دراسة مقارنة لتمنيع الفئران ضد الأكياس المائية باستخدام المستضد الإخراجي / الإفرازي للرؤيسات الأولية ومستضد الأكياس المائية

فتحي محمد علي* وحيدة رشيد علي* عبد السلام موسى بالحاج*

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v17i1.832

الملخص

داء الأكياس المائية الأحادي الفجوة في الإنسان (Unilocular cyst) هو عبارة عن إصابة طفيلية ذات دورة حياة مشتركة بين الإنسان والحيوان ناتجة عن إصابة بالطور اليرقي الكيسي للدودة المكورة المشوكة المحببة *Echincoccus granulosus* . وهو مرض واسع الانتشار على مستوى العالم ويسبب مشاكل صحية واقتصادية كبيرة .

ومن الصعوبات التي تواجه العلماء في هذا المجال هو التشخيص البكر والعلاج ، لذلك فقد وجه الاهتمام نحو إمكانية إنتاج لقاح له القدرة على تحفيز الاستجابة المناعية ضد الإصابة بالمرض ، ولذلك تهدف الدراسة إلى استخلاص ثلاث مستضدات من الطور اليرقي الكيسي لدودة *E. granulosus* وهذه المستضدات هي :

1- مستضد السائل الكيسي Cyst fluid antigen (CF) .

2- المستضد الإخراجي – الإفرازي Excretion-Secretion antigen (ES) .

3- المستضد ES/CF الذي هو عبارة عن مزيج من المستضدين أعلاه بنسبة 1 : 1 .

استخدمت هذه المستضدات الثلاثة في تمنيع الفئران البيض ، وتم تحضير ثلاث تركيزات لكل مستضد ، وقد استعملت جرعة تنشيطية واحدة لعملية التمنيع . واختبرت فعالية المستضدات الثلاثة في إحداث المناعة ضد الإصابة بالأكياس المائية الثانوية عن طريق حساب النسبة المئوية للاختزال في إعداد هذه الأكياس ، وأجريت مقارنة لكفاءة التمنيع للتركيزات المختلفة للمستضدات التي تم استعمالها . أظهرت النتائج أن فعالية المستضد ES/CF في التمنيع كانت الأفضل بالمقارنة بالمستضدين الآخرين .

* قسم علم الحيوان ، كلية العلوم ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا ، ص.ب. 919 .

© للمؤلف (المؤلفون)، يخضع هذا المقال لسياسة الوصول المفتوح ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

المقدمة

يعد مرض الأكياس المائية من الأمراض الواسعة الانتشار والمشتركة بين الإنسان والحيوان ، ومن الممكن أن تحدث المناعة لدى المضيف بشكل صناعي ، فمثلاً ثبت أن التعرض المفرد لبيوض *E. granulosus* وكذلك *E. multilocularis* يعطي زيادة في المقاومة للإصابات اللاحقة ، وقد تم حث تمنيع ضد هاتين الدودتين عن طريق حقن بيوض وأجنة هذه الطفيليات (بعد تنشيطها بواسطة العصارات الهاضمة الصناعية) عن طريق آخر غير طريق القناة الهضمية (Abdussalam et.al., 1968) .

إن الكائنات المضعفة أو المسحوقة أو على صورة مستخلصات والمحولة لمستخلصات ، والمستضات المنقاة تستخدم جميعاً كمستضدات بدرجات نجاح مختلفة ، وعموماً فإن استخدام طفيليات حية يعطي مناعة أفضل ولكن مثل هذه اللقاحات غير مقبولة الاستعمال في الإنسان خوفاً من العدوى ، وعلى الرغم من ذلك فقد تم تحقيق نجاح جزئي في حقل الطب البيطري حيث استخدمت المنتجات الأيضية للأطوار اليرقية للديدان الشريطية وخصوصاً الجنين في تمنيع الخراف ضد الطور اليرقي ، إذ يشير Heath et.al., (981); Heath & Holcman, (1997) ، إلى أن الأغنام اكتسبت مناعة عالية عند حقنها ضد إصابة التحدي ببيوض *E. granulosus* عند تمنيعها قبل حقن اليرقة الجنينية تحت الجلد وتزداد درجة التمنيع هذه بزيادة عدد الجرعات .

وقد سبقت دراسات عديدة لإيجاد سبل علاجية كيماوية (Okelo, 1986) إلا أن الجراحة لاستئصال الأكياس تعد من أكثر الوسائل المستخدمة وأفضلها (Mosimann, 1980) غير أنه يمكن أن يصاحب إجراء العملية الجراحية لإزالة الأكياس المائية تسرب بعض من محتويات هذه الأكياس إلى الأنسجة المحيطة بها ويتسبب عن ذلك تكون أكياس ثانوية جراء انغراس الرؤيسات الأولية الحيوية في الأنسجة والأعضاء الأخرى .

كما أن هناك حالات معينة من الإصابة يصعب إجراء الجراحة لها كتواجد الأكياس في العظام والقلب والدماغ وكذلك صعوبة إجراء الجراحة للأكياس المائية السنخية لانتشارها وتفرعها في أعضاء مختلفة في الجسم (Anonymous, 1979) .

ونتيجة لما سبق فإن هذه الدراسة تهدف إلى إمكانية إحداث مناعة نوعية لدى العائل قد تمنع حصول الإصابة أو تعمل على إمكانية تحجيم نمو وتطور الطفيلي داخل جسم العائل الوسطى وبالتالي التقليل من الإمراضية التي تنجم عن الإصابة بالطفيلي ، وذلك من خلال استخلاص المستضدات من الطور اليرقي للطفيلي وحقنها في الفئران البيض ومتابعة تطور المرض فيها .

المواد وطرق البحث

الحيوانات المعملية Laboratory animals

أجريت على الفئران البيض من سلالة Albion Swiss mice بعمر 30-35 يوماً وبأوزان تراوحت بين 25-30غم ، واستعمل في هذه التجارب 153 فأراً من الذكور . تمت تربية الحيوانات في ظروف البيت الحيواني الثابتة بدرجة حرارة لا تتعدى 25°م .

جمع العينات وعزل الرؤيسات الأولية وفصلها وجمع السائل الكيسي

جمعت عينات الأكياس المائية من اكباد ورئات الأغنام المصابة من السلخانة المركزية ببنغازي . بعد الحصول على عينة الكيس المائي تم سحب أكبر كمية ممكنة من السائل الكيسي بمحاقن طبية نبيذة (تستخدم لمرة واحدة) سعة 10 مل عن طريق إحداث ثقب في قمة الكيس ، ثم نقل السائل المسحوب إلى دوارق نظيفة . بعد ذلك تم سحب السائل المتبقي والحاوي على الرؤيسات الأولية ثم سحب الراشح بواسطة ماصة باستير معقمة ووضع مع السائق الكيسي المعزول سابقاً .

تم وضع جدار الكيس المتبقي في طبق آخر نظيف ومعقم وفتح الكيس بواسطة المقص وغسلت الطبقة المولدة للكيس عدة مرات باستخدام محلول الملح الفسلجي (Normal saline) ثم رشح السائل الناتج من الغسل بمنخل دقيق يسمح بمرور الرؤيسات الأولية وبعد ترسب الرؤيسات تم التخلص من الراشح ونقلت الرؤيسات الأولية مع تلك المعزولة سابقاً ثم أضيف إليها كمية قليلة معلومة من الملح الفسلجي الاعتدادي ذو رقم هيدروجيني (7.2) pH .

غسلت الرؤيسات الأولية ثلاث مرات بمحلول الملح الفسلجي الحاوي على 400 وحدة / مل من البنسلين و 200 مايكروغرام / مل من استربتومايسين عن طريق التحريك اليدوي للدورق وتركت لمدة 5-10 دقائق في كل مرة حتى ترسبت جميع الرؤيسات ثم تم التخلص من الراشح وغسل الراسب مرة أخرى . وبعد آخر عملية غسل تم تعليق الرؤيسات الأولية مع تلك المعزولة سابقاً ثم أضيف إليها كمية قليلة معلومة من الملح الفسلجي الاعتيادي ذو رقم هيدروجيني (7.2) pH .

غسلت الرؤيسات الأولية ثلاث مرات بمحلول الملح الفسلجي الحاوي على 400 وحدة / مل من البنسلين و 200 مايكروغرام / مل من استربتومايسين عن طريق التحريك اليدوي للدورق وتركت لمدة 5-10 دقائق في كل مرة حتى ترسبت جميع الرؤيسات ثم تم التخلص من الراضح وغسل الراسب مرة أخرى . وبعد آخر عملية غسل تم تعليق الرؤيسات الأولية بحجم معلوم من محلول الملح الفسلجي ثم فحصت حيوية الرؤيسات عن طريق سحب 10 مايكروليتر من المحلول بعد رجه بواسطة ماصة قياسية ووضعه على شريحة زجاجية وأضيف إليها نفس المقدار من صبغة الأيوسين المائية

Aqueous eosin وتم الفحص بالمجهر الضوئي باستخدام عدسة X 40 واعتبرت الرؤيسات المصبوغة باللون الأحمر ميتة ، والعكس صحيح ، وأخذ متوسط 3 مكررات ثم استخرج التركيز النهائي لعدد الرؤيسات الموجودة في المحلول .

عزل وتحضير المستضدات

1- المستضد الإخراجي الإفرازي

استخدمت طريقة Auer & Aspock (1986) في استخلاص المستضد الإخراجي الإفرازي وتتضمن ما يلي :

بعد إعداد التركيز النهائي لعدد الرؤيسات الأولية الموجودة في العينة تركت لتترسب مرة أخرى ثم سحب الراضح حتى بقي راسب الرؤيسات الأولية فقط ثم علق الراسب باستخدام حجم مماثل لحجم الراشح المسحوب بالوسط الزرعي RPMI-1640 المصنع من قبل شركة Sigma الحاوي على المضادات الحيوية الستريتومايسين والبنسلين بتركيز 100 مايكرو غرام / مل من الوسط الزرعي ثم وزعت المادة الزرعية الحاوية على الرؤيسات الأولية بأحجام متساوية على دوارق الزرع المخروطية الصغيرة الحجم 25مل والتي كان عددها يتراوح بين 5-10 حسب حجم العينة ، مع ملاحظة وجود كمية مناسبة من المادة الزرعية والرؤيسات في كل دورق صغير حوالي 10-15 مل من المادة الزرعية وبمتوسط 500 رؤيس في كل دورق ، وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 7-10 أيام وكان يجرى تبديل المادة الزرعية يومياً في كل دورق ويتم كل ذلك ضمن ظروف معقمة جداً وتفحص حيوية الرؤيسات باستمرار بنفس الطريقة السابقة الذكر ، وقد أظهرت نسبة كبيرة من الرؤيسات حيوية جيدة وحركة وحصول عملية النبعاج Evagination فيها خلال 24 ساعة بعد التنمية في الزجاج in vitro ، كما في الصورة رقم 1 ، وبقيت بعض الرؤيسات حية حتى بعد 17 يوم من التنمية في بعض الأحيان وبنسبة حيوية جيدة .

جمعت المادة الزرعية التي كانت تسحب يومياً طيلة مدة التنمية في الزجاج من كل دورق في قنينة معقمة ونظيفة ذات سدادة محكمة وحفظت في درجة حرارة 4°م ، بينما كانت تهمل المادة الزرعية المسحوبة في اليوم الأول بعد التنمية ويتم التخلص منها لاحتوائها على بروتينات مصل المضيف التي ممكن أن تكون قد انتقلت إلى الوسط الزرعي مع الرؤيسات .

بعد نهاية مدة التحضين أخذت المادة الزرعية التي جمعت وأجريت لها عملية طرد مركزي بسرعة 1500 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق ثم سحب الراشح ونقي بإجراء عملية ترشيح له باستعمال أوراق الترشيح المجهرية Milipore filter paper تحت ظروف معقمة ثم ركز باستعمال عملية الفرز الغشائي dialysis ضد درائ الفوسفات Phosphate buffer saline (PBS) ذي الرقم الهيدروجيني 7.2 بمساعدة البولي إيثيلين جلايكول

Polyethylene glycol (6000) المصنع من قبل شركة Fluka ولمدة 48 ساعة ثم كررت عملية الفرز الغشائي مرة أخرى ولكن ضد الماء المقطر هذه المرة ولمدة 24 ساعة ، ثم قدر تركيز البروتينات بالعينة حسب الطريقة المباشرة لـ Whitaker & Granum (1980) .

ثم جففت النماذج باستخدام جهاز التجفيد المصنع من قبل شركة Labconco وحفظ مسحوق المستضد بالثلاجة عند درجة حرارة 4°م لحين الاستعمال .

2- مستضد السائل الكيسي

استعمل السائل الكيسي المجموع وأجريت له عملية طرد مركزي بسرعة 1500 دورة / دقيقة مدة 5 دقائق ثم رشح بواسطة أوراق الترشيح المجهرية وركز بنفس الطريقة السابقة ، ثم قدر تركيز البروتين في العينة ثم جفد وحفظ المسحوق بالثلاجة لحين الاستعمال .

تجارب التمنيع

1- التجربة الأولى

استعمل في هذه التجربة 108 فأر من الذكور وأجري فيها التمنيع باستخدام المستضد ES والمستضد CF والمستضد ES/CF الذي هو عبارة عن مزيج من كليهما ، وحضرت ثلاثة تركيزات لكل مستضد من هذه المستضدات الثلاثة ومنعت كل ثلاث مجاميع ثانوية بأحد المستضدات واعطيت كل مجموعة منها أحد تركيزات المستضد المستعمل وكانت هذه التراكيز 12.5 ، 25 ، 50 مايكروجرام / مل ، وبجرعة مقدارها 20 مايكروجرام / جم من وزن الحيوان . وبعد 21 يوماً حقنت الفئران بجرعة تقوية مقدارها نصف جرعة التمنيع الأولى أي بمقدار 10 مايكروجرام / جم ، وذلك بالحقن تحت الجلد Subcutaneous route لغرض حقن المستضدات وإجراء عملية التمنيع ، وبعد ثمانية أيام من التمنيع الثاني حقنت كل المجاميع بجرعة التحدي Challenge dose البالغة 3000 رؤيس حيوي في جوفها الخلبي Intraperitoneally ، وقسمت الفئران كما في الجدول التالي :

المجموعة 1 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CDES
المجموعة 2 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CD_1ES
المجموعة 3 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CD_2ES
المجموعة 4 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CDCF
المجموعة 5 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CD_1CF
المجموعة 6 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CD_2CF
المجموعة 7 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CD ES/CF
المجموعة 8 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CD_1ES/CF
المجموعة 9 تتكون من 12 فأراً منعت بـ	CD_2ES/CF

ملاحظة : رمز للتركيز Concentration بحرف C ورمز للتخفيف المحضر في التركيز الأصلي بحرف D من كلمة Dilution وتشير الأرقام التي بجانب الأحرف إلى تسلسل التراكيز .

2- التجربة الثانية (مجموعة السيطرة)

استعمل في هذه التجربة 45 فأراً ذكر قسمت كما يلي :

المجموعة الأولى تتكون من 25 فأراً استعملت كمجموعة سيطرة موجبة حقنت بجرعة التحدي مباشرة ، المجموعة الثانية تتكون من 20 فأر تركت كمجموعة سيطرة سالبة (طبيعية) .

فحص الأكياس المائية وإيجاد معامل الاختزال

بعد تشريح الفئران فحصت التغيرات المرضية الحاصلة في الأعضاء الداخلية (مثل الكبد والرئتين والحجاب الحاجز والطحال والكليتين والمعدة والأمعاء) ، وفحصت مواقع وأعداد وأشكال الأكياس المائية واستخدمت المعادلة الآتية لاستخراج النسبة المئوية لاختزال عدد الأكياس المائية حسب طريقة Heath (1976) .

$$\text{النسبة المئوية للاختزال} = \frac{\text{معدل عدد الأكياس في مجموعة السيطرة} - \text{معدل عدد الأكياس في الفئران الممنعة}}{\text{معدل عدد الأكياس في مجموعة السيطرة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

نتائج فحص الأكياس المائية الثانوية ونتائج النسبة المئوية للاختزال

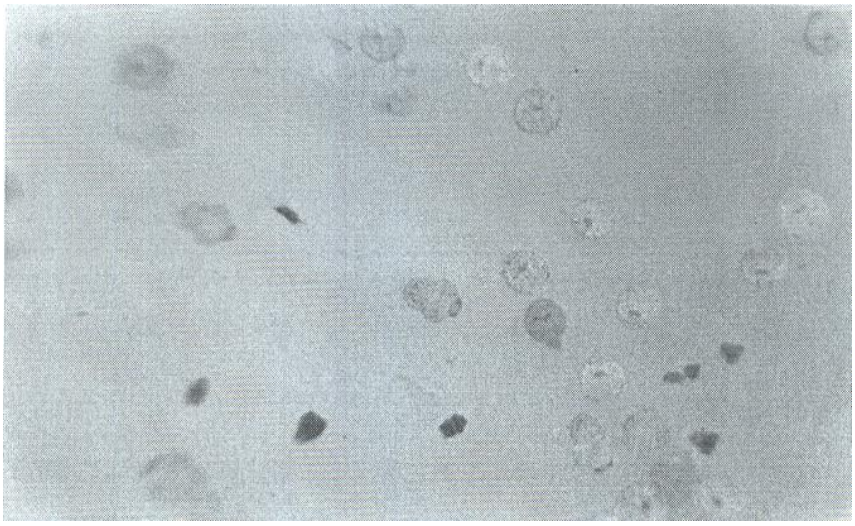
أظهر تشريح فئران مجموعة السيطرة الموجبة وجود الأكياس المائية الثانوية في جوفها الخلبي موزعة بشكل غير منتظم ، بصورة منتشرة أحياناً وبشكل كتل متجمعة أحياناً أخرى . وكانت ملتصقة بالكبد والمعدة والحجاب الحاجز والغشاء الخلبي المبطن للجوف البطني وهي غير مغروسة بهذه الأعضاء ، وبدت بشكل كرات صغيرة متباينة الحجم تراوحت أقطارها ما بين 1-8 ملم . وكانت ذات جدار رقيق وشفاف يبدو من خلاله السائل الكيسي صورة رقم 2 ، 3 ، 4 ، 5 كما أظهر عدد قليل جداً منها أورام حبيبية فقط .

وأظهر تشريح الفئران الممنعة وجود الأكياس المائية الثانوية أيضاً ولكن في بعض منها فقط وكانت صغيرة الحجم وقليلة العدد وملتصقة بالكبد أو المعدة أو الأمعاء ، كما في الصورة 6 ، وكانت نسبة الفئران الممنعة المصابة بالأكياس المائية 12% ، وأظهرت بعضها الآخر وجود أورام حبيبية فقط بلغت نسبتها 10.2% من مجموع الفئران الممنعة البالغ عددها 108 فأراً كما في الصورة 7 .

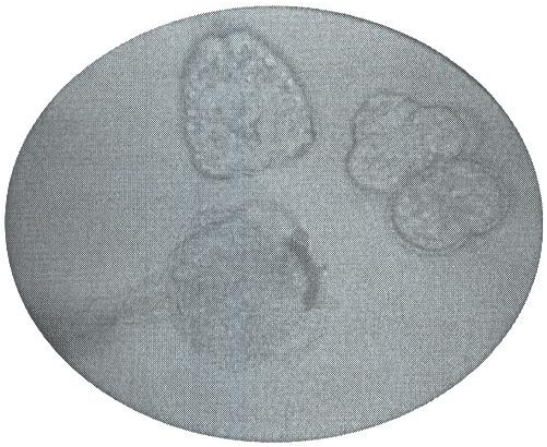
أوضحت نتائج النسبة المئوية للاختزال الأكياس المائية الثانوية في الفئران التجريبية المنعة وجود انخفاض واضح في عدد الأكياس المائية في أحشائها وجوفها الخلبي ، وأظهر البعض منها مناعة مطلقة ضد إصابة التحدي مقارنة بفئران مجموعة السيطرة الموجبة التي بلغ فيها متوسط عدد الأكياس المائية الثانوية 13 كيس ويوضح الجدول رقم 1 الفرق في كفاءة المستضدات الثلاثة والتركيزات الثلاثة المستعملة في كل مستضد .

أظهرت الفئران الممنعة بالمستضد ES/CF بتراكيـــزه الـــثلاث المحضـــرة 12.5 ، 25 ، 50 مايكروجرام / جم كفاءة عالية في الاستجابة لإصابة التحـدي إذ وصـلت إلى 97.4% ، وتـراوح متوسـط الأكياس الثانوية بين 0-1.0 ، وكانت نتائج المجاميع المعاملـة بهـذا المستضـد أفضـل مـن مثيلاتهـا في المستضدين الآخرين . أما الفئران الممنعة بالمستضد ES/CF ، إذا كانت النسبة المئوية لاختزال الأكياس الثانوية 84.0% ، وتـراوح متوسـط الأكياس الثانويـة بـين 1.1-3.0 وعلـى الـرغم مـن الاسـتجابة المناعيـة العالية للفئران الممنعة بهذا المستضد إلا أنه يعد أقل كفاءة من المستضد السابق في تحفيز الجهاز المناعي .

أما بالنسبة للفئران الممنعة بالمستضد CF بتراكيزه الثلاث فقد تولدت استجابة مناعية ضد إصابة التحدي ، وبكفاءة أقل مقارنة بالمستضدين السابقين . إذ كانت النسبة المئوية لاختزال الأكياس المائيـة الثانويـة 76.1% وتـراوح متوسـط الأكيـاس الثانوية بين 2.2-4.1 ، ويوضح الشكل 1 الفروقات بين كفاءة المستضدات الثلاثة وكفاءة كل تركيز في هذه التجربة .

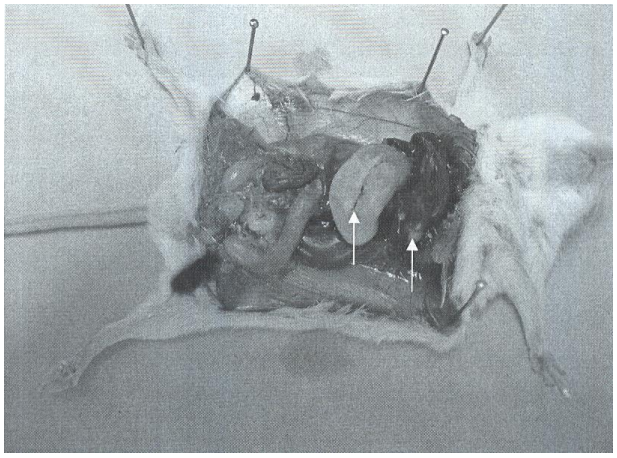


(أ)

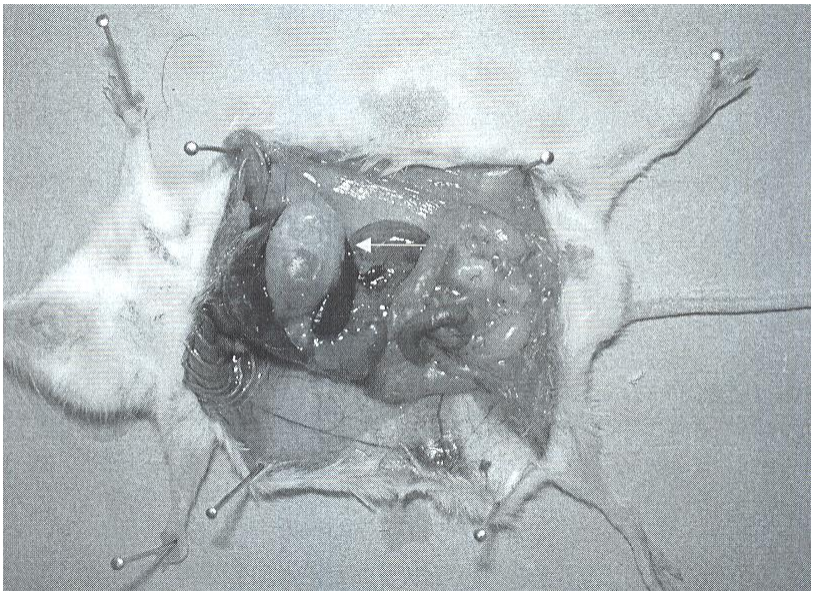


(ب)

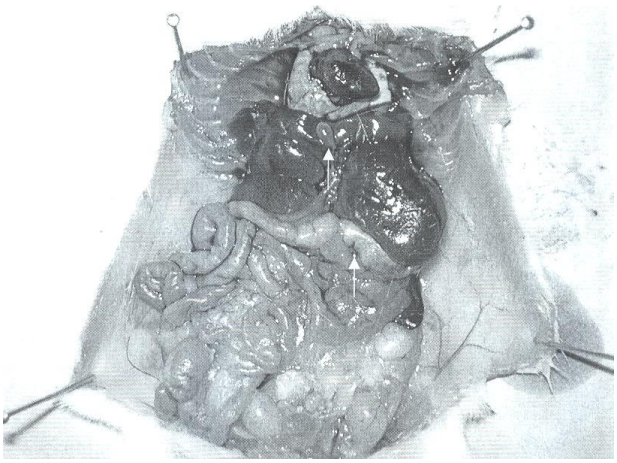
صورة 1 توضح الرؤيسات الأولية في الوسط الزراعي RPMI-1640 ، فالرؤيسات ذات اللون الأحمر بصبغة الأيوسين تعتبر ميتة ، والرؤيسات ذات الحيوية الجيدة هي غير المصبوغة باللون الأحمر وموضح فيها ظاهرة الانبعاج (اختبار الحيوية viability) أ- صورة بتكبير X10 ، ب- صورة بتكبير X40



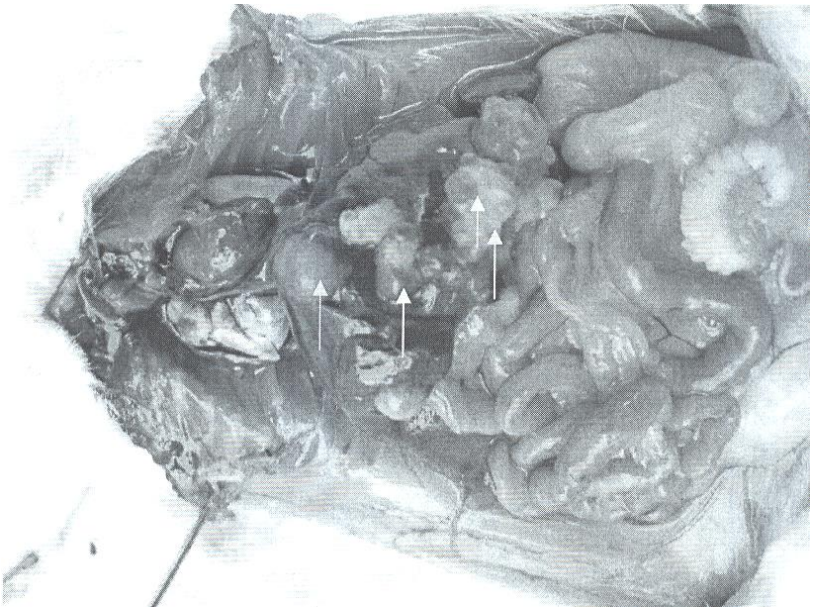
صورة 2 توضح فأر مصاب بالأكياس المائية من النمط الأول للإصابة ، (لديه أكياس يتراوح قطرها ما بين 5-8 ملم وعددها يتراوح ما بين 5-10)



صورة 3 توضح فأر مصاب بالأكياس المائية من النمط الأول للإصابة ، (لديه أكياس يتراوح قطرها ما بين 5-8 ملم وعددها أكثر من 10)

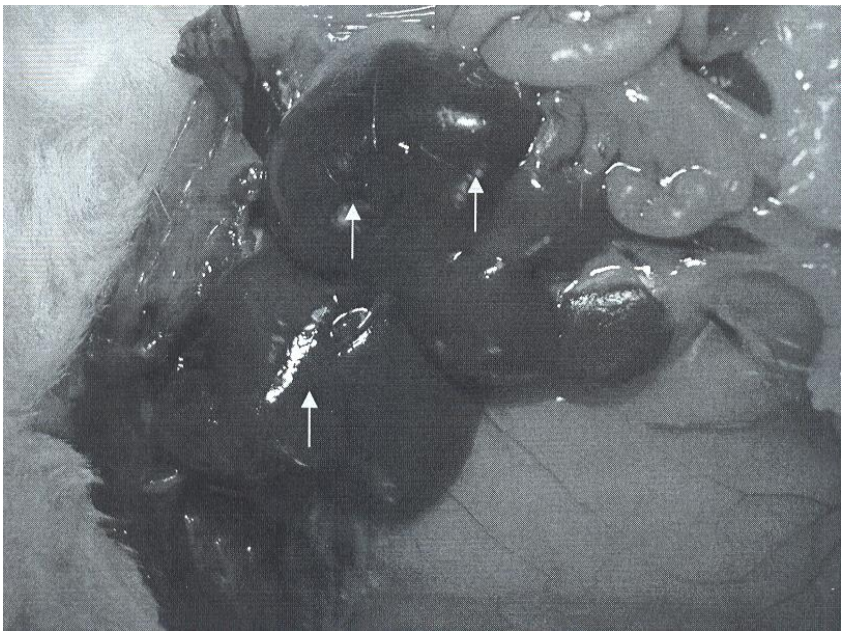


صورة 4 توضح فأر مصاب بالأكياس المائية من النمط الثاني للإصابة (لديه أكياس يتراوح قطرها ما بين 1-4 ملم ، وعددها يتراوح ما بين 2-4)



صورة 5 توضح فأر مصاب بالأكياس المائية من النمط الثاني للإصابة أيضاً (لديه أكياس يتراوح قطرها ما بين 1-4 ملم وعددها يتراوح ما بين 2-4)

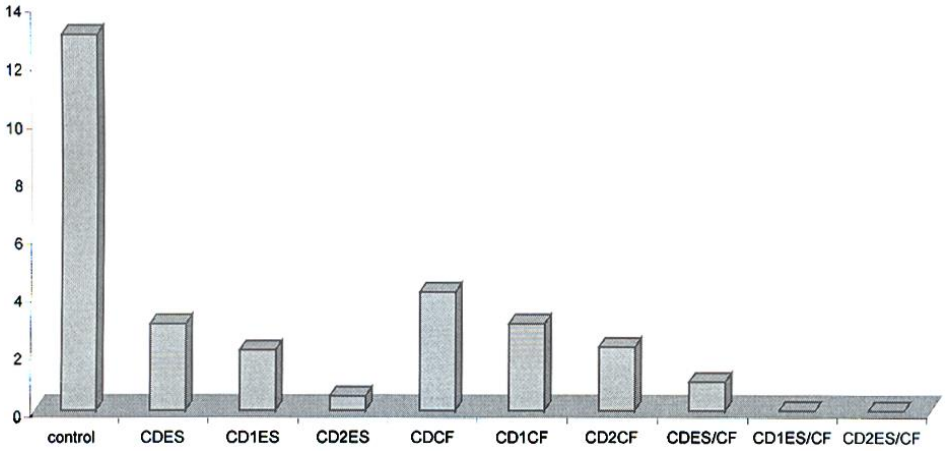
صورة 6 توضح أحد الفئران الممنعة وهو من النمط الثاني للإصابة (لديه أكياس يتراوح قطرها ما بين 1-4 ملم وعددها يتراوح ما بين 2-4)



صورة 7 توضح أحد الفئران الممنعة وهو من النمط الثالث للإصابة (يحتوي على أورام حبيبية فقط)

جدول 1 يبين النسبة المئوية لاختزال الأكياس المائية لمجاميع الفئران التجريبية ومجموعتي السيطرة الموجبة والسالبة

رمز المجموعة التجريبية	عدد الأكياس المائية		النسبة المئوية للاختزال	
	المتوسط	الانحراف المعياري		
CDES	3.0	0.95	76.9	
CD_1ES	2.1	0.47	83.8	%84.0
CD_2ES	1.1	0	91.5	
CDCF	4.1	1.49	68.4	
CD_1CF	3.0	0	76.9	%76.1
CD_2CF	2.2	1.70	83.0	
CDES/CF	1.0	0.85	92.3	
CD_1ES/CF	0	0	100	%97.4
CD_2ES/CF	0	0	100	
سيطرة موجبة	13	3.27	0	0
سيطرة سالبة	0	0	0	0



شكل 1 متوسط عدد الأكياس المائية في مجاميع الفئران الممنعة ومجموعة السيطرة الموجبة

إن محاولة إيجاد لقاح يمنع البشر والحيوانات الاقتصادية ضد الإصابة بالأكياس المائية حظيت بالاهتمام الكبير من قبل العديد من الباحثين ، وقد تركزت البحوث على محاولة إيجاد المستضدات التي لها القابلية على تحفيز مكونات الجهاز المناعي الخلوية والخلطية بكفاءة عالية وخصوصية كبيرة ، ونتيجة لهذه البحوث وجد أن المستضدات الإخراجية الإفرازية تنطبق عليها هذه المواصفات نظراً لكثرة المكونات الطفيلية فيها ، كما أكد ذلك Matossion (1977), Auer & Aspock (1986) ، كما يعد السائل الكيسي مصدراً ملائماً للمستضدات وله استضدادية قوية وجيدة ، إلا أنها تتباين حسب محتواه من الرؤيسات الأولية (Kagan & Agosin, 1968) . أما المستضد ES/CF فهو ذو استضدادية للسائل الكيسي الذي عزل من أكياس البشر والذي كان يحتوي على محتوى عال من البروتين أضيف إليه المستضد ES الذي عزل ونقي وركز في المعمل ، وهو يحتوي على محتوى بروتين أعلى وخصوصية أكبر مما في المستضد CF لكونه استخلص من تنمية عدد من الرؤيسات الأولية النشطة جداً في الزجاج والمعزولة من أكياس أكباد ورئات الأغنام العالية الخصوبة وهو يحتوي على مستضداتها الجسمية والأيضية .

وعند استعمال هذه المستضدات في تمنيع الفئران كان المستضد ES/CF هو المستضد الأفضل بينها ، حيث بلغت النسبة المئوية للاختزال في المجاميع الممنعة 97.4% أما المستضد ES فقد وصلت نسبة الاختزال بالفئران الممنعة منه إلى 84% .

وأظهرت مجموعة السيطرة الموجبة وجود الأكياس المائية الثانوية فيها وكانت موزعة بشكل غير منتظم منتشرة أحياناً أو بشكل كتل مجتمعة في

أحيان أخرى ، ملتصقة بالأعضاء غير مغروسة فيها ، ذات غشاء شفاف رقيق ويبدو من داخله السائل الكيسي وقد جاء ذلك مطابقاً لما وجده Varela- Diaz et.al., (1974), Al-Saegh (1978) .

أما المجاميع الممنعة فلوحظ وجود انخفاض واضح في متوسطات أعداد الأكياس المائية الثانوية لديها حيث كان هذا هو المعيار الذي اعتمد في تحديد كفاءة التمنيع ، وإذا قارنا بين المستضدات نجد أن المستضد ES/CF هو الأفضل ، وإذا اعتمدنا على التركيزات في المقارنة وجد أن النسبة المئوية للاختزال تزداد بزيادة التركيزات حتى أنها في التركيزات 25 و 50 ملغم / مل كانت النسبة المئوية للمستضد ES / CF ، 100% .

وبصورة عامة فالأكياس التي ظهرت في المجاميع الممنعة عند بعض الحيوانات كانت مفردة وموزعة بشكل غير منتظم حيث كانت أكثر وجوداً في الكبد والرئة ، وهي أقل عدداً وأصغر حجماً بصورة عامة عند مقارنتها مع أكياس مجموعة السيطرة الموجبة وكانت ملتصقة بالأعضاء غير مغروسة فيها كما أظهرت لدى البعض منها أورام حبيبية فقط والتي بدت بشكل كتل بيضاء صغيرة الحجم وهي في الواقع عبارة عن رؤيسات أولية محاطة بأليياف وتجمعات من الخلايا الالتهابية ناتجة عن التفاعل الالتهابي لأنسجة المضيف كما أشار إلى ذلك ووصفه Ali-Khan (1974) وأشار أيضاً إلى أن هذه الخلايا الالتهابية المرتشحة حول الطفيلي تتكون بصورة أساسية من الخلايا الوحيدة النواة والخلايا اللمفية والمعدلة والحمضة وخلايا عملاقة .

ومن هنا يمكننا القول أن التمنيع بهذه المستضدات يعد ذو كفاءة في الفئران البيض . وقد يرجع تواجد بعض الأكياس في الفئران الممنعة رغم قلتها في هذه التجربة إلى حجم جرعة التحدي وكثرة حيوية الرؤيسات الأولية الموجودة فيها ، ففي الطبيعة لا تكون جميع الرؤيسات النامية من بيوض بنفس القوة والحيوية وليس بالضرورة يتم تناولها خصوصاً عندما تكون البيوض عائدة لسلالة الدودة التي تصيب أنواعاً أخرى من المضائف ، كما أكد ذلك Gemmell (1968) . وينطبق هذا الكلام على الإنسان أيضاً ، وهذا ما يفسر حدة الإصابة بالأكياس المائية على الرغم من أن المصاب قد يكون ابتلع عدداً كبيراً من البيوض ولكن كونها تعود لسلالة أخرى غير السلالة التي تصيبه ستختلف الإمراضية وحتى قابلية إحداث العدوى فيه . إن ظهور الإصابة في الفئران يعود إلى الوصول إلى حالة من التوازن بين مقاومة الجسم ومناعته من جهة ، ومقاومة الطفيلي لدفاعات الجسم من جهة أخرى ، فالجرعات الكبيرة المستعملة لاختبار تحدي المناعة تؤدي إلى حالة تثبيط مناعي ، أو قد يعمل الطفيلي أحياناً على إزالة التحسس للمستضدات المتحررة منه نتيجة لفعاليته داخل جسم المضيف ، وبالتالي يعمل على معالجة وتدمير الميكانيكيات المناعية للمضيف كما أشار إلى ذلك Bloch and Malveaux

(1985) ، وقـد يكـون ظهـور الأكيـاس الثانويـة في بعـض الفئـران علـى الـرغم مـن تمنيعهـا ربمـا يعـود إلى زيادة تركيز المستضـدات المحقونـة بالفئـران ممـا أضـعف مقاومتها للمرض مما أدى إلى ظهور الأكياس الثانوية فيها على الرغم من تمنيعها .

Examination of Cysts and Calculation of Reduction Percentage

Fathi Mohamed Ali [*] **Wahida R. Ali** [*] **Abdusalam M. Aboalhaj** [**]

Abstract

Human cystic echinococcosis is a cyclozoonotic infection by larval stage of *Echinococcus granulosus*. This disease has a world-wide distribution and it causes a big health and economic problems. The difficulties that met scientists in the field are the early diagnosis and treatment of the infection. Therefore, the attentions were directed toward the possibility of producing a vaccine that has the ability to stimulate the immune response against the infection.

The target of this work was also directed in this way. Three antigens were extracted and used in our experimental works, These were:

1- Highly antigenic antigen, the Cyst Fluid (CF) antigen.
2- Highly antigenic-highly specific antigen, the Excretion-Secretion(ES)
3- antigen.

The third antigen is a mixture of a (1 : 1) proportion of the above two antigens and called ES/CF antigen.

These three antigens were used to immunize the experimental animals (white mice). Three concentrations from each antigen were prepared. The three concentrations were used in white mice with one booster dose to stimulate immunity. The efficiency of these antigens against secondary infection was investigated by the calculation of the reduction percentages of cysts. Comparison between concentration of the antigens were made throughout the experiments.

The results of the experiments revealed that the activity of ES/ CF antigen was the best compared with the others.

[*] Plant Protection Dep. Fac. of Agriculture, Omar Almukhtar University. El-Beida, Libya.

[**] Zoology Department / Faculty of Science /Omar El-Mukhtar University.

المراجع

الكنـاني ، انتصـار رحـيم عبيـد (1988) ، دراسـة التغـيرات المرضـية والكيميائيـة النسـيجية في الفئـران المخمجـة تجريبيـا بالأكيـاس العدريـة لطفيلي المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* ، رسـالة ماجسـتير ، كليـة الطب البيطري ، جامعة بغداد .

عبـد الغـني الاسـطواني ، (1987) ، تغذيـة الحيـوان والـدواجن ، (الجـزء العملـي) ، منشـورات جامعة دمشق ، مطبعة خالد بن الوليد .

Abdussalam, M; Acha, P.N; Agosin, M; Blood, D.B; Gemmell, M.A. and Kagan, I.G.(1968). Research needs in Echinococcosis (Hydatidosis). Bull. WId .HIth .Org., 39 :101-113.

Ali -Khan .Z. (1974) .Host -Parasite relationship in echinococcosis .II. cyst weight, haematologic alterations and gross changes in the spleen and lymph nodes of C57L mice against graded doses of *Echinococcus multilocularis* cyst. J. Parasitol.,60:236-242.

AI- Saegh, V.A. (1978). Behavior of the larval stage of *Echinococcus granulosus* in laboratory animals. M.Sc. Thesis .Coll. Med Vniv .Bagh.

Anonymous, S.(1979) .Medical treatment for hydatid disease Br. Med .J .11 : 563.

Auer, H. and Aspock, H. (1986). Studies on antigens from *in Vitro* cultivated protoscolices of *Echinococcus multilocularis* and their possible use in the serodiagnosis of human Echinococcosis Taeniasis (Cysticercosis) and Hydatidosis (Echinococcsis). Second lnt .Symp .(2-7) Dec : 7-15.

Bloch, E.F. and Malveaux, F.J. (1985). The significance of immunoglobuline E in resistance to Parasitic infection. Ann. Allergy ., 54:83-89.

Gemmell, M.A.(1968). Safe handling of infected definitive host and eggs *Echinococcus* spp. Bull. WId. Hlth. Org., 39: 122-125.

Heath, D.D. and Holcman, B.(1997). Vaccination against *Echinococcus* in perspective. Acta. Trop., 67: 37-41.

Heath, D.D.(1976). Resistance to *Taenia pisifromis* Larvae in rabbits: Immunization against infection using non- living antigens from *in vitro* culture. Int. J. Parasitol., 6: 19-24.

Heath, D.D.; Panneter, S.N.; Osborn, P.J. and Lawrence, S.B.(1981). Resistance to *Echinococcus granulosus* infection in lambs. J. Parasitol., 67: 797-799.

Kagan, I.G. and Agosin, M.(1968). *Echinococcus* antigens. Bull. WId. Hlth. Org., 39: 13-24.

Matossian, R.M.(1977). The immunological diagnosis of human hydatid disease. Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg., 71 : 101-104.

Mosimann, F. (1980). Is alveolar hydatid of the liver incurable? Ann. Surg. 192: 118-123.

Okelo, G.B.A. (1986). Hydatid cisease: Research andcontrol in Turkana, III. Albendazole in the treatment.

Varela-Diaz, U.M.; Williams, J.F.; Cottort, E.A. and williams, C.S.F .(1974). Survival of cyst of *Echinococcus grannulosus* after transplant into homologous and heterologous hosts. J. Parasitol., 60:608-612.

Whitaker, A. and Granum, M.L.(1980). An absolute method for protein determination based on difference in absorbance of235 x 280 nm. Ann Biochem.,109:156-159.