مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال بیست و هفتم/شماره ۹۹/آبان ۱۳۸۸

تعیین میزان مقاومت به هیداتیدوز ثانویه در موش متعاقب ایمونیزاسیون با آنتی‌ژن‌های پروتواسکولکس

دکتر بهزاد حق پناه*، زهرا غیور**، نسرین احمدی***، دکتر حسین حجازی*

* دانشیار گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

** مربی گروه انگل و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

*** دانشجوی فوق لیسانس انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۸

تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۱/۲۱

چکیده

مقدمه: هیداتیدوز یک بیماری انگلی زئونوز می‌باشد که به وسیله‌ی مرحله‌ی لاروی اکینوکوکوس‌گرانولوزوس در انسان و سایر میزبان‌های واسط ایجاد می‌گردد. این بیماری به عنوان یک مشکل بهداشتی دامپزشکی در کشور ما حایز اهمیت می‌باشد و با توجه به نقش علف‌خواران در انتشار بیماری می‌توان با تهیه‌ی واکسن حتی برای مدل‌های حیوانی سبب کاهش آلودگی‌های انسانی و زیان‌های اقتصادی دام گردید.

روش‌ها: ۱۰۰ میکروگرم از پروتیین‌های غشایی پروتواسکولکس به عنوان آنتی‌ژن به همراه ادجوانت فروند ناکامل، جهت ایمونیزاسیون به صورت درون صفاقی به ۳۰ عدد موش C57B1/C6 تلقیح گردید. یادآور آن نیز ۲۷ روز بعد با همین مقدار آنتی‌ژن انجام گردید. دو هفته پس از یادآور، تلقیح ۲۰۰۰ عدد پروتواسکولکس زنده در دو گروه موش‌های آزمایش و ۱۵ عدد موش‌های گروه شاهد به صورت درون صفاقی صورت گرفت.

یافته‌ها: پس از گذشت ۲۴۰ روز در ۵۰٪ از موش‌هایی که ایمن گردیده بودند، کیست تشکیل نگردید و در بقیه‌ی آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد کیست‌هایی به تعداد کم‌تر و کوچک‌تر تشکیل گردید. میانگین وزن کیست در گروه آزمایش ۰/۳۶ ± ۰/۳۹ گرم و در گروه شاهد ۱/۸ ± ۱/۷ گرم ($P < ۰/۰۱۵$) و میانگین تعداد کیست‌ها در گروه آزمایش ۱۵/۶ ± ۱۰/۷ عدد و در گروه شاهد ۴۴/۲ ± ۵۲/۶ عدد بود ($P < ۰/۰۰۲$). به طورکلی نتایج نشان داد که حفاظت ایجاد شده از طریق ایمونیزاسیون ۷۹/۷–۷۶/۷ درصد بوده است.

نتیجه‌گیری: این تجربه نشان داد که آنتی‌ژن‌های سطحی پروتواسکولکس به همراه ادجوانت فروند ناکامل توانسته است به اندازه‌ی کافی سیستم ایمنی میزبان را تحریک نماید. بررسی تعداد و وزن کیست در دو گروه موش‌های آزمایش و شاهد نشان داد که حفاظت از طریق ایمونیزاسیون ایجاد شده است.

واژگان کلیدی: اکی‌نوکوک، ایمنی‌زایی، پروتواسکولکس

تعداد صفحات: ۸

تعداد جدول‌ها: ۳

تعداد نمودارها: –

تعداد منابع: ۱۹

آدرس نویسنده مسؤول: دکتر بهزاد حق پناه، دانشیار گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

E-mail: haghpanah@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir

مقدمه

بیماری هیداتیدوز یک عفونت انگلی است که توسط سستودهای جنس اکی‌نوکوکوس ایجاد می‌شود. مهم‌ترین و شایع‌ترین این انگل‌ها، اکی‌نوکوکوس گرانولوزوس است (۱).

انسان با بلع تصادفی تخم‌های عفونت‌زای انگل به همراه سبزیجات و آب آلوده، به عفونت کیست هیداتید مبتلا می‌شود، به عبارت دیگر انسان در چرخه‌ی تکاملی انگل نقش میزبان واسط اتفاقی را ایفا می‌کند. در انسان کیست‌ها در وهله‌ی اول در کبد و ریه‌ها و به میزان کم‌تر در سایر احشای داخلی (عضلات، مغز، استخوان و...) تشکیل می‌شوند. حضور کیست‌ها در اندام‌های داخلی می‌تواند عوارض جدی و خطرناکی را برای میزبان به دنبال داشته باشد که گاه به مرگ بیمار منجر می‌شود (۲-۱). بیماری کیست هیداتید همچنان به عنوان یک عامل جدی مرگ و میر انسان‌ها در برخی نقاط دنیا به حساب می‌آید (۳). محققین توانسته‌اند با استفاده از مواد آنتی‌ژنیک انگل اکی‌نوکوکوس و پس از انجام آزمایش‌های گوناگون و بررسی‌های ایمونولوژیک در حیوانات تجربی، آن‌ها را در مقابل هیداتیدوز مصون نمایند (۴-۳). از جمله‌ی این مواد آنتی‌ژنیک می‌توان به پروتیین‌های جدا شده از مراحل مختلف تکاملی انگل اکی‌نوکوک، شامل آنتی‌ژن‌های تخم، لارو و کرم بالغ اشاره نمود.

Malon با قرار دادن پروتواسکولکس‌ها در مجاورت اشعه‌ی ماورای بنفش و تلقیح آن‌ها، سبب ایجاد اثر حفاظتی در عفونت‌های تجربی گردید (۵). Carol موش‌ها را با آنتی‌ژن‌های تگومنت اکینوکوکوس گرانولوزوس (ISCOMs) از طریق داخل بینی (Intranasal) و زیر جلدی ایمن نمود (۶). هاشمی‌تبار و همکاران مخلوط هموژنیزه‌ی بدن کرم بالغ را به همراه ادجوانت فروند کامل به موش‌ها تزریق کردند و آن‌ها را صد در صد ایمن نمودند (۷). در مطالعه‌ای دیگر، این محققین با استفاده از آنتی‌ژن‌های جدا شده از پروتواسکولکس، مایع کیست و کرم بالغ به همراه ادجوانت کامل فروند، در موش و گوسفند مقاومت به نسبت بالایی ایجاد کنند. در این مطالعه با آنتی‌ژن‌های پروتواسکولکس ۷۲/۱، آنتی‌ژن‌های مایع کیست ۸۲/۶ و آنتی‌ژن‌های کرم بالغ ۹۱/۹ درصد مقاومت ایجاد شد (۸). AL-qaoud موش‌ها را با آنتی‌ژن B (یک ترکیب از مایع خام کیست هیداتید گوسفند) ایمن نمود و سطوح قابل توجهی از مقاومت به صورت کاهش در تعداد کیست‌ها تا ۹۸/۳ درصد را گزارش نمود (۹). سلیمانی و همکاران ایمنی‌زایی آنتی‌ژن‌های مراحل مختلف چرخه‌ی زندگی اکی‌نوکوکوس گرانولوزوس را مورد ارزیابی قرار دادند. ایمنی ایجاد شده با استفاده از آنتی‌ژن‌های پروتواسکولکس، انکوسفر و مخلوط این دو به ترتیب ۵۰/۲، ۷۲ و ۸۲ درصد تعیین شد (۱۰). روش‌های ایمونیزاسیون با استفاده از تخم اکی‌نوکوک، لارو پروتواسکولکس و یا کرم بالغ هموژنیزه توسط محققین مختلف تجربه و آزمایش گردیده است. با توجه به مشکلات دسترسی به کرم بالغ و یا تخم اکی‌نوکوک و از طرفی خطرات استفاده از تخم انگل در احتمال انتقال بیماری به انسان، به نظر می‌رسد لارو پروتواسکولکس علاوه برآن‌که می‌تواند به عنوان ماده‌ی خام آنتی‌ژن جهت ایمونیزاسیون به کار گرفته شود خطر آلودگی در هنگام استفاده را نیز ندارد. در کشور ما نیز با توجه به این مسأله که مرحله‌ی لاروی این انگل در بدن انسان و میزبانان واسط دیگر مشکلات زیادی ایجاد می‌نماید و سالیانه ضررهای اقتصادی هنگفتی به بار می‌آورد، به نظر

www.mui.ac.ir

می‌رسد انجام تجربه‌های تهیه‌ی واکسن مناسب می‌بایست مورد توجه قرار گیرد. این امر بدون شروع تجربیات اولیه و تکامل گام به گام آن امکان‌پذیر نمی‌باشد. تحقیق حاضر تلاش دارد علاوه بر این‌که بیماری را در یک مدل حیوانی آزمایشگاهی مناسب استقرار دهد نتایج استفاده از آنتی‌ژن‌های سطحی لارو پروتواسکولکس را نیز در القای ایمنی بررسی نماید.

روش‌ها

برای ایجاد ایمنی در موش‌ها از پروتیین‌های جدار پروتواسکولکس‌های زنده و فعال استفاده گردید. به این منظور از مقدار تقریبی یک میلیون پروتواسکولکس در دو سی‌سی محلول Phosphate Buffer solution (PBS) با ۸ میلی‌لیتر از محلول ۱٪ مگا ۱۰ (سیگما)، با ۱۰ میلی مولار Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) و ۴ میلی‌مولار Phenyl Methyl Sulfonyl Fluride (PMSF) مخلوط گردید و در حرارت اتاق بر روی یک شیکر با حرکات سریع و مداوم به مدت ۲ ساعت گذاشته شد (۱۱).

پس از ۲ ساعت مخلوط در جایی ثابت قرار گرفت و با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد و محلول رویی آن جدا گردید و میزان پروتیین آن به منظور اطمینان از وجود آنتی‌ژن‌های انگل که از جنس پروتیین می‌باشند، به روش بیوره اندازه‌گیری شد.

باتوجه به مستعد بودن موش‌های C57B1/C6 برای آلوده شدن به کیست هیداتیک از این نوع موش استفاده گردید. معیار ورود به مطالعه و انتخاب موش‌ها سن بین ۱۵-۱۲ هفته و جنسیت نر بود. برای گروه آزمایش تعداد ۳۰ عدد موش و برای گروه شاهد تعداد ۱۵ عدد در نظر گرفته شد.

حجمی معادل ۱۰۰ میکروگرم (µg) آنتی‌ژن برداشت گردید و در ۲۵۰ میکرولیتر PBS استریل با ادجوانت فروند ناکامل به نسبت (۱:۱) امولیسیون گردید و به هر موش به صورت درون صفاقی تزریق گردید. بعد از ۲۷ روز از تزریق اولیه دوباره ۱۰۰ میکروگرم آنتی‌ژن به شیوه‌ی مرحله‌ی اول تزریق گردید. دو هفته پس از تزریق یادآور (ایمونیزاسیون) به موش‌های آزمایش، هم‌زمان به همه‌ی موش‌های گروه آزمایش و شاهد ۲۰۰۰ عدد پروتواسکولکس زنده و فعال به صورت درون صفاقی تلقیح گردید.

پس از تلقیح پروتواسکولکس دو گروه آزمایش و شاهد در قفس‌های جداگانه قرار داده شدند. پس از گذشت ۸ ماه همه‌ی موش‌ها کشته شدند و شکم آن‌ها باز گردید. ابتدا محل تشکیل کیست‌ها یادداشت گردید. سپس کیست‌های مربوط به هر موش با دقت جدا و روی شیشه‌ی ساعت گذاشته شد و با ترازوی دقیق وزن گردید. به کمک کولیس ورنیه قطر بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین کیست اندازه‌گیری و در نهایت تعداد کیست‌های مربوط به هر موش شمارش شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از آزمون t-student در نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) انجام گرفت.

یافته‌ها

به دلیل ضرورت نگهداری موش‌ها به مدت طولانی و رشد کیست‌ها و نیز وجود عوامل باکتریایی موجود در محل و تزریق داخل صفاقی لارو تعدادی از موش‌ها در حین آزمایش تلف گردیدند. از ۳۰ موش گروه آزمایش تعداد ۱۸ عدد آن‌ها و از ۱۵ موش گروه شاهد ۱۴ عدد آن‌ها تا آخر آزمایش زنده ماندند. از ۱۸ موش گروه

www.mui.ac.ir

جدول ۱. مقایسه‌ی وزن و تعداد کل کیست‌ها در موش‌های گروه آزمایش و شاهد ۲۴۰ روز پس از تلقیح

گروه	تعداد موش	وزن کل کیست‌ها بر حسب گرم	تعداد کل کیست‌ها	تعداد موش‌هایی که در آن‌ها کیست تشکیل شده است
موش‌های گروه شاهد	۱۴	۱۹/۹۹	۷۳۷	۱۲
موش‌های گروه آزمایش	۱۸	۳/۵	۲۰۳	۹

آزمایش، ۹ موش فاقد کیست، ۹ عدد دارای کیست‌هایی در صفاق و ۳ عدد آن‌ها دارای کیست‌های کبدی و صفاقی بودند.

از ۱۴ موش گروه شاهد، ۲ عدد فاقد کیست، ۱۲ عدد دارای کیست‌های صفاقی، ۳ عدد دارای کیست‌های کبدی، ۳ عدد کیست زیرجلدی و ۱ عدد دارای کیست‌هایی بر روی پرده‌ی جنب هم بودند. در این گروه ۶۳/۲ درصد کیست‌ها در صفاق، ۱۵/۸ درصد در کبد، ۱۵/۸ درصد کیست‌ها زیر جلد و ۵/۲ درصد بر روی پرده‌ی جنب تشکیل گردیده بود.

در ۱۸ موش گروه آزمایش به استثنای ۹ عدد موش که در آن‌ها کیست تشکیل نگردیده بود، در بقیه‌ی موش‌ها وزن کیست‌های تشکیل شده ۳/۵ گرم و تعداد کل کیست‌ها معادل ۲۰۳ عدد بود.

از ۱۴ موش گروه شاهد به جز دو تای آن‌ها که کیست در بدنشان تشکیل نگردیده بود، بقیه‌ی موش‌ها حاوی کیست‌هایی بودند که وزن تمامی آن‌ها معادل ۱۹/۹۹ گرم و تعداد کل آن‌ها ۷۳۷ عدد بود.

مطالعه‌ی ما نشان داد که میانگین وزن کیست‌ها در دو گروه شاهد و مورد تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد (جدول ۲) ($P < ۰/۰۱۵$).

در میان موش‌های گروه آزمایش حداقل اندازه‌ی کیست ۱ میلی‌متر و حداکثر اندازه‌ی آن‌ها ۶ میلی‌متر و میانگین اندازه‌ی کیست در گروه آزمایش ۱/۸ ± ۳/۶ و در گروه شاهد حداقل اندازه‌ی کیست ۵ میلی‌متر و حداکثر ۱۰/۵ و میانگین اندازه‌ی آن‌ها ۴/۲ ± ۷/۴ میلی‌متر بود ($P < ۰/۰۰۶$).

حداقل تعداد کیست‌های تشکیل شده در هر یک از موش‌های گروه آزمایش ۶ و حداکثر ۴۴ عدد بود و در گروه شاهد نیز حداقل کیست‌های تشکیل شده در هر یک از موش‌های این گروه ۸ و حداکثر ۱۵۰ عدد کیست و در میانگین تعداد کیست‌ها در دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود (جدول شماره ۳) ($P < ۰/۰۰۲$).

جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین وزن کیست به ازای هر موش در دو گروه شاهد و آزمایش

گروه	تعداد موش	میانگین وزن کیست بر حسب گرم	انحراف معیار	نتیجه آزمون t	
				t	P-value
شاهد	۱۲	۱/۷	۱/۸	۲/۴۵	۰/۰۱۵
آزمایش	۹	۰/۳۹	۰/۳۶		

جدول ۳. مقایسه‌ی میانگین تعداد کیست درهر موش در دو گروه آزمایش و شاهد

گروه	تعداد	میانگین تعداد کیست	انحراف معیار	t	P-value
شاهد	۱۴	۵۲/۶	۴۴/۲	۳/۴	۰/۰۰۲
آزمایش	۱۸	۱۰/۷	۱۵/۶		

www.mui.ac.ir

بحث

از سال‌ها پیش تلاش برای تهیه‌ی واکسن ضد انگل صورت گرفته است. در مورد سستودها برخلاف دیگر واکسن‌های انگلی استفاده از آنتی‌ژن‌های غیر زنده برای واکسن مؤثر بوده است و پاسخ‌های حفاظتی در میزبان واسط با استفاده از محصولات غیرزنده ایجاد گردیده است (۱۲).

Dematteل و همکاران با جداسازی اپی‌توپ‌های پپتیدی پروتواسکولکس‌های مرحله‌ی لاروی انگل و با تلقیح درون صفاقی موش‌های CD1، طی دو مرحله ایمنی حفاظتی بالایی را علیه هیداتیدوز ثانویه به دست آوردند (۱۳). Hernandez و همکاران موش‌های CD1 را پس از ایمنونیزاسیون با پروتیین‌های سطحی پروتواسکولکس با ۲۰۰۰ عدد پروتواسکولکس به صورت درون صفاقی آلوده کردند و در پایان نتیجه گرفتند که تعداد و وزن کیست‌ها در دو گروه آزمایش و شاهد دارای تفاوت بارزی است که در نتیجه‌ی ایمونیزاسیون گروه آزمایش می‌باشد (۱۴).

نتایج نشان داده است که از پروتواسکولکس‌های تلقیح شده، فقط درصد کمی از آن‌ها قادر به تشکیل کیست در دو گروه موش می‌باشد، که احتمال می‌رود آنتی‌ژن‌های سوماتیک پروتواسکولکس‌ها قادر به تحریک سیستم ایمنی میزبان می‌باشند و همین امر موضوع سبب کاهش انگل در بدن می‌گردد (۱۵). مشخص شده است که با تلقیح در صفاق موش، ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و لنفوسیت‌های فعال شده علیه انگل درگیر بوده و سبب مرگ پروتواسکولکس‌ها می‌گردند (۱۶). از طرفی ثابت شده که کیست‌ها به نیتریک اکساید (NO) ایجاد شده توسط ماکروفاژ حساس می‌باشند (۱۷).

نتایج حاصل از اتوپسی موش‌ها بعد از گذشت ۳۵ هفته از تلقیح پروتواسکولکس‌ها نشان داد که به طور متوسط ۱۵۰–۸ عدد کیست به ازای هر موش گروه شاهد تشکیل می‌گردد، یعنی در حدود ۳/۱ درصد پروتواسکولکس‌های تلقیح شده تشکیل کیست می‌دهند، که با نتایج به دست آمده از آزمایش‌های Ferragut و Breijo مشابه می‌باشد. آن‌ها به ترتیب نتیجه گرفتند که در حدود ۲/۸ و ۳ درصد از پروتواسکولکس‌ها در بدن موش قادر به تشکیل کیست می‌باشد (۱۹–۱۸).

در این تجربه، میانگین تعداد کیست‌های تشکیل شده در گروه آزمایش معادل ۱۰/۷ و در گروه شاهد معادل ۵۲/۶ و میانگین وزن کیست‌های تشکیل شده در گروه آزمایش و شاهد به ترتیب ۰/۳۹ و ۱/۷ گرم بود و درصد حفاظت ایجاد شده براساس میانگین وزن و تعداد کیست‌های تشکیل شده ۷۹/۷–۷۶/۶ درصد بود. Hernandez و همکاران نیز درصد حفاظت ایجاد شده از طریق ایمونیزاسیون را ۷۷–۷۴ درصد گزارش نمودند، که با مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد (۱۴).

همچنین Dempster و همکاران با استفاده از پروتواسکولکس‌های هموژنیزه به عنوان یک ایمونوژن قوی توانستند حفاظتی معادل ۷۸ درصد در موش‌ها ایجاد کنند (۱۱).

ایمن کردن میزبان واسط با آنتی‌ژن‌های مختلف انگل از راه‌هایی نظیر صفاق، زیرجلد و ... سبب ایجاد ایمنی در روده، خون، کبد و سایر اعضا می‌گردد؛ به طوری که با ورود تخم انگل به طور طبیعی و از طریق دهان، هنگام عبور تخم از روده، خون و لنف به منظور تشکیل کیست در اندام‌هایی چون کبد و ریه، تحریک مجدد سیستم ایمنی میزبان صورت می‌گیرد و یک

www.mui.ac.ir

سری عوامل ایمنی اکتسابی فعال می‌شود و این ایمنی احتمال استقرار کیست را در بافت کاهش می‌دهد. در تحقیق حاضر، لارو به صورت تلقیح در داخل حفره‌ی شکم میزبان واسط قرارداده شد و شرایط لازم برای عبور از سدهای مختلف بدن و ممانعت کامل استقرار کیست وجود نداشت ولی درصد حفاظت ایجاد شده در حد قابل قبول (۷۹/۷-۷۶/۶) بود. به نظر می‌رسد با ورود انگل از راه طبیعی و عبور از سدهای بدن، حفاظت ایجاد شده بیشتر می‌شود. همین طور با استفاده از ادجوانت فروند کامل و تحریک بیشتر سیستم ایمنی سلولی میزبان واسط احتمال می‌رود بتوان به سطوح بالاتری از ایمنی و همین طور درجه‌ی حفاظت بیشتری در مقابل انگل دست یافت.

با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد آنتی‌ژن‌های جدا شده توسط دترجنت غیر یونی Mega-10 دارای ایمنی‌زایی مناسب بوده که می‌تواند حفاظت نسبی قابل قبولی را در میزبان واسط آزمایشگاهی ایجاد نماید. این تجربه در مراحل بعد می‌تواند به سایر علف‌خواران میزبان واسط حقیقی تعمیم یابد.

References

1. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev 2004; 17(1): 107-35.
2. Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. Clin Microbiol Rev 2003; 16(1): 18-36.
3. Lightowlers MW, Jensen O, Fernandez E, Iriarte JA, Woollard DJ, Gauci CG, et al. Vaccination trials in Australia and Argentina confirm the effectiveness of the EG95 hydatid vaccine in sheep. Int J Parasitol 1999; 29(4): 531-4.
4. Craig PS. Echinococcus granulosus: immunodiagnosis and vaccination, a perspective. Parassitologia 1997; 39(4): 345-7.
5. Molan AL, Saeed IS. Protection of mice against Echinococcus granulosus by previous inoculation with protoscoleces exposed to ultraviolet irradiation. Japanese Journal of Parasitology 1988; 37: 203.
6. Carol H, Nieto A, Villacres-Eriksson M, Morein B. Intranasal immunization of mice with Echinococcus granulosus surface antigens iscoms evokes a strong immune response, biased towards glucidic epitopes. Parasite Immunol 1997; 19(5): 197-205.
7. Hashemitabar GR, Rasmi GR, Naghibi A. Protective immunity in mice with whole body of echinococcus granulosus. Iranian Biomedical 2006; 10(1): 51-5.
8. Hashemitabar GR, Razmi GR, Naghibi A. Trials to induce protective immunity in mice and sheep by application of protoscolex and hydatid fluid antigen or whole body antigen of Echinococcus granulosus. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2005; 52(5): 243-5.
9. Al Qaoud KM, Abdel-Hafez SK. Humoral and cytokine response during protection of mice against secondary hydatidosis caused by Echinococcus granulosus. Parasitol Res 2005; 98(1): 54-60.
10. Soleimani S, Hoseini H. Study on effects vaccination against Hydatidosis with antigens of Ecchinococcus granulosus in sheep. Journal of Yasuj University, 2007; 12: 13-14.
11. Dempster RP, Harrison GB, Berridge MV, Heath DD. Echinococcus granulosus: use of an intermediate host mouse model to evaluate sources of protective antigens and a role for antibody in the immune response. Int J Parasitol 1992; 22(4): 435-41.
12. Profumo E, Ortona E, Rigano R, Gioia I, Notargiacomo S, Ioppolo S, et al. Cellular and humoral responses to antigenic subunits of Echinococcus granulosus cyst fluid in hydatid patients. Parasite Immunol 1994; 16(8): 393-8.
13. Dematteis S, Pirotto F, Marques J, Nieto A, Orn A, Baz A. Modulation of the cellular immune response by a carbohydrate rich fraction from Echinococcus granulosus protoscoleces in infected or immunized Balb/c mice. Parasite Immunol 2001; 23(1): 1-9.
14. Hernandez A, Nieto A. Induction of protective immunity against murine secondary hydatidosis. Parasite Immunol 1994; 16(10): 537-44.
15. Araj GF, Matossian RM, Frayha GJ. The host response in secondary hydatidosis of mice. I. Circulating antibodies. Z Parasitenkd 1977; 52(1): 23-30.
16. De Rosa FG, Amoroso A, Teggi A, Paparo SB,

www.mui.ac.ir

Franchi C, Ferri GM, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in echinococcus granulosus hydatid disease. Hum Immunol 2001; 62(10): 1122-6.

17. Steers NJ, Rogan MT, Heath S. In-vitro susceptibility of hydatid cysts of Echinococcus granulosus to nitric oxide and the effect of the laminated layer on nitric oxide production. Parasite Immunol 2001; 23(8): 411-7.

18. Ferragut G, Nieto A. Antibody response of Echinococcus granulosus infected mice: recognition of glucidic and peptidic epitopes and lack of avidity maturation. Parasite Immunol 1996; 18(8): 393-402.

19. Breijo M, Spinelli P, Sim RB, Ferreira AM. Echinococcus granulosus: an intraperitoneal diffusion chamber model of secondary infection in mice. Exp Parasitol 1998; 90(3): 270-6.

www.mui.ac.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 27, No 99, November 2009

Received: 2008.3.11
Accepted: 2009.2.9

Echhinococcus Granulosus Lnfection in Mice Following Lmmunization with Protoscoleces Antigens

Behzad Haghpanah PhD[*], Zahra Ghayur[**], Nasrin Ahmadi MSc[***], Hossein Hejazi PhD[*]

[*] Associate Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[**] Instructor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[***] MSc Student, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Abstract

Background: Hydatidosis, caused by the metacestode stage of Echinococcus granulosus, is a major zoonotic disease of worldwide distribution. Any success in recognition of immunological reaction of intermediate hosts and in production of vaccine can lead to a decrease in human infections and also in economic loss of animals.

Methods: Immunization was achieved by inject on of surface proteins of Echinococcus granulosus protoscoleces (PSC) in 30 male mice (C57 BL/C6). Surface proteins of PSC were prepared by using of solution non-ionic detergent Mega-10. Then 100 µg of this protein was emulsified in Freunds Incomplete Adjuvant (FIA) and injected intraperitoneally to immunized mice and 15 normal mice as a control group. For immunization, mice were boosted similarly after 27 days and they were challenged by intraperitoneally injection of 2000 bovine viable protoscoleces after two weeks. Resistant rate (size, weight, number of cysts) were determined after challenge.

Findings: Autopsies of mice were carried out 240 days post challenge. In immunized mice, cyst either were not observed, or in compare with control group smaller cysts were observed. The mean weight of cysts was 0.39 ± 0.36 and 1.7 ± 1.8 grams in immunized and control groups respectively ($P < 0.015$). The average size of cysts in these two groups were 10.7 ± 15.6 and 7.4 ± 4.2 mm ($P < 0.006$), and the mean number of cysts were 10.7 ± 15.6 and 52.6 ± 44.2 ($P < 0.002$) respectively.

Conclusion: In this study the observed protection with immunization was 76.6-79.7 percent. Results of this study showed that surface protein of protoscoleces emulsified in Freunds Incomplete Adjuvant probably can be used for immunization of intermediate host.

Key words: **Echinococcus, Immunization, Protoscoleces.**

Page count: 8
Tables: 3
Figures: -
References: 19

Address of Correspondence: Behzad Haghpanah, Associate Professor, Department of Mycology And Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
E-mail: haghpanah@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir