بررسی پاسخ IgG تام انسانی و زیر کلاس های آن علیه آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی در مقایسه با آنتی ژن B

ابراهیم بابا احمدی[۱]،مرتضی شمسی[۲]، افرا خسروی*[۳]، ، کورش سایه میری[۴]، کورش ساکی[۵]،

۱) گروه پاتولوژی، آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام

۲–گروه انگل شناسی، آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام

۳) گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۴) گروه آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۵) گروه بالینی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱۸ **تاریخ پذیرش:** ۸۹/۶/۱۳

چکیده

مقدمه: هیداتیدوز از بیماری های انگلی مشترک بین انسان و حیوان است که انتشار جهانی دارد و سالیانه خسارت های اقتصادی و بهداشتی فراوانی را به بار می آورد. مرحله ی لاروی انگل در حیوان و انسان، کیست هیداتیک نام دارد که در بدن میزبان واسط در طی مراحل تکامل باعث تحریک سیستم ایمنی و تولید آنتی بادی می شود. روش های سرولوژیک موجود که با استفاده از آنتی ژن خام مایع کیست گوسفندی به عنوان کیت در دسترس برای تأیید تشخیص بیماری هیداتیدوز انجام می شود، بر پایه تشخیص آنتی بادی ضد آنتی ژن های این کیست در سرم بیمار طراحی شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان پاسخ متقاطع سرم انسانی به آنتی ژن های انسان و آنتی ژن B جهت ارزیابی آنتی ژنی که بیشترین پاسخ را ایجاد می کند، طراحی و اجرا گردیده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تعداد ۳۰ نمونه کیست هیداتیک انسانی از کیست های جراحی شده انسان، استخراج، آماده سازی و استفاده گردید. تعداد ۳۰ نمونه سرم مثبت انسانی از سرم افرادی که کیست هیداتیک آنان جراحی شده بود و ۳۰ نمونه منفی یا کنترل از سرم افراد سالم که فاقد بیماری بودند، برای انجام این طرح جمع آوری گردید. نمونه های مورد و کنترل با روش الایزا و به صورت موردی–شاهدی مورد آزمایش قرار گرفتند. داده ها با روش آماری ANOVA و POST HOC با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته های پژوهش: میانگین OD مربوط به IgG تام سرم انسان علیه آنتی ژن انسانی برابر ۰/۵۹ برآورد گردید در حالی که علیه آنتی ژن B، ۰/۹۳ بود. اختلاف پاسخ ها از نظر آماری کاملا معنـــی دار بوده است($P<0.001$). در بین زیر کـــلاس های IgG، بالاترین میـــانگین OD در پاسخ به آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی(۱/۵۴) و هم چنیـن آنتی ژن B(۱/۰۸) به مربوط به IgG4 و پایین ترین میانگین OD مربوط به IgG3 می باشد. در بررسی پاسخ IgG تام انسان علیه آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی در روش الیزا، حساسیت و ویژگی تست به ترتیب برابر ۱۰۰ درصد و ۹۵/۸ درصد محاسبه گردید. این محاسبه برای آنتی ژن، B ۱۰۰ درصد حساسیت و ویژگی آن۹۰ درصد برآورد گردید.

بحث و نتیجه گیری: آنتی ژن های انسان و B واکنش متقاطع قابل توجهی با روش الایزا نشان دادند، اما آنتی ژن انسان ارجح بوده و برای طراحی کیت تشخیصی مناسب تر به نظر می رسد. بهترین پاسخ در بین زیر کلاس های IgG در پاسخ انسان به آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک و نیز آنتی ژن B مربوط به IgG4 می باشد. شدت پاسخ سرم انسانی به آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی دو برابر شدت این سرم به آنتی ژن B می باشد.

واژه های کلیدی: کیست هیداتیک، آنتی ژن خام، آنتی بادی، الایزا

* **نویسنده مسئول:** گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

Email: afrakhosravi@yahoo.co.uk

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

مقدمه

کیست هیداتیک، مرحله ی نوزادی کرم نواری اکی نوکوکوس گرانولوزوس است. این کـرم ۷- ۳ میلی متری، انگل روده باریک سگ است. تخم های کرم همراه با مدفوع سگ آلوده دفع شده و در محیط خارج پراکنده می شوند. انسان و حیوانات با خوردن تخم ها به همراه آب، غذا، و سبزیجات، آلوده شده و کیست هیداتیک در بدن آن ها تشکیل می شود. علائم بالینی بیماری هیداتیدوز در انسان و حیوانات بستگی به تعداد، اندازه و محل تشکیل کیست ها دارد. در صورتی که کیست هیداتیک در اندام های حیاتی مثل مغز و قلب تشکیل شود، خطرات ناشی از بیماری جدی تر است.(۱)

بیماری هیداتیدوز در بیشتر نقاط جهان به ویژه در کشورهایی که در آن ها دام پروری رایج است، شایع می باشد. این بیماری سالیانه زیان های بهداشتی و اقتصادی زیادی را به دنبال می آ ورد،(۲،۳). آلودگی به این انگل ضمن گسترش جهانی، در بیشتر مناطق گرم سیر و نیمه گـرم سیر دنیا انتشار دارد. آلودگی در کشورهای حـوزه مدیترانه، اروپا، آسیای مرکزی، خاور میانه، خاور دور، روسیه، استرالیا، زلاند نو، آمریکا و آفریقا وجود دارد،(۴،۵). اکی نوکوکوزیس در ایران که از مناطق هیپر آندمیک بوده، از لحاظ بهداشتی، پزشکی و دامپزشکی حایز اهمیت است. جمعیت روستایی به خصوص در کشور های توسعه نیافته که در تماس مستقیم با حیوانات اهلی و وحشی به خصوص سگ و سگ سانان هستند، بیشتر در معرض آلودگی قرار دارند. البته در ایران الگوی انتشار در جمعیت عشایر و زنان شهری از طریق مصرف میوه و سبزیجـات آلـوده می باشد. بیماری از تمام استان های کشور با بالاترین میزان آلودگی در انسان(۴/۴۵ درصد هزار) از استان خراسان و کمترین آن(۰/۱ درصد هزار) از استان هرمزگان گزارش شده است. برای کل کشور میزان متوسط موارد جراحی ۱/۲ درصد هزار تعیین شده است،(۶). با توجه به این که بیماری هیداتیدوز در ۶۰ درصد موارد فاقد علائم بالینی است و ممکن است تا ۲۰ سال بدون علامت باقی بماند و به دلیل استقرار انگل در ارگان های مختلف انسان مانند کبد، ریه، طحال، قلب، مغز و نخاع، تشخیص آن دشوار بوده و اغلب از روش های پاراکلینیکی مثل روش های سرولوژیک برای تشخیص استفاده می شود،(۷). با نظر به این که تنها راه درمان بیماری جراحی است، لذا تشخیص سریع و قطعی بیماری بسیار حیاتی است،(۸). استفاده از آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک در تشخیص بیماری هیداتیدوز یکی از روش هایی است که با بررسی های سرولوژیکی به موقع می توان اثرات سودمندی در درمان سریع بیماری ایجاد نمود. بیشتر تست های سرولوژیک در تشخیص بیماری هیداتیدوز از مشکلات خـاص، محدودیت ها، حساسیت و ویژگی های متفاوتی برخوردار هستند. برخی از این تست ها به قابلیت های تکنیکی خاص و پرسنل مجرب نیاز دارند. بیشترین حساسیت در تکنیک الایزا با آنتی ژن B مایع کیست هیداتیک در مقایسه با سایر آنتی ژن ها مشخص شده است،(۹). روش الیزا برای اولین بار توسط فاراگ در تشخیص سرولوژیکی کیست هیداتیـک به کار رفت،(۱۰). در مطـالعات مختلف حسـاسیت روش الیـزا به طور متـوسط ۹۰ درصد-۶۰ درصد و ویژگی آن ۹۰درصد- ۷۵ درصد مشخص شده است که بسته به نوع آنتی ژن و روش تهیه آن، منطقه جغرافیایی انجام آزمـایش و بیماری های آندمیک منطقه متفاوت می باشد.(۱۱)

گاهی اوقات واکنش متقاطع در تست های سرولوژیکی رخ می دهد و دقت تشخیص را کـاهش می دهد که می توان با انجام آزمون ایمونو بلات، با ویژگی بالا به عنوان یک تست تکمیلی همراه با الایزا تشخیص را تأیید نمود،(۱۲). از سوی دیگر، هر کدام از آنتی ژن ها دارای فراکشن های مختلف هستند. مثلاً آنتی ژن B دارای فراکشن های ۸ ،۱۶، ۲۴و ۳۸ کیلو دالتونی است که حساسیت هر کدام از آن ها در تشخیـص بیماری می تواند متفاوت باشد و این فراکشن ها نیز در هر حیوانی دارای حساسیت های متفاوتی هستند،(۹). لذا یافتن آنتی ژنی که دارای فراکشنی با حساسیت و ویژگی بالا در پاسخ به سرم حیوانات مختلف باشد، پیشرفت چشم گیری در خصوص ابداع یک روش ارزان و تکامل یک کیت ساده محسوب می شود. از طرف دیگر، هر کدام از کلاس ها

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

و زیر کلاس های برخی از ایمونوگلوبولین ها نقش ویژه ای در تشخیص بیماری هیداتیدوز دارند که یافتن نوع آنتی ژن و کلاس مناسب آنتی بادی نیز کمک کننده است.(۱۳)

بخش عمده ای از پیشرفت تشخیص ایمونولوژیک هیداتیدوز، مرهون شناسایی و تهیه آنتی ژن های انگل است. معـــرفی آنتی ژن های اختصاصی، قطعاً کارآیی تشخیص ایمونولوژیک بیماری در انسان و حیوانات را گسترده تر و مفید تر خواهد کرد. نخستین گام اساسی در دست یابی به این هدف مهم، تهیه یک آنتی ژن خام مناسب از انگل می باشد که از نظر کمی و کیفی بتواند پاسخ گوی مراحل بعدی تخلیص و ارزیابی های آنتی ژن باشد. چه بسا این که یک آنتی ژن خام مناسب نیز در مواردی می تواند کارآیی قابل قبولی در آزمایشات سرولوژیک از خود نشان دهد.

برای تهیه آنتی ژن اختصاصی تلاش های زیادی شده است اما تا کنون دو نوع آنتی ژن B و آنتی ژنArc5 که اختصاصی تر عمل می کنند و دارای بیشترین دقت در تشخیص هستند، معرفی شده اند اما موارد منفی و مثبت کاذب با آن ها هنوز مشـــاهده می شود،(۹). این آنتی ژن ها دارای بیشترین نقش در ایجاد پاسخ های مؤثر ایمونولوژیکی هستند. اما آیا در انسان بین آنتی ژن انسانی و این آنتی ژن ها واکنش متقاطع وجود دارد یا خیر؟ کدام آنتی ژن بالاترین پاسخ آنتی بادی های انسانی را به خود اختصاص می دهد؟ کدام ایمونوگلوبولین برای این پاسخ ها ارجح تر است؟ مطالعه حاضر درصدد است تا به این سئوالات پاسخ مناسب و مبتنی بر شواهد معتبر علمی و منطبق بر شرایط آنتی ژن های منطقه ارائه نماید.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع موردی–شـــاهدی بوده و نمونه های مایع کیست هیداتیک انسان و آنتی ژن B به عنوان منبع آنتی ژن و نمونه سرم های مثبت و منفی انسان به عنوان آنتی بادی اولیه مورد آزمایش قرار گرفتند.

الف) تهیه آنتی ژن: مایعات کیست هیداتیک تازه جمع آوری شده از کیست های هیداتیک بارور جراحی شده انسان با نیروی ۱۰۰۰۰xg به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. این عمل باعث رسوب پروتواسکولکس ها و ذرات معلق گردید. مایع رویی، جدا شده در لوله های فالکون ۵۰ میلی لیتری استریل نگهداری شدند. مایع رویی همه ی نمونه ها با استفاده از روش انجماد و ذوب مکرر در تانک ازت مایع، شکسته شده و به وسیله دستگاه سونیکاتور که روی ۵۰ سیکل برثانیه و ماگزیمم تن ۳۰ ثانیه تنظیم شده بود در حمام یخ برای ۴ بار سونیکه شدند که با این عمل، محلول حالت هموژنیزه و یکنواخت پیدا کرد،(۱۴). در مرحله ی بعد به منظور تغلیظ پروتئین ها، عمل دیالیز انجام شد،(۱۵). سپس با روش براد فورد، عصاره های سوماتیک دیالیز شده، تعیین غلظت شدند،(۱۶). محلول حاصل به عنوان منبع آنتی ژن مایع تا زمان انجام آزمایش، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

ب) تهیه نمونه های سرم: نمونه های سرم از بیماران مبتلا به کیست هیداتیک که ابتلای آن ها به بیماری هیداتیدوز به وسیله پاتولوژی و انجام آزمایشات سـرولوژی قطعی شده بود، جمع آوری شدند. نمونه سرم های کنتـرل منفی نیز از افراد سالم، که سلامت آن ها با روش الیزا اثبات شده بود، تهیه شدند.

روش انجام الایزا: ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون آنتی ژنی انسانی با غلظت ۱/۲ میکرولیتر در میلی لیتر در بافر کربنات(۱ مولار و pH= ۹/۶) تهیه و به همه چاهک های پلیت پلی استیرینی اضافه و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از سه بار شستشو، ۲۰۰ میکرولیتر محلول مسدود کننده[Tris Buffered Salin ،Tween20) همراه با شیرخشک بدون چربی ۱ درصد] به چاهک ها اضافه و پلیت به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از شستشو، سرم با رقت ۱ به ۱۰۰ به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر به هر چاهک اضافه و به مدت ۱ ســـاعت در ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پلیت ها شستشو شـــده و با اضافه کـــردن ۱۰۰ میکرو لیتر از آنتی بادی های کونژوگه با HRP (Horseradish Peroxidase) با رقت ۱:۱۰۰۰ به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از شستشـــو، ۱۰۰ میکرولیتر ســـــوبسترای –2,

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

azino-bis(3-ethyl benzthiazoline-6sulfonic [2 acid) ABTS] (سیگما) با غلظت ۰/۳ میلی گرم در میلی لیتر به هر چاهک اضافه و مدت ۲۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از آن ۵۰ میکرو لیتر محلول متوقف کننده اسید سولفوریک ۲/۵ مولار به هر چاهک اضافه شد. میزان جذب نوری (Optical Density : OD) در طول موج ۴۰۵ نانو متر با دستگاه سنجش الایزا(ELISA-Reader) (مدل Bio-Rad،650) خوانده شد.(۱۷،۱۸)

برای تعیین سطح حداقل(Cut off)، از تعداد ۳۰ نمونه سرم انسان، که قطعاً فاقد بیماری کیست هیداتیک بودند، استفاده شد. برای این نمونه ها آزمایش الایزا گذاشته شد و از میزان جذب این نمونه ها، میانگین و انحراف معیار محاسبه شد، سپس میانگین به اضافه دو برابر انحراف معیار به عنوان سطح حداقل تعیین گردید.

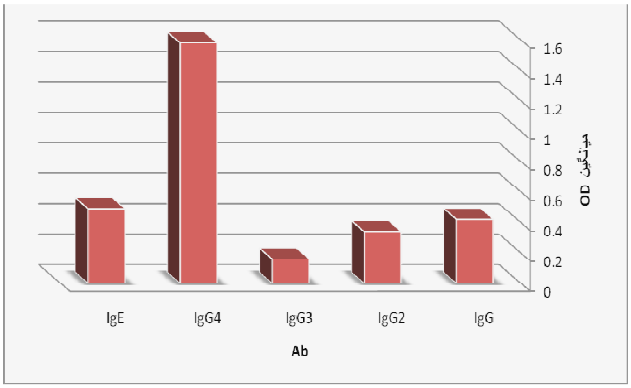
یافته های پژوهش

میانگین OD آنتی بادی های انسانی علیه آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان در یک گروه مورد ۳۰ نفره از افراد مبتلا به کیست هیداتیک از بیماران جراحی شده به روش الایزا مورد ارزیابی قرار گرفت. در بین زیر کلاس های IgG ، بالاترین میانگین OD مربوط به IgG4 و پایین ترین میانگین OD مربوط به IgG3 بود،(جدول ۱). میانگین به دست آمده از تمامی آنتی بادی ها در پاسخ به آنتی ژن انسانی بالاتر از میزان محاسبه شده Cut off برای آن ها بوده است، لذا همه ی نمونه های سرم مثبت تلقی شدند. با انجام آنالیز واریانس برای داده های به دست آمده، مشاهده گردید که اختلاف میانگین OD آنتی بادی های انسانی علیه آنتی ژن مایع کیست هیداتیک از نظر آماری کاملاً معنی دار است،(P<0.001). به عبارت دیگر پاسخ ایمنی هومورال انسانی علیه آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک از نظر آنتی بادی کـــاملاً متفاوت می باشد. بهترین پاسخ در بین زیر کلاس های IgG مربوط به IgG4 می باشد،(نمودار ۱). در بررسی پاسخIgG تام انسانی علیه آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی، حساسیت تست ۱۰۰ درصد و ویژگی آن برابر ۹۵/۸ درصد گزارش گردید.

جدول۱. میانگین OD پاسخ آنتی بادی های انسان علیه آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان

Ab / OD	Mean	Std.Deviation	Minimum	Maximum	Number	Range	Cut off
IgG	0.59	0.02	0.39	0.47	30	0.08	0.08
IgG2	0.34	0.04	0.22	0.41	30	0.19	0.12
IgG3	0.16	0.04	0.12	0.38	30	0.26	0.11
IgG4	1.58	0.18	1.31	1.99	30	0.68	0.15

(P<0.000, F=725.38)



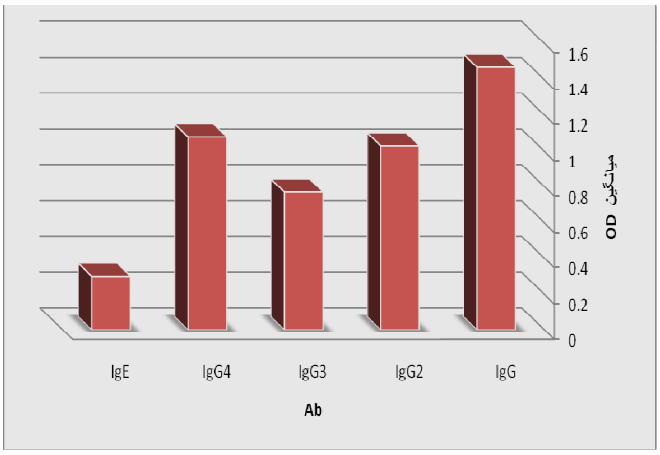
نمودار ۱. میانگین OD پاسخ آنتی بادی های انسان علیه آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

بررسی میانگین OD ناشی از پاسخ آنتی بادی های IgG تام انسان و زیر کلاس های آن علیه آنتی ژن B مایع کیست هیداتیک به روش الایزا برای گروه مورد انسانی انجام گردید. بالاترین میانگین OD به ترتیب در بین زیر کلاس ها، IgG4 و IgG2 بود،(جدول ۲). با توجه به این که میانگین تمام OD ها از میزان Cut off محاسبه شده بالاتر بود، لذا کلیه نمونه ها مثبت ارزیابی شدند. هم چنین آنالیز واریانس داده ها نیز حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین میانگین OD آنتی بادی ها در پاسخ علیه آنتی ژن B بود($P<0.001$)(نمودار ۲). با توجه به میانگین OD داده ها و شدت پاسخ آنتی بادی ها نسبت به آنتی ژن B، میزان حساسیت و ویژگی تست الایزا به ترتیب برای IgG تام برابر ۱۰۰ درصد و ۹۰ درصد، برای IgG2 و IgG4 برابر ۱۰۰ درصد و برای IgG3 برابر ۱۰۰ درصد و ویژگی آن ها برابر ۹۰ درصد گزارش گردید.

جدول ۲. میانگین OD پاسخ آنتی بادی های انسان علیه آنتی ژن B

Ab / OD	Mean	Std.Deviation	Minimum	Maximum	Number	Range	Cut off
IgG	0.93	0.17	0.81	1.04	30	0.47	0.31
IgG2	1.03	0.17	0.86	1.47	30	0.61	0.29
IgG3	0.77	0.07	0.71	0.94	30	0.23	0.28
IgG4	1.08	0.03	1.04	1.14	30	0.1	0.12



نمودار ۲. میانگین OD پاسخ آنتی بادی های انسان علیه آنتی ژن B

با توجه به این که محاسبه OD خام به تنهایی نمی تواند بیانگر شدت پاسخ علیه یک آنتی ژن، مبنای محاسبه شدت پاسخ یک آنتی ژن، مقایسه OD خام یا Cut off مربوطه می باشد. در تحقیق حاضر این شدت با تقسیم میزان OD خام به Cut off آن محاسبه شد که برای پاسخ سرم انسانی به آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی حدود ۶ بود در حالی که برای پاسخ سرم انسانی به آنتی ژن B برابر ۳ گزارش گردید که نشان دهنده دو برابر بودن پاسخ سرم انسانی به آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی است،(جدول۲). همین میزان برای IgG4 انسانی به آنتی ژن خام ۱۰/۵ و به آنتی ژن B برابر ۹ می باشد. ارتباط بین پاسخ سرم انسانی به آنتی ژن های خام مایع کیست هیداتیک انسانی و آنتی ژن B با انجام آزمون Post Hock معنی دار گزارش گردید.($P<0.001$)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

بحث و نتیجه گیری

پاسخ متقاطع سرم انسانی به آنتی ژن های مختلف کیست هیداتیک انسانی و حیوانی می تواند توجیه مناسبی برای استفاده از یک نوع آنتی ژن که دارای بیشترین واکنش می باشد، ارائه نماید. در کیت های حاضر در بازار از آنتی ژن های گوسفندی استفاده می شود و مطالعات مختلفی در این زمینه صورت گرفته است،(۸،۹،۱۰،۱۲). اما مطالعات اندکی با هدف بررسی واکنش متقاطع آنتی ژن های انسانی با کیست های موجود با استفاده از کلاس و زیرکلاس آنتی بادی و نیز روش های الایزا و وسترن بلات صورت گرفته است. مطالعه حاضر در صدد آن بود تا محدودیت مطالعات قبلی را بر طرف نماید و از این رو واکنش متقاطع بین آنتی ژن ها را مورد ارزیابی قرار داده و در این خصوص اثبات کرد که شدت واکنش پاسخ سرم انسانی به آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک خود انسان دو برابر این شدت به آنتی ژن B می باشد. چنین شدتی برای زیر کلاس های IgG مثل IgG4 که بیشترین پاسخ را ایجاد می نماید نیز قابل مقایسه است به طوری که برای آنتی ژن انسان به مراتب بالاتر از آنتی ژن B می باشد. مطالعات دیگران در خصوص IgG4 مؤید نتایج این مطالعه است،(۱۳). به عبارت دیگر نه تنها واکنش متقاطع بین آنتی ژن ها وجود داشته است بلکه در این خصوص آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی نسبت به آنتی ژن B دارای ارجحیت است به گونه ای که اختلاف پاسخ سرم انسانی به این دو آنتی ژن از لحاظ آماری نیز به طور قوی معنی دار است. از نگاه دیگر نیز ارجحیت آنتی ژن انسانی قابل توجه است و آن هم حساسیت و ویژگی بالای این آنتی ژن با انجام روش الایزا نسبت به آنتی ژن B می باشد. این نتایج با مطالعات دیگر در این خصوص هم خوانی دارد،(۱۴). انتخاب IgG4 به عنوان آنتی بادی انتخابی، آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انسانی به عنوان منبع آنتی ژن مورد استفاده برای بررسی سرو اپیدمیولوژیکی و نیز به منظور تشخیص کیست هیداتیک از یافته های قابل توجه این مطالعه است. هم چنین آزمایش الایزا که نتایج آن با انجام آزمایش وسترن بلات نیز تأیید گردید، می تواند به عنوان روش سریع و حساس قابل استفاده باشد.

سپاس گزاری

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه ایلام جهت تامین بودجه طرح تحقیقاتی مذکور و هم چنین جناب آقای دکتر جهانگیر عبدی جهت همکاری در خصوص تهیه آنتی ژن B تشکر و قدردانی به عمل می آید.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

References

1-Schmidth GS, Roberts L. Foundation of parasitology.6th ed. St. Louis Missouri, editor. Mosby College Publishing 11830 West line Industrial Drive 2005.p.338–41.

2-Thompson R C A. Biology and systematic of Echinococcus. In: Thompson RC A, Lymbery A J, editors. Echinococcus and Hydatid Disease. Wallingford: CAB International 1995.p.1-50.

3-Todsorov T, Boeva V. Human Echinococcosis in Bulgaria: a comparative epidemiological analysis. BULL WHO 1999;77(2):110-18.

4-Eslami A. Helmintology. 3rd ed. University of Tehran Pub, Tehran 2005. (Persian)

5-Scantz PM, Chai J, Echert A, craig PS. Epidemiologynand control of htdatid diease. Thomson RCA, Jymbery A.T, editors. Walingford: CBA international,UK 1995.p.232-74.

6-Mobedi I, Dalimi A. [Epidemiology of hydatid cyst in Iran and the world]. Moghaddam Pub 1994.p.132–47.(Persian)

7-Harold B, Franklin N. Basic clinical parasitology. 10th ed. Athari A, editor. Aeej Pub 2008.

8-Wulamu M, Hiroshi Y, Yasuhito S, Kazuhiro N, Minoru N, Marshall WL, et al. Usefulness of hydatid cyst fluid of echinococcus granulosus developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic echinococcosis in humans. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 2002May;9(3):573-6.

9-Rafiei A, Saeedi DE. Analysis of antigen B in diagnosis of hydatid cyst western Blott. The Sixth National and First Regional Congress on Parasitology and Parasitic Diseases 2008; Razi Institute, Tehran, Iran.

10-Farag H, Bout D, Capron A. Spisific immunodiagnosis of human hydatidosis by the ELISA. Biomedicine 1975;23:276-8.

11-Simsek S, Koroglu E. Evaluation of enzyme linked immunosorbant assay (ELISA) and enzyme linked immunoelectrotransfer blot (EIBT) for immunodiagnosis of hydatid disease. Acta Tropica 2004;92(1):17-24.

12-Burgu A, Doganay A, Gonen B, Sarimehmetoglu HO, Kalinbacak F. Analysis of fluids of hydatid cysts from sheep by SDS-PAGE, and determination of specific antigens in protein Structure by Western Blotting. Turk J Vet Anim Sci 2000;24:493-500.

13-Khabiry AR, Bagheri F, Assmar M, Siavashi MR. Analysis of specific IgE and IgG subclass antibodies for diagnosis of echinococcus granulosus. Parasite Immunology 2006.p.357-62.

14-Sbihi Y, Jansen D, Osuna A. Serologic recognition of hydatid cyst antigens using different purification methods. Diagn Microbiol Infect Dis 1996;24:205-11.

15-Boyer RF. Modern experimental biochemistry, the Benjamin/ comings publishing, Inc Redwood City, California USA 1993.

16-Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantization of micro gram quqntitites of protein utilization the principle of dye Binding. Ann Biochem 1976;77:248-54.

17-Verastegui M, Moro P, Guevara A, Rodriguez T, Miranda E, Gilman RH. Enzyme – Linked immunoelectrotransfer blot test for diagnosis of human hydatid disease. J Clin Microbio l1992;30:1557-61.

18-Crowther JR. ELISA theory and practice. New Jersy, Human Press 1995.p.211-18.

19-Rigano R, Profumo E, Di Felice G, Ortona E, Teggi A, Siracusano A. In vitro production of cytokines by peripheral blood mononuclear cells from hydatid patients. Clin Exp Immunol 1995;99:433-9.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

Human IgG Class And Subclass Against Crude Hydatid Cyst Fluid (HCF) Antigens of Human Compared to Antigen B

Baba Ahmadi E[1] ,Shamsi M[2], Khosravi A[3], , Sayehmiri K[4], Saki k[5]*

(Received: 8 Jan. 2010 Accepted: 4 Sep. 2010)

Abstract

Introduction: Application of crude hydatid (HCF) cyst fluid antigen for the diagnosis of cystic hydatid (CH) is a method which along with immediate serological investigation can be helpful and effective in rapid treatment of the disease. However, there is no standard, highly sensitive, and specific serological test for antibody detection in cases of human CE yet. The current study aimed to evaluate the cross- reactivity of human IgG against human crude hydatid fluid antigens compared to B fraction of sheep cystic fluid antigen in order to find the target antigens with the highest IgG class, IgG subclass.

Materials & Methods: This is an analytical case-control study using human crude HCF as the source of antigen for performing ELISA and Western blotting. Sample sera used in present work were collected from patients who recently had hydatid surgery in hospitals of Tehran, Hamadan and Ilam cities as human case group together with some human or animal sera with no history of hydatidosis with negative HCF using ELISA and IFAT as control group. Briefly, the required antigen was extracted and prepared from human hydatid fluid cysts. 30 positive samples sera from human sources were used as the case together with 30 healthy sera as control group. Hydatid cyst fluid antigen preparation was carried out according to the procedure described by Mamuti, et al, with slight modifications. ELISA method was carried out as described by Verastegui.

Findings: The highest mean OD value in response to human HCF antigen was related to IgG4, while the lowest to IgG3. The sensitivity and specificity of ELISA test used for evaluating the responses of human total IgG to HCF antigen were 100 and 95.8% respectively. Cross-reaction of human IgG class and subclasses responses was found for both antigens with the best reaction against human HCF antigen compared to antigen B using a ratio of mean OD value to each antigen divided by the cut-off point value for the same antigen.

Discussion & Conclusion: Human sera showed a considerable cross-reactivity against human HCF antigens and antigen B by ELISA test. The best human IgG subclass response against all antigens was found to be IgG4.

Keywords: hydatid cyst, crude antigen, antibodies, ELISA

1. Dept of parasitology, Veterinary Medicine School, Ilam University, Ilam, Iran
2. Dept of Immunology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran (corresponding author)
3. Dept of Pathology, Veterinary Medicine School, Ilam University, Ilam, Iran
4. Dept of Bio-statistics, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
5. School of Veterinary Medicine, Ilam University, Ilam, Iran

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]