تمنيع الفئران البيض ضد الأكياس المائية باستعمال المستضد B والمستضد الابرازي الإفرازي

وحيدة رشيد علي
قسم علوم الحياة، كلية التربية – ابن الهيثم، جامعة بغداد

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية إلى إمكانية الحصول على مستضد له القدرة على تحفيز الاستجابة المناعية ضد الإصابة بمرض الأكياس المائية، ولهذا أستخلص مستضدان من الطور الكيسي لدودة *Echinococcus granulosus* في الأغنام وهما:

1- مسضد السائل الكيسي ويسمى المستضد B.

2 – المستضد الابرازي الإفرازي Excretion-Secretion ويسمى المستضد ES.

3- المستضد B/ESهو عبارة عن مزيج من المستضدين أعلاه بنسبة1:1.

إذ حضرت ثلاثة تراكيز للمستضد B/ES 15, 30 , 60 ملغم/مل استعلمت في تمنيع الفئران البيض من الذكور بجرعة تمنيع قدرها 20 مايكروغرام/غم من وزن الجسم، وبجرعة تقوية واحدة 10 مايكروغرام/غم لحصول عملية التمنيع.

فحصت فعالية المستضد، وكفاية تراكيز المستضد التي استعملت في توليد المناعة ضد الإصابة بالأكياس المائية الثانوية عن طريق حساب النسبة المئوية للاختزال في أعداد هذه الأكياس.

أظهرت النتائج إن النسبة المئوية للاختزال في مجاميع الفئران الممنعة كانت 91.5% و 92.3% و 100% للتركيز 15, 30 , 60 مايكروغرام/غم على التوالي ، وسجل فرق بينها وبين فئران السيطرة الموجبة التي كانت أكثر تقبلا للإصابة.

وعند إجراء فحص الحساسية بعد 45 يوما من الإصابة أظهرت الفئران استجابة مناعية خلوية عالية بعد ثلاث ساعات من حقن المستضد B/ES في وسادة القدم اليسرى للفار بزيادة في سمك وسادة القدم، وكان هذا واضحا لمجموعتي السيطرة الموجبة والفئران الممنعة إلا إن التفاعل كان أكثر حدة في الثلاث ساعات الأولى ولاسيما مجموعة فئران السيطرة الموجبة المصابة. وعند إعادة التجربة بعد 90 يوما من الإصابة كانت النتيجة مشابهة لما ذكر أعلاه، إلا إن التفاعل كان أكثر حدة في الثلاث ساعات الأولى ولاسيما مجموعة فئران السيطرة الموجبة.

المقدمة

يمتلك الطور اليرقي لطفيل الدودة الشريطية الحبيبية المشوكة *E. granulosus* حماية عالية الكفاية لتجنب دفاعات المضيف عن طريق أغشية ومحفظة المضيف المحيطة بالطفيلي من التأثير المناعي، إذ يقوم الطفيلي بتثبيط المناعة الخلوية لخلايا Th1 عن طريق تنشيط الخلايا Th2 إفرازها حركيات خلوية Cytokines مثل النترلوكين IL-4 مثبطة لعمل Th1 مما يزيد ذلك من شدة المرض (1).

يمتلك الطور اليرقي مستضدات عالية لتحفيز الجهاز المناعي وإحداث استجابة مناعية خلوية وخلطية في المضائف الوسطية (2)، وتعد الرؤيسات الأولية Protoscolices مستضدا أكثر خصوصية من السائل الكيسي في الاختبارات المصلية لكثرة المكونات الطفيلية فيه مما يقلل من النتائج الكاذبة في الفحوصات المناعية (3). استعملت المنتجات الايضية للأطوار اليرقية للديدان الشريطية في تمنيع الأغنام ضد الطور اليرقي مكتسبة بذلك مناعة عالية ضد إصابة التحدي ببيوض *E. granulosus* ، وبحقن الجرعة الجنينية تحت الجلد. كما تزداد درجة التمنيع بزيادة عدد الجرعات (4). وتم الحصول على مستوى عال من الوقاية خلال التمنيع التجريبي للأغنام بمستضد السائل الكيسي لهذا الطفيلي مقارنة بمجموعة السيطرة (5). تعمل مستضدات الطفيل موادا" مشطرة Mitogens تؤدي إلى تحفيز المناعة الخلطية وزيادة الكلوبيولينات المناعية، كما لوحظ ارتفاع مستوى IgM خلال أسبوع من الإصابة واختفاءه في الأسابيع اللاحقة (6).

لقد شخص 23 مستضدا مختلفا من الطور الكيسي للدودة ومن الخلاصات الماخوذة من الرؤيسات الأولية أو جدار الكيس. وأكثر هذه المستضدات تواجدا هي المستضد B أو 4 والمستضد A أو 5، وهما الأكثر استعمالا لالتقاط الأجسام المضادة النوعية لهذا الطفيل. كما إن المستضد B أكثر استضدادية وخصوصية من المستضد A لانه مشترك مع *E. multicularis* وديدان شريطية أخرى (6) . إن المنتجات الايضية للرؤيسات المنمات في الزجاج *In vitro* أجسام مضادة نوعية لهذه المستضدات الايضية في الاختبارات المناعية، وتقوم المستضدات الابرازية الإفرازية Excretion-secretion (ES) antigens من الطور اليرقي وتطور الغشاء الجرثومي ومن ايض الرؤيسات الأولية على إنتاج مدى واسع من الأجسام المضادة التي لها دور في تشخيص وحث مقاومة فعالة ضد الطفيلي (8,7) .

هنالك محاولات لعمل لقاح مضاد لطفيل الأكياس المائية في المضائف الوسطية في الحيوانات بكفاية عالية باستعمال مستضدات أجنة الشريطيات Oncospheres antigens ، وباستعمال تقنيات Recombinant DNA ومن ثم القضاء على المرض في الإنسان والقضاء على الطفيلي في مضائفه الوسطية وبنسبة 99% (10,9) ولأجل ذلك تهدف الدراسة الحالية إلى إحداث مناعة نوعية باستعمال المستضدات الابرازية الإفرازية للمستضدB للطور الكيسي لكبح نمو وتطور الأكياس داخل جسم المضيف الوسطي ومن ثم التقليل من الامراضية التي تنجم عن الإصابة.

المواد وطرائق العمل

أجريت التجارب على الفئران البيض من سلالة Albino Swiss mice وبعمر 30-35يوما، وبأوزان تراوحت بين 25-30 غم، وبعدد (75) فارا من الذكور.

من مجزرة بنغازي في الجماهيرية الليبية جمعت عينات الأكياس المائية من أكباد ورئات الأغنام المصابة لعزل الرؤيسات الأولية وفصلها وجمع السائل الكيسي إذ عقم السطح الخارجي بالكحول الاثيلي بتركيز 70% ، وبعد سحب جميع السائل الكيسي بمحقنة سعة 10مل اجري النبذ المركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة، وسحب الراشح ووضع في قنينة معقمة لتحضير المستضد B منه.

استخدمت الطريقة الموضحة من Oriol *et al.* (11) و Williams *et al.* (12) لاستخلاص المستضد Bمن السائل الكيسي وكمايأتي:

1- وضع 500مل من السائل الكيسي للأغنام في كيس الديلزة Dialysis membrane وغمر بمادة البولي اثيلين كلايكول (بوزن جزيئي 2000 دالتون) بدرجة 4 م لتركيزه إلى حجم 250 مليلتر، وثم غسل السطح الخارجي للكيس بالماء الجاري ثم بالماء المقطر للتخلص من آثار البولي أثيلين كلايكول.

2- إجراء عملية الفرز الغشائي Dialysis لحجم100مل من السائل الكيسي ضد دارئ الخلاتAcetate buffer حجم 500 مل عيارية 5ملي مول، وباس هيدروجيني 5 مدة 24ساعة بدرجة 4 م مع تبديل الدارئ.

3- فصل الراسب بالنبذ المركزي بسرعة 50000 دورة / دقيقة مدة 30 دقيقة، أهمل الراشح لاحتوائه على الألبومين وكلوبيولين غير النوعي للمضيف، وأذيب الراسب في 30 مل من محلول دارئ الفوسفات Phosphate buffer solution (PBS) بعياريه 5مول وبأس هيدروجيني8.

4- أضيف محلول مشبع من سلفات الامونيوم SO_4 (NH_4) وبشكل تدريجي لحين الوصول إلى نسبة تشبع قدرها 400%، وترك مدة 30 دقيقة بدرجة 4 م.

5- إجراء النبذ المركزي بسرعة 5000 دورة / دقيقة مدة 60 دقيقة لفصل الراشح الحاوي على مستضدات الطفيلي، وأهمل الراسب لاحتوائه على الكلوبيولينات النوعية للمضيف.

6- استخلص المستضد B بغلي الراشح مدة 15 دقيقة، وإجراء النبذ المركزي بسرعة50000 دورة / دقيقة. 7- مرر الراشح بمرشح دقيق Millipore filter (0.22 مايكروميتر) لزيادة نقاوة المستضد B.

8- أضيف للمستضد B مادة الميرثولايت بتركيز 0.01% مادة حافظة، وجفد المستضد بجهاز التجفيد lyophilizer وحفظ بدرجة 4م.

9- وقدر تركيز البروتين للمستضد B على وفق طريقةWhitaker and Granum (13).

جمعت الرؤيسات الأولية من سائل الأكياس المائية للأغنام المصابة بطفيل الأكياس المائية، وغسلت الطبقة المولدة للكيس ثلاث مرات بمحلول فسلجي معقم Normal saline حاو على 100 وحدة دولية من البنسلين و100 مايكروغرام/مل من الستربتومايسين، وعلقت الرؤيسات في محلول فسلجي خال من المضادات الحيوية بعد إجراء فحص حيوية الرؤيسات الأولية بصبغة الآيوسين المائية واخذ معدل ثلاثة مكررات لاستخراج التركيز النهائي لعدد الرؤيسات الموجودة في المحلول.

استخدمت طريقةAure and Aspok (8) لتحضير المستضد الابرازي الإفرازي وكما يأتي:

1- علقت الرؤيسات الأولية باستعمال حجم مماثل لحجم الرشح المسحوب بالوسط الزرعي RPMI1640 (المصنع من شركة sigma) الحاوي على الستربتومايسين والبنسلين بتركيز 100 مايكرو غرام/ مل من الوسط الزرعي في دوارق الزرع المخروطية حجم 25 مل إذ وضع 10-15 مل من المادة الزرعية وبمعدل رؤيس حيوي في كل دورق.

2 - حضنت الدوارق بدرجة حرارة 37م مدة 7-15 يوما" مع الوسط الزرعي يوميا مع فحص حيوية الرؤيسات، وقد أظهرت نسبة كبيرة من الرؤيسات حصول عملية الانبعاج Evagination فيها خلال 24 ساعة.

3- أهملت المادة الزرعية المسحوبة بعد 24 ساعة لاحتوائها على بروتينات مصل المضيف، وجمعت المادة الزرعية بعدها يوميا في قناني معقمة محكمة الغلق وتحفظ في درجة 4م.

4 - إجراء النبذ المركزي للمادة الزرعية المسحوبة بسرعة 1500 دورة / دقيقة مدة خمس دقائق، مع تنقية الراشح بتمريره بأوراق المرشح الدقيق 0.22 مايكوميتر في ظروف معقمة.

5- ركز الراشح إلى 100مل بوضعه في كيس الديلزة، وغمر بالبولي اثيلين كلايكول بوزن جزيئي 6000 دالتون مدة 48ساعة، وإجراء الفرز الغشائي ضد دارئ الفوسفات PBS برقم هيدروجيني 7.2 مدة 24 ساعة ثم بالماء المقطر.

6- قدر تركيز البروتين على وفق طريقةWhitaker and Granum (13)، وجفد وحفظ بدرجة 4 م لحين الاستعمال.

تضمنت تجارب التمنيع الآتي:-

التجربة الأولى: استخدم في هذه التجربة (75) فأرا من الذكور بعمر 30-25 يوما" قسمت على ثلاث مجاميع كل مجموعة مكونة 25 فارا وأجريت لكل مجموعة عملية التمنيع باستعمال المستضد ES وحضرت ثلاثة تراكيز منه (60,30,15مايكرو غرام/مل)، وحقنت كل مجموعة بجرعة 20 مايكرو رام /غم من وزن جسم الحيوان وبعد 21 يوما حقنت بجرعة تقوية مقدارها 10ميكروغرام / غم باستعمال المسلك تحت الجلدي Subcutaneous rote لإجراء عملية التمنيع، وبعد ثمانية أيام حقنت كل المجاميع بجرعة التحدي

Challenge rote البالغة 3000 رؤيس أولي حيوي في جوفها الخلبي Intraperitoneally.

التجربة الثانية: استعمل في هذه التجربة 45 فأرا ذكور قسمت كما ياتي :-

المجموعة الأولى شملت من 25 فارا استعملت مجموعة سيطرة موجبة حقنت بجرعة التحدي مباشرة.

المجوعة الثانية مكونة من 25 فارا تركت مجموعة سيطرة سالبة طبيعية.

شرحت مجاميع الفئران بعد 90 يوما من الإصابة بالرؤيسات الأولية وفحصت الأعضاء الداخلية للحيوان عيانيا واستخدمت معادلة لحساب النسبة المئوية لاختزال الأكياس المائية على وفق طريقة (14) وكمايأتي :-

أجرى فحص الحساسية لمجاميع الفئران على وفق طريقة Sanchez *et al.* (15) بعد 45 و 90 يوما من حقن جرعة التحدي، وحضر تركيز 0.03 ملغم/مل للمستضد B/ES، وحقنت بوسادة القدم اليسرى للفأر بحجم 0.03 مل بعد تعقيم منطقة الحقن، وحقنت وسادة القدم اليمنى بالحجم نفسه من الملح الفسلجي المعقم، واستعملت محقنه سعة 1 مل، وقيس فرق السمك في وسادة القدم اليسرى للفئران قبل حقن المستضد وبعد الحقن مدة (3, 24, 48 ساعة) باستعمال القدمة Vernier.

النتائج

أظهر تشريح فئران مجموعة السيطرة الموجبة وجود الأكياس المائية في جوفها الخلبي موزعة بشكل غير منتظم ومنتشرة أحيانا بشكل كتل متجمعة. وكانت ملتصقة بالكبد والمعدة والحجاب الحجز والغشاء الخلبي وهي مغروسة بهذه الأعضاء ، وبدت بشكل كرات متباينة الحجم تراوحت أقطارها بين 1-8 ملم وجدار رقيق شفاف يبدو من خلاله السائل الكيسي صورة (1 ,2 ,3 ,4).

وأظهر تشريح الفئران الممنعة وجود الأكياس المائية الثانوية أيضا ولكن في بعض منها فقط وكانت صغيرة الحجم بقطر 1-2 ملم وقليلة العدد ملتصقة بالكبد أو المعدة أو الأمعاء صورة (4)، وكانت نسبة الفئران الممنعة المصابة بالأكياس المائية الثانوية (6.7% عدد الفئران= 5 من أصل 75)، واظهر بعضها الآخر وجود أورام حبيبية فقط بلغت نسبتها (4% عدد الفئران = 3) كما في الصورة (6).

أوضحت نتائج النسبة المئوية للاختزال الأكياس المائية الثانوية في الفئران التجريبية الممنعة وجود انخفاض واضح في عدد الأكياس المائية في أحشائها وجوفها الخلبي، واظهر بعض منها مناعة مطلقة ضد إصابة التحدي مقارنة بفئران مجموعة السيطرة الموجبة التي بلغ فيها معدل الأكياس المائية الثانوية (13) كيسا، ويوضح الجدول (1) الفرق في كفاية المستضد B/ES بتراكيزه الثلاثة المحضرة (15 ,30 ,60 مايكرو غرام /غم)، إذ كانت النسبة المئوية للاختزال 91.5% ,92.3% ,100% على التوالي، واظهر المستضدB/ES كفاية عالية في الاستجابة لإصابة التحدي وبمعدل 94.6%.

اختبرت الاستجابة المناعية الخلوية في الفئران التجريبية عن طريق قياس فرق السمك الحاصل في وسادة القدم اليسرى للحيوان قبل وبعد حقن المستضد B/ES بمدة (3، 24 ، 48 ساعة) ، و بعد مرور 45 و90 يوما من حقن جرعة التحدي. أظهرت النتائج وجود زيادة في وسادة القدم اليسرى بعد 3 ساعات من حقن المستضد بعد 4 ايام من الإصابة لمجموعة السيطرة الموجبة، وكان معدل فرق السمك 1.2 ملم ،وبعد 24 ساعة انخفض الفرق إلى 1.2ملم ووصل بعد 48 ساعة إلى 1 ملم شكل(1) . كانت اكبر زيادة في السمك بعد ثلاث ساعات من حقن المستضد وبعد 90 يوما من الإصابة التجريبية،اذ كان مستوى فرق السمك 1.8 ملم وبعد 24 ساعة انخفض الفرق إلى 1.4 ملم وانخفضت بعد 48 ساعة إلى 1.1 ملم في الإصابة التجريبية لمجموعة السيطرة الموجبة. أما الفئران الممنعة المصابة بالأكياس المائية فإنها أظهرت فروقا تشبه فروق مجموعة السيطرة الموجبة من حيث التدرج بفرق السمك في وسادة القدم ليسرى إذ كان أعلى سمك عند ثلاث ساعات ثم انخفض عند 24 ثم يقل أكثر عند 24 ساعة . وأوضحت نتائج تحليل التباين عند اعتماد مدة

الفحص 45 و 90 يوما قد أظهرت فروقاً" معنوية في سمك وسادة القدم عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$) وان الفروق كانت أكثر وضوحا بعد 90 يوما" من الإصابة.

المناقشة

للمستضد الابرازي الإفرازي B/ES المستخلص من تنمية عدد من الرؤيسات الأولية في الوسط الزرعي RPMI-1964 القابلية على تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية بكفاية وخصوصية عالية لكثرة المكونات الطفيلية فيه (14). وفي الدراسة الحالية استعمل المستضد B لوجوده في السائل الكيسي وغلاف الرؤيسات الأولية والخلايا الحشوية لها، وفي محافظ الحضنة وجدارها (6) ولهذا المستضد تفاعل مناعي جيد كما انه يعطي التشخيص المناعي النوعي للطفيل، وهذا ماكدته الدراسات العلمية ولهذا استعمل المستضد B/ES لتمنيع الفئران بعمر 25– 30 يوما لان الفئران التي لا يزيد عمرها عن شهرين تكون أكثر قابلية للإصابة بالأكياس المائية الثانوية من تلك التي يزيد عمرها عن الشهرين (17).

لوحظ انخفاض واضح في معدلات عدد الأكياس المائية الثانوية في المجاميع الممنعة مما يؤكد كفاية التمنيع، كما إن النسبة المئوية للاختزال في عدد الأكياس المائية الثانوية زادت بزيادة تركيز B/ES حتى إنها في التركيز 60 ملغم/غم وصلت إلى 100%، وان الأكياس التي ظهرت في مجاميع الفئران الممنعة كانت اقل عددا واصغر حجما عند مقارنتها مع أكياس مجموعة السيطرة الموجبة. كما اظهر بعض منها أوراما حبيبية فقط، التي بدت بشكل كتل بيض صغيرة الحجم وهي في الواقع عبارة عن رؤيسات أولية محاطة بألياف وتجمعات من الخلايا الالتهابية الناتجة من التفاعل الالتهابي للمضيف مثل: خلايا العدلة ،Neutrophils والحمضة Eosinophils في الأنسجة المحيطة بها، وخلايا بلعمية كبيرة Macrophages، وخلايا بدينة ، Mast cells وخلايا عملاقة Giant cells ،وخلايا مولدة للألياف Fibroblastsكما تكثر فيها الخلايا البلازمية Plasma cells (18).

أن وجود بعض الأكياس المائية الثانوية في الفئران الممنعة بالرغم من قلتها قد يرجع إلى حجم جرعة التحدي (300 رؤيس أولي)، وحيوية الرؤيسات الأولية، إذ أظهرت الرؤيسات حركة حيوية حتى بعد 17 يوم من التنمية، كما إن الجرع الكبيرة تؤدي إلى تثبيط مناعي نتيجة لفعالية الطفيلي داخل جسم المضيف، وكذلك زيادة تركيز المستضد المحقون في الفئران مما اضعف مقاومتها للمرض وقاد إلى ظهور الأكياس الثانوية فيها بالرغم من تمنيعها. أظهرت مجموعة السيطرة الموجبة وجود الأكياس المائية الثانوية فيها غير ملتصقة بالأعضاء ومفردة وذي غشاء رقيق يبدو من داخله السائل الكيسي، و جاء ذلك مطابقا لما وجد في دراستين سابقتين (19و20).

يستنتج من ذلك إن للمستضد B/ES استضدادية عالية ويمكن استعماله لتوليد مناعة ضد الأكياس المائية في الفئران بوصفها مضائف وسطية وبكفاية عالية في التمنيع.

المصادر

1.Vuitton, D.A.; Zhang, S.L.;Yng, Y.; Godot,V.; Burton, I.; Mantion, G. and Bresson-Hadni, S.(2006). Parasitol. Int., 55 :51-55.

2.Cox, D.A ; Marshaii-Clarke, S. and Dixon,J.B.(1989). Immunol. 67: 16-20.

3. Abrantes, P. and Avila, R. (1968) . Lancet, 2: 432-433.

4.Holcman, B. and Heath, D. D. (1997). Acta Trop., 64: 5-17.

5.Lightowlers, M.W. (1990). Int. J. Parasitol. 20: 471-478.

6. Williams, J.F. (1979). J. Parasitol., 65 :337-349.

7. Matossian, R, M. (1977) . Trans .Roy .Soc. Trop. Med. Hyg., 71:101-104.

8. 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 (Echinococcosis). Second Int. Symp.(2-7) Des : 7-15.

9. Gottstein, B. (2005). Ther., Umsh. 62:685-693(Abstract).

10. Lightowlers, M. W.(2006). Parasitol. Int., 55:39-43.

11. Oriol, R.; Williams, J. F. ;Perez-Esandi, M.V. and Oriol, C.(1971). Am.J.. Trop. Med. Hyg., 20: 569-574.

12. Williams, J. F.; Perez-Esandi, M. V. and Oriol, R.(1971). Am. J. Trop. Med . Hyg. 20: 575-579.

13. Whitaker, A. and Granum, M. L. (1980) .Ann.Biochem.,109:156-159.

14. Heath, D. D.(1976). Int. J. Parasitol., 6:19-24.

15. Ali-Khan, Z. (1978). Exp. Parasitol., 46:157-165.

16. Sanchez, F.; Garicia, J.; March, F.;Gardenosa, N.; Colli, P.; Munoz, C.; Auladell,C.and Pyats,G.(1993). Parasite Immunol, 15:441-447.

17. Maddison, S. E.; Slemenda, S. B.;Schantz, P.M.;Fried, J. A.;Wilson, M.and Isang, V.C.W. (1989). J. Trop. Med. Hyg., 40:377-383.

18. Zhang, W.; Li, J. and McManus, D. P.(2003). Clin. Microbiol. Rev.,16:18-36.

19. AL-Saegh. V.A.(1978).Behavior of the larval stage of *Echinococcus granulosus* in laboratory animals. M.Sc.Thesis, Coll. Med.,Univ. Baghdad .

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

جدول (1) النسبة المئوية لاختزال عدد الأكياس المائية لمجموعة الفئران الممنعة بالمستضد B/ES ومجموعتي السيطرة الموجبة والسالبة.

الفئران الممنعة بتراكيز المستضد B/ES(مايكرو غرام/غم)	عدد الاكياس المائية		النسبة المئوية للاختزال	
	المعدل	الانحراف المعياري		
15	1.1	0.95	91.5	94.6
30	1.5	0.85	92.3	
60	0	0	100	
سيطرة موجبة	13	3.27	0	0
سيطرة سالبة	0	0	0	0

صورة 1: فأر مصاب بالأكياس المائية بقطر 1-2 ملم

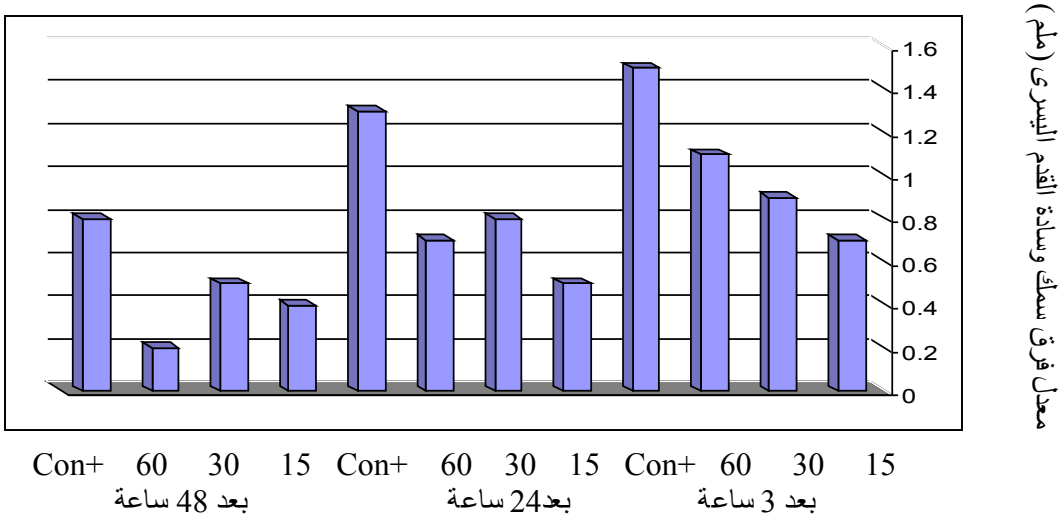
صورة 2: فأر مصاب بالأكياس المائية بقطر 2-5 ملم

صورة 3: فأر مصاب بالأكياس المائية بقطر 8 ملم

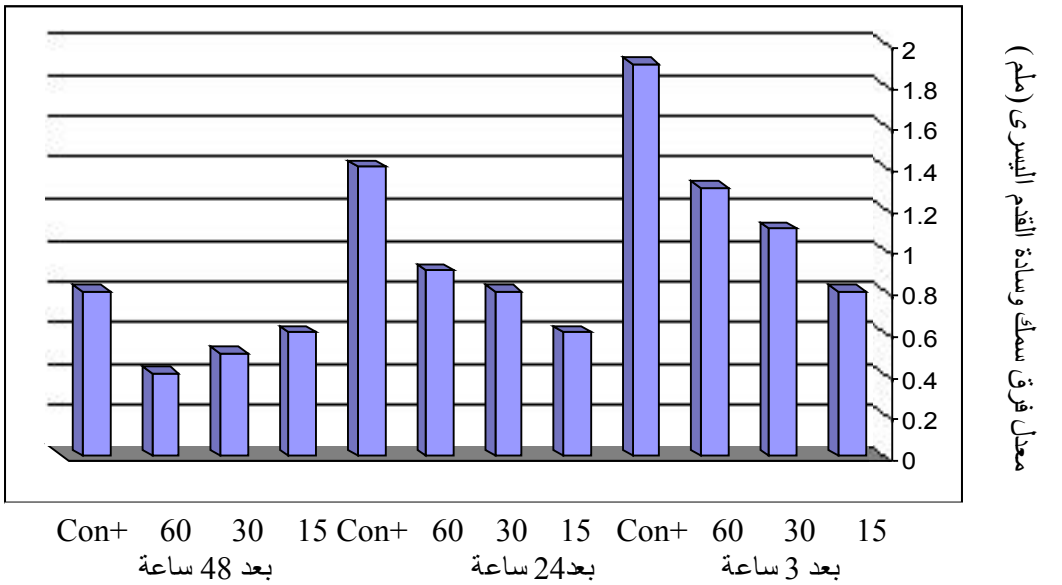
صورة 4: توضح فأر مصاب بالأكياس المائية بقطر10 ملم

صورة (5) : احد الفئران الممنعة الحاوية على أكياس مائية بقطر 1-2 ملم

صورة(6) : احد الفئران الممنعة الحاوية على ألأورام الحبيبية



شكل (1) متوسط وسادة القدم اليسرى بعد 4,24,3 ساعة من حقن المستضد B/ES في الفئران الممنعة بتراكيزه الثلاثة بعد 45 يوما من حقن جرعة التحدي



شكل (2) متوسط وسادة القدم اليسرى بعد 3 , 24 ,4 ساعة من حقن المستضد B/ES في الفئران الممنعة بتراكيزه الثلاثة بعد 90 يوما من حقن جرعة التحدي

Immunization of White Mice against Hydatid Cyst Using Antigen B and Excretion - Secretion Antigen

W. R. Ali

Department of Biology, College of Education, Ibn-AL-Haitham, University of Baghdad.

Abstract

The aim of this study was toward the possibility of producing antigen that has the ability to stimulate the immune response against the infection with the hydatid cyst. To do so antigens were extracted from sheep hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus* .These were:

1- The hydatid cyst fluid called antigen B.

2- Excretion-secretion called ES antigen.

3-B/ES antigen is a mixture (1:1) of the above two antigens. Three concentrations (15, 30 and 60 µg/ml) from antigen B/ES were prepared to immunize the white mice (males) with 20 µg/gr body weight and one booster dose (10 µg/gr) to stimulate immunity.

The efficiency of these antigen concentrations against secondary infections was investigated by the calculation of the reduction in percentage of cysts numbers

The results revealed that the reduction percentages of cyst in immunized group were 91.5% , 92.3% and 100% for concentration antigen 15, 30 and 60µg/g for Thr Immunized groups respectively.. There was a significant difference ($p \leq 0.05$) between and the positive control group infection.

After 45 days of infection, the sensitivity test showed that the highest cellular immune response occurred after three hours of the injection of the B/ES antigen in the left footpad of the animals. This response was measured through the increase in the thickness of the footpad. The reaction was clear in the positive control and in the infected immunized animals. When the test was repeated after 90 days of the infection, the results were similar to the above, but the reaction was more acute than in the first time especially in the positive control groups of mice.