهایی که موجب تمایز بین نمونه‌ها می‌شدند در محدوده‌ی ۴۰-۱۴ کیلودالتون واقع شده بودند(۳). یک تحقیق دیگر با استفاده از نمونه‌های مایع کیست هیداتید حیوانات مختلف، باندهای ۱۲۰-۱۸ کیلودالتون را برای نمونه‌های گوسفندی، انسانی و گاوی مشخص کردند، که الگوی باندهای تشکیل شده، حاصل از نمونه‌های گاوی و گوسفندی یکسان بودند. وسترن بلاتینگ نیز۵ باند با اندازه های ۶۸،۵۷،۴۵،۱۱۶،۹۸ کیلودالتون را در یک بررسی دیگر برای نمونه‌های گاوی و انسانی نشان داد(۲).

با مقایسه‌ی بین آنتی ژنهای کیست هیداتید در حیوانات مختلف در اسپانیا، محققین نتایج الگوی بدست آمده از حیوانات را به سه گروه (گوسفندی، گاوی، اسبی-خوکی) تقسیم بندی کردند. در این تحقیق باند ۸۲ کیلودالتونی فقط در اسب و باندهای ۵۰ و ۶۰ کیلودالتونی فقط در نمونه‌های خوکی دیده شدند(۲۱). در یک بررسی پروتواسکولکسهای هموژن شده‌ی نمونه گوسفندی پس از الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید، دوازده باند پروتئین ۳۴ تا ۱۸۰ کیلودالتون را نشان دادند، که در وسترن بلاتینگ، باندهای ۱۱۰، ۴۲ و ۳۷ کیلو دالتونی دارای خاصیت آنتی ژنیک بودند(۹). نمونه‌های پروتواسکولکس کیست هیداتید گوسفندان ایران و نمونه های اسبی انگلیس و نمونه‌های شتری لیبی به روش وسترن بلات با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند: باند آنتی ژنی ۳۱ کیلودالتون در نمونه‌های پروتواسکولکس گوسفندی تشخیص داده شد در صورتیکه نمونه‌های پروتواسکولکس تهیه شده از اسب و شتر فاقد این باند بودند. در مقابل سرم افراد مبتلا به کیست هیداتید، وجود آنتی بادی برعلیه باند ۴۵ کیلودالتونی را فقط در نمونه‌های پروتواسکولکس اسب و باند ۱۲۵ کیلودالتون را فقط در نمونه‌های تهیه شده از اسب و شتر مشخص نمودند(۱۵). در حال حاضر مشخص شده است که سویه‌هایی از اکینوکوکوس گرانولوزوس وجود دارند که در میزبانهای اهلی و یا وحشی سازش یافته‌اند، اما هنوز اطلاعات اندکی درباره‌ی اختلافات آنتی‌ژنی این سویه‌ها وجود دارد(۱۶). در کشور ما نیز مطالعه‌ی ژنتیکی وجود سویه‌ی گوسفندی و شتری را ثابت نموده‌اند (۲۳،۵)، اما هنوز تحقیقی در رابطه با اثبات وجود اختلاف در الگوی حاصل از پروتئینهای این سویه‌ها صورت نگرفته است لذا در تحقیق حاضر نمونه‌های مایع و پروتواسکولکس

1-Sodium Dodesyl solphate poly acrylamide Gel Electrophiresis (SDS-PAGE)

www.SID.ir

Archive of SID

کیست هیداتید تهیه شده از میزبانهای مختلف و مقایسه آنها با یکدیگر به روش SDS-PAGE و وسترن بلاتینگ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روشها

در این مطالعه آزمایشگاهی به منظور تهیه نمونه حیوانات مبتلا به کیست هیداتید ، پس از هماهنگی لازم، کبد و ریه آلوده به کیست هیداتید گوسفندی و گاوی (۴۹ نمونه) از کشتارگاه اهواز، نمونه‌های گاو میش (۶ نمونه) از کشتارگاه شوشتر و نمونه های شتر (۳۴ نمونه) از کشتارگاه کهریزک تهران جمع‌آوری و در شرایط $4^{\circ c}$ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نمونه‌های انسانی از بیماران مبتلا به کیست در اتاق عمل بیمارستانهای گلستان و امام خمینی شهرستان اهواز که حین جراحی مایع کیست آنها آسپیره می‌شد، بدست آمدند.

الف)تهیه آنتی ژن مایع کیست هیداتید:

پس از آسپیره کردن مایع کیست به مدت ۳ دقیقه با دور ۴۵۰۰ سانتریفوژ گردید. مایع کیست بدست آمده از این مرحله به مدت ۳ شبانه روز در برابر آب مقطر دیالیز گشته و هر روز ۳ مرتبه آب مقطر ظروف دیالیز تعویض شدند. در نهایت نمونه‌ها لیوفلیز شده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند (۱۶).

ب)تهیه آنتی ژن پروتواسکولکس:

برای جمع‌آوری پروتواسکولکسها پس از باز کردن کیستها ابتدا غشاء زاینده‌ی آنها را در بافر PBS قرار داده تا پروتواسکولکسهای درون آن کاملاً خارج شوند. پروتواسکولکسهای انسانی از کیستهایی که به صورت کامل توسط جراح در اتاق عمل تخلیه شده بودند بدست آمدند. پروتواسکولکسها ۳ مرتبه با PBS شسته شده و سپس با دور ۶۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. بعد از آن ۳ مرتبه عمل ذوب و یخ شدن صورت گرفت. به اندازه‌ی یک برابر حجم به آنها PBS اضافه شد. پس از آن توسط دستگاه اولتراسونیک به مدت ۳ دقیقه با قدرت ۱۵۰ وات پروتواسکولکسها خرد شدند. در نهایت در دمای۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند(۱۶).

ج)تهیه سرم:

نمونه‌های سرم از بیماران مبتلا به کیست هیداتید که ابتلا آنها به کیست هیداتید بوسیله پاتولوژی قطعی شده بود، جمع‌آوری شدند. نمونه‌های سرم کنترل منفی نیز از افراد سالم تهیه شدند. برای انجام الکتروفورز، ژل ۱۰٪ پلی آکریل آمید تحت شرایط احیاء مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور آنتی ژن مایع و پروتواسکولکس کیست هیداتید با حجم مساوی با بافر نمونه[2] (۶۵۰ میکرولیتر از بافر نمونه با ۱۰۰ میکرولیتر از سدیم دودسیل، محلول تریس ۰/۵ مولار، ۶/۸ سولفات ۱۰٪، گلیسرول دیتیوترتیول و برموفنول بلو) مخلوط شده و بمدت ۳ دقیقه در آب جوش قرار داده شدند . سپس بمدت ۵ دقیقه با دور ۴۵۰۰ سانتریفوژ شدند. آنتی ژن و مارکر استاندارد در چاهکهای ژل ریخته شد. برای ژل متراکم، شدت جریان ۱۵ میلی آمپر و برای ژل جداکننده، شدت جریان ۲۰ میلی آمپر به ازاء هر ژل استفاده شد. سپس ژل به مدت ۳۰ دقیقه با کوماسی بلو رنگ‌آمیزی شد. جهت انجام آزمایش ایمنوبلات قبل از رنگ‌آمیزی، ژل باندهای پروتئینی تفکیک شده بر روی ژل به کاغذ نیتروسلولز در تانک بلات به مدت ۲ ساعت با جریان ۲۵۰ میلی آمپر انتقال داده شدند. کاغذ نیتروسلولز در محلول PBS به علاوه‌ی ۵٪ شیرخشک بدون چربی[3] به مدت ۱ ساعت بلوک گردید، سپس با محلول PBS حاوی ۰/۱٪ توئین

2- Sample Coktail buffer
3- Skim Milk

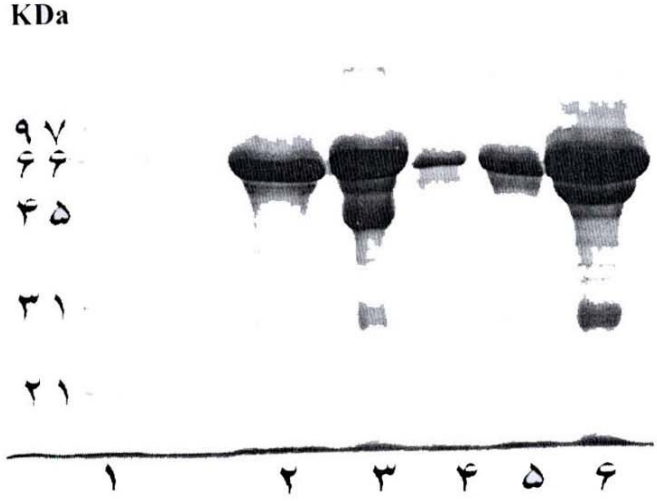
www.SID.ir

Archive of SID

۲۰، سه بار و هربار به مدت ۱۵ دقیقه در حالیکه برروی شیکر قرار داشتند، شستشو داده شدند. سپس کاغذهای نیتروسلولز بمدت ۱/۵ ساعت با نمونه سرمهای انسانی کنترل مثبت و منفی که به نسبت ۱:۱۰ با PBS رقیق شده بودند مجاور شدند. کاغذ نیتروسلولز همانند مراحل قبل شستشو داده شده و به آن آنتی بادی ضد سرم انسانی کنژوگه شده با آلکالین فسفاتاز بمدت ۱ ساعت اضافه گردید و سپس همانند مراحل قبل شستشو صورت گرفت. سوبسترا[1] BCIP/NBT به مدت ۲۰ دقیقه به کاغذ نیتروسلولز اضافه شد و در نهایت پس از شستشو نتایج حاصله مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌های پژوهش

مایع کیست هیداتید تهیه شده از گاو، گاومیش، شتر و انسان پس از الکتروفورز با ژل ۱۰٪ پلی‌اکریل آمید ۱۰٪ باندهایی را در محدوده ۱۴۸-۸ کیلودالتون نشان دادند. برخی از باندها مانند باندهای ۳۵-۲۲ کیلودالتون فقط در نمونه‌های گوسفندی مشاهده شد و در نمونه‌های سایر میزبانان واسط مشاهده نشدند. همچنین برخی از باندهای با وزن مولکولی بالا مانند ۱۴۸ کیلودالتون در نمونه‌های گوسفندی و شتری مشاهده شد ولی در سایر نمونه‌های مورد بررسی مشاهده نشد(تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: مایع کیست هیداتید حیوانات مختلف و انسان پس از الکتروفورز در ژل پلی اکراپلامید ۱۰٪ و رنگ آمیزی با کوماسی بلو : باندهای تشکیل شده توسط مارکراستاندارد **Bio – Rad** ، ۲ – نمونه انسان ، ۳- نمونه شتر ، ۴ – نمونه گاومیش ، ۵ – نمونه گاو ، ۶- نمونه گوسفند

1-Bromoholroindolyl phosphate/ Tetroazolium

www.SID.ir

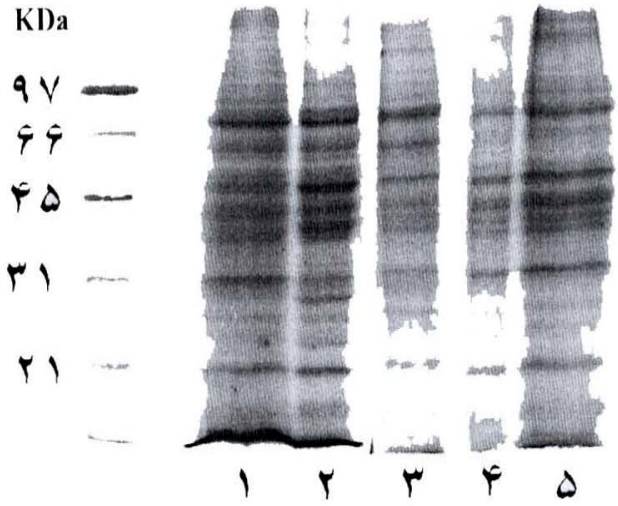
Archive of SID

نتایج بررسی پروتواسکولکس تهیه شده از کیست هیداتید تهیه شده از گوسفند، گاو، گاومیش، شتر و انسان باندهایی در محدوده تقریبی ۱۷ تا ۱۶۲ کیلودالتون را مشخص نمودند. برخی از باندهای جدا شده در الکتروفورزیس با سرم بیماران مبتلا به کیست هیداتید واکنشی نشان نمی‌دادند (تصویر شماره ۲).

از طرف دیگر سرم افراد مبتلا به کیست دارای واکنش آنتی بادی مشخص برعلیه آنتی‌ژنهای مایع کیست هیداتید گوسفندی با وزن مولکولی تقریبی ۸ کیلو دالتون بودند ، در صورتیکه این واکنش برعلیه آنتی‌ژنهای تهیه شده از سایر حیوانات یا مشاهده نشد و یا دارای واکنش ضعیفی بود(تصویر شماره ۳).

نتایج مشابه وجود واکنش برعلیه باندهایی با وزن مولکولی ۱۲۰ کیلودالتون در نمونه‌های تهیه شده از گوسفند و شتر و عدم وجود واکنش برعلیه باندهای مذکور در نمونه‌های سایر میزبانان واسط مشاهده گردید (تصویر شماره ۴).

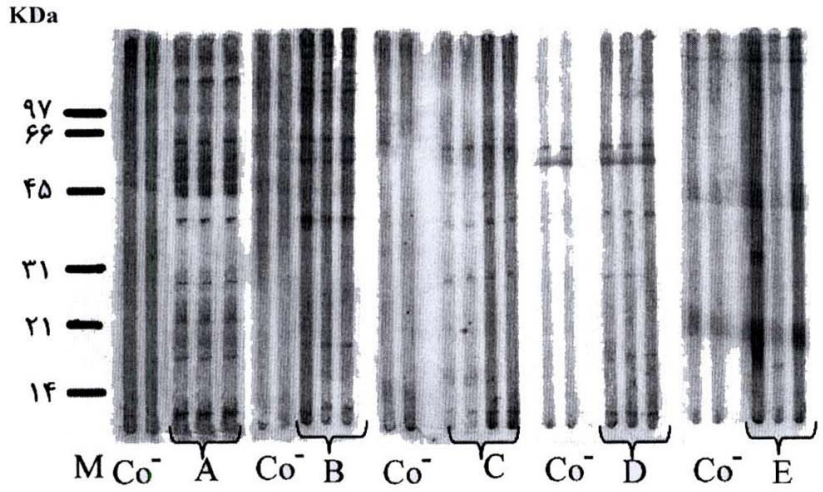
نتایج بررسی آنتی ژن پروتواسکولکس نمونه‌های تهیه شده از گوسفند و شتر در وسترن بلاتینگ نیز نشان داد که باندهایی با وزن مولکولی بالاتر از ۹۷ کیلودالتون در نمونه‌های شتری با سرم‌های بیماران مبتلا به کیست هیداتید انسانی واکنش نشان نمی‌دهند در صورتیکه این باند در نمونه‌های پروتواسکولکس گوسفندی مشاهده نشدند(تصویر شماره ۴).



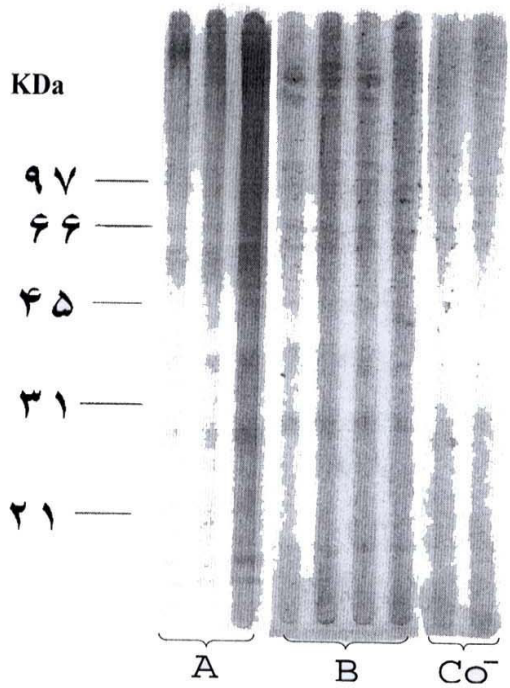
تصویر شماره ۲: نمونه‌های پروتواسکولکس کیست هیداتید حیوانات مختلف و انسان پس از الکتروفورز در ژل ۱۰٪ پلی اکریل آمید ۱۰٪ و رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو: ۱- نمونه‌گوسفندی. ۲- نمونه‌گاومیشی. ۳- نمونه‌گاوی. ۴- نمونه‌انسانی. ۵- نمونه‌شتری

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر شماره ۳ – ایمنوبلاتینک انتی ژن مایع کیست هیداتید حیوانات مختلف و انسان نمونه‌های انتی ژن مایع کیست هیداتید گوسفند (شمارهٔ ۱) ، شتر (شمارهٔ ۲) ، گاو (شمارهٔ ۳) ، گاومیش (شمارهٔ ۴) و انسان (شمارهٔ ۵) پس از مواجه با سرم بیماران مبتلا به کیست هیداتید . M– ماکراستاندارد ، Co^- : نمونهٔ سرم کنترل منفی



تصویر شماره ۴ : ایمنوبلاتینگ آنتی ژن مایع کیست هیداتید گوسفند و شتر آنتی ژن پروتواسکولکس کیست هیداتید گوسفند (شمارهٔ ۱) و شتر (شمارهٔ ۲) پس از مواجه با سرم بیماران مبتلا به کیست هیداتید ، Co^- : نمونهٔ سرم کنترل منفی

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه برخی باندهای حاصل از ژل پس از رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو در آزمایشات ایمنوبلات مشخص نشدند که این امر می‌تواند دلیل بر غیرآنتی ژنیک بودن این باندها باشد. این یافته ممکن است ناشی از تقلید آنتی ژنیک انگل از میزبان جهت گریز از پاسخ ایمنی میزبان باشد (۱۷). همچنین برخی باندها پس از ایمنوبلات ظاهر شدند که در آزمایش الکتروفورز مشاهده نشدند. این مسئله شاید موید این موضوع باشد که تست ایمنوبلات حساسیت بیشتری نسبت به آزمایش SDS-PAGE دارد، چرا که ایمنوبلاتینگ می‌تواند مقادیر آنتی ژن را در حد پیکوگرم اندازه‌گیری نماید(۱۳).

مقایسه نمونه‌های مایع کیست هیداتید گوسفند، گاو، گاومیش و انسان در مقایسه با یکدیگر تقریباً باندهای متفاوتی را پس از آزمایش الکتروفورز نشان دادند و باندهای ۲۲ و ۲۰ کیلودالتونی در مایع کیست هیداتید گوسفند و ۱۸ کیلودالتونی در نمونه گاوی و نیز باند ۱۶ کیلودالتونی در نمونه انسانی وجود داشتند که در سایر نمونه‌ها دیده نشدند.

همچنین مایع کیست هیداتید نمونه‌های مختلف (به جزء نمونه شتری) در این مطالعه در باندهای با وزن مولکولی بالا تفاوتهایی را از یکدیگر نشان می‌دادند، این احتمال که ممکن است مواد سرمی میزبان باعث بروز چنین اختلافاتی شوند محتمل به نظر می‌رسد، اما در مقایسه مایع کیست هیداتید حیوانات مختلف در آمریکا علاوه بر اینکه تفاوتهایی را در بین حیوانات مختلف مشاهده کردند، نمونه‌های یک نوع حیوان نیز تفاوتهایی را در بین خود نشان دادند(۱۳). بنابراین به نظر می‌رسد که تفاوتهای مذکور مربوط به میزبان نمی‌شود. البته باید توجه داشت که در مطالعه فوق نمونه‌های تهیه شده مربوط به حیوانات در کشورها و یا حتی قاره‌های متفاوت بودند، بنابراین این احتمال که ممکن است سویه‌های متفاوتی باعث آلودگی در حیوانات شده باشند، بیشتر است.

نمونه‌های مایع کیست هیداتید گاو، گاومیش و انسان در مقایسه با نمونه‌های گوسفندی باندهای کمتری را نشان دادند. احتمالاً دلیل عمده تفاوت در تشکیل باندهای آنتی ژنی ناشی از تفاوت میزان پروتئین کیست نمونه‌های مورد بررسی باشد. بررسیهای مختلف مقدار آنتی ژنیسیته را با محل جایگزینی، بزرگی، بارور و غیربارور بودن کیست و بسیاری فاکتورهای دیگر مرتبط می‌دانند به‌طوریکه کیستهای کبدی و بارور گوسفندی خاصیت آنتی ژنیک بهتری را نشان می‌دهند(۱۰). نمونه‌های گاوی، انسانی و گوسفندی، باندهای مشابهی را با سایر مطالعات صورت گرفته در جهان نشان می‌دادند (۲۰،۱۱،۶،۲). تحقیقات سویه‌ی گوسفندی، این سویه را در کشورهای استرالیا، ایتالیا، ترکیه، سوئیس، اسکاتلند و نواحی مجاور این کشورها یکسان می‌داند(۱۶). وجود باندهای مشابه در مطالعه حاضر و دیگر مطالعات ممکن است بدلیل تشابه سویه گوسفندی باشد. در این بررسی نمونه‌های آنتی‌ژن پروتواسکولکس یک حیوان در مقایسه بین خودشان اختلافی را نشان نمی‌دادند. همچنین نمونه‌های آنتی ژن پروتواسکولکس کیست هیداتید گوسفند، گاو، گاومیش، شتر و انسان باندهای یکسانی را نیز در مقایسه با یکدیگر پس از آزمایش الکتروفورز نشان دادند. بعلاوه آزمایش ایمنوبلاتینگ آنتی ژن پروتواسکولکس نیز در بین نمونه های گوسفندی، گاوی، گاومیش و انسان تشابهاتی را نشان داد. از آنجا یکه بررسیهای ژنتیکی تنها دو سویه گوسفندی و شتری را در ایران مشخص نموده است و با توجه به اینکه گوسفندان بیشتر به صورت سنتی کشتار می‌شوند و

www.SID.ir

Archive of SID

معمولاً احشاء آلوده‌ی این حیوانات در دسترس میزبان نهایی قرار می‌گیرند، بنابراین احتمالاً در ایران سویه گوسفندی در آلوده کردن حیواناتی همچون گوسفند، گاو، گاومیش و انسان دخالت دارد. اختلاف در بین باندهای بدست آمده حاصل از یک نوع آنتی ژن و یک نوع حیوان می‌تواند به دلیل اختلافات تکنیکی در این دو بررسی باشد . این امکان نیز وجود دارد که به دلیل تفاوت جغرافیایی این سویه‌ها، ممکن است حتی سویه شتری ایران با سویه شتری لیبی تفات داشته باشد. اسلامی و هرندی در بررسی ایزوله‌های جدا شده از انسان و دیگر حیوانات توسط روشهای مورفولوژیکی و ژنتیکی، وجود دو سویه‌ی گوسفندی و شتری را در ایران تأیید کردند(۵،۲۳). با توجه به مطالعه اخیر و احتمال آلودگی انسان به سویه شتری ضروری به نظر می‌رسد که وجود آنتی بادی های با وزن مولکولی بالا در ایمنوبلاتینگ، نمونه‌های شتری در تستهای تأییدی که جهت تشخیص بیماری کیست هیداتید در نظر گرفته می‌شود، مورد توجه قرار گیرد.

در نهایت تفاوتهای مربوط به مایع کیست در بین این نمونه‌ها و به جزء نمونه شتری را نمی‌توان به دخالت سویه‌ای دیگر و همچنین اختلاف در بین سویه گوسفندی مربوط دانست . وجود باندهای یکسان در نمونه‌های آنتی ژن پروتواسکولکس و مایع کیست هیداتید گوسفند، گاو، گاومیش و انسان احتمالاً دلیل بر آلوده شدن این حیوانات به سویه گوسفندی و عدم وجود آنها در نمونه‌های تهیه شده از دیگر میزبانان، ممکن است به دلیل اختلاف آنتی ژنیکی حاصل از وجود سویه‌های متفاوت در آلوده کردن میزبان باشد.

منابع

۱- موحدی، ایرج؛ دلیمی اصل، عبدالحسین. کیست هیداتید، اپیدمیولوژی کیست هیداتید در جهان و ایران. چاپ اول، چاپخانه مقدم، ۱۳۷۲، ۲۰-۱۸.

2. Barbiner M., Battistoni J.et al;High performance latex reagent for hydatid serology using an Echinococcus granulosus lipoprotein antigen fraction purified from cyst fluid in one step; Int J parasitology, 1993, vol 23(5): 563-572.

3. D amelio R. pontesilli O., Dayal R., et al; lamber PH. Characterization of parasite from human hydatid cyst fluid by SDS-PAGE and IEF; Med Microbial Immunol, 1985, vol 14: 43-50.

4. Haag KL., Araujo Au., Gottestion B., et al; Selection recombination and history in a parasitic flatworm in (Echinococcus) inferred from nucleotide sequences; Mem inst oswaldo cruz, 1998, vol 93(5): 695-702.

5. Harandi HF., Hobbs PR., Adams PJ., et al; Thomson RC. Molecular and morphological characterization of Echinococcus granulosus of human and animal origin in Iran; parasitology, 2002, vol 125(4): 367- 373.

www.SID.ir

Archive of SID

6. Hoberg EP., Miller S., Brown MA.; Echinococcus granulosus (Taeniidae) and outchthonous Echinococcosis in an noroh Amirican hourse; J parasito, 1994, vol 80(1): 141-144.
7. Janssen D., Dewit M., Derycke PH.; Hydatidosis in Belgium analysis of larval Echinococcus granulosus by SDS-PAGE and western blotting; Ann soc Bel Med Trop 1990, vol 10(2): 121-129.
8. Kamenetzky L., Canova SG., Guaraera E.,et al; Echinococcus granulosus DNA extraction from germinal layers allows sttoin determination in fertile and non fertile hydatid cyst; Exp parasito, 2000, vol 95(2): 122-127.
9. Kamenetzky L., Gutierrez AM., Canova SG., et al; Several strain of Echinococcus granulosus an livewstock and human in Argentina; Infect Gen vol, 2002, vol 2(2): 129-139.
10. Khan AH., EI-BAUNI A., Ali my.; Fertility of the cyst Echinococcus granulosus in domestic herbivores from Benghazi, libya, and the reactivity of antigens produced from them; Ann Trop Med Parasitol, 2001, vol 95(4): 337- 342.
11.Kanawar JR., Kaushik SP., Sawhney IM., et al; Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognized by immunoblotting; J Med Microbial, 1992, vol 36(1): 49- 57.
12.Maddison SE., Selmenda SB., Schantz PM., et al; A specific diagnostic antigen of Echinococcus granulosus with an appearent molecular weight of 8 kDa; Am J Trop Med Hyg, 1989, vol 40(4); 377- 383.
13. Perz- Serrano J., Grosman C., Urea- paris MA., et al; Depolarization of the tegument precedes morphological alteration in Echinococcus protoscoleces incubated with ivermictin; parasitol Res, 2001, vol 87: 804-807.
14.Pezzela M., Galli C., Dellia S., et al; Fraction and characterization of an antigen similar to human serum albumin; Trans Roy Soci Trop Med Hyg, 1984, vol 18: 821- 826.
15.Rafiei A., Craig PS.; The immunodiagnostic potential of protoscolex antigen in human cystic Echinococcosis and possible of parasite strain; Annal Trop Med and parasitology, 2002, vol 96(4): 383- 389.
16. Rausch RI.; Life cycle patterns and geographic distribution of Echinococcus species, In: Thompson RCZ & Lmbery AJ. Echinococcud and hydatid; walling ford, UK, CAB, International. 1995, 89-103.
17. Rosenzvit MC., Zhang LH., Kamenetzky L., et al; Genetic variation and epidemiology of echinococus granulosus in Argentina; Parasitology, 1999, vol 18(5): 523-30.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Rosenzvit MC., Canova SG., Kamenzky L., et al; Echinococcus granulosus: Intraspecific genetic variation assessed by a DNA repetitive element; Parasitology, 2001, 123(4): 381- 389.
19. Sbihi Y., Janssen D., Osuna A.; Serologic recognition of Hydatid cyst antigens using different purification methods; parasitology, 1996, vol 24: 205-211.
20. Shambesh Mk., Craig PS., Gusby AM., et al; Immunoblot evaluation of the 100 and 130 kda antigen in camel hydatid cyst fluid for the serodiagnosis of human cystic Echinococcosis in libya; Trans Royal Soci Trop Med Hyg, 1995, vol 89.
21. Siles- Lucas M., Cuesta, Bondera C.; Echinococcus granulosus in spain: strain differentiation by SDS-PAGE of somatic and excretory secratory proteins; Helmintol, 1996, vol 10(3): 252-7.
22.Thompson RCA., Mc manus DP.; Toward a taxonomic revision the genus Echinococcus; Trends Parasitology, 2002, 18(1): 452- 457.
23.Zhang L., Eslami A., Hosseini SH., et al; Indication of the peresence of two distinct strain of Echinococcus granulosus in Iran by mitochondrial DNA markers; American J Trop Med Hyg, 1998, vol 89(1): 171- 174.

www.SID.ir