دوفصلنامه‌ی هیستولوژی دامپزشکی
دوره هشتم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۹۹

بررسی آزمایشگاهی تشکیل کیست هیداتیک درخرگوش با روش تلقیح داخل صفاقی پروتواسکولکس اکینوکوکوس گرانولوزوس

دکتر سعید هاشمی[۱] دکتر لیلا درخشان[۲] کیمیا نجاتی[۳] ملینا دقیقیان[۴]

۱-گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران
۲-گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران
۳-دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران
۴-دانشجوی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران

چکیده

به منظور بررسی اثر پروتواسکولکس کیست هیداتیک در تولید کیست در خرگوش، از اردیبهشت ماه ۱۴۰۱ تا نیمه خرداد مجموعا ۲۵ نمونه کیست هیداتیک گوسفند شامل ۱۰ نمونه کیست ریه و ۱۵ نمونه کیست کبد از کشتارگاه دام دورود جمع آوری کرده و در شرایط استریل ۳ میلی لیتر مایع کیست را آسپیره کرده و پس از سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه، پروتواسکولکس ها را در لوله اپندورف ۲ میلی لیتری ریختیم. زنده بودن پروتواسکولکس ها، با رنگ ائوزین ۱٪ با میکروسکوپ نوری مشخص شد. ۲ گروه ۴تایی از خرگوش آنقوره ماده (گروه یک) و نر (گروه دوم) مورد آزمایش قرار گرفت. از هرگروه یک نمونه به عنوان شاهد هیچ دارو یا پروتواسکولکس تجویز نشد. به سه خرگوش از گروه یک مقدار یک میلی لیتر مایع کیست که حاوی حدود ۲۰۰۰ پروتواسکولکس زنده بود داخل صفاقی تزریق شد. به سه تا دیگر از گروه دو همین مقدار از کیست ریوی تجویز شد. خرگوشها پس از ۴۵ روز با اتر کشته و کالبدشکافی شد که در دو ماده در روی کبد و محوطه صفاقی کیست جدا گردید. اندازه کیست در یک خرگوش ماده شامل کیست کبد ۱۲میلی متر طول و عرض۷/۸ و در خرگوش دیگر کیست محوطه شکم به طول ۸/۵میلی متر و عرض۷/۲ دیده شد هرکیست را برش داده و ساختار حفره ای آن نشان دهنده کیست هیداتیک تک حفره ای بود ولی فاقد مایع و پروتواسکولکس بودند لذا به نظر می رسد پروتواسکولکس کیست هیداتیک کبدی گوسفند توان تولید کیست در حیوانات آزمایشگاهی را دارد.

واژگان کلیدی: مایع کیست هیداتیک، پروتواسکولکس، خرگوش آنقوره

مقدمه

کرمها یکی از مهمترین انگلها هستند که بر اساس خصوصیات ساختاری، بیولوژی و فیزیولوژی و درجه تکامل به دو شاخه کرمهای گرد شامل نماتودها و آکانتوسفالها، و کرمهای پهن شامل ترماتودها و سستودها، قرار می گیرند. سستودها از نظر تکاملی، پست ترین کرمها هستند و در چرخه زندگی خود نیازمند یک یا دو میزبان واسط هستند و عمدتا در لوله گوارش میزبان نهایی خود که یک حیوان مهره دار است زندگی می کنند. بسیاری از سستودها، بیماری مشترک بین انسان و دام ایجاد می کنند بطوریکه ممکن است انسان میزبان واسط یا نهایی یک سستود باشد. یکی از سستودهای مهم مشترک بین انسان و سگ سانان، اکینوکوکوس می باشد. این کرم پهن بطور معمول در روده کوچک سگ، روباه، گرگ و سایر سگ سانان به عنوان میزبان نهایی آن، زندگی می کند و مرحله نوزادی این انگل بنام کیست هیداتیک، می تواند در ارگانهای داخلی انسان و یا بسیاری از حیوانات دیگر، زندگی کند(۱). از آنجا که این سستود گونه های متنوعی دارد، شناخت آنها برای مبارزه با آن و پیشگیری از آلودگی انسان و دامهای اهلی به این انگل بسیار ضروری است. مطالعات نشان می دهد که آلودگی به کیست هیداتیک در جامعه انسانی در بسیاری از کشورهای آسیا و افریقا و همینطور آمریکای جنوبی، در سطح بالایی قرار دارد که ناشی از عدم آگاهی و شناخت ناکافی این انگل در چنین مناطق می باشد. هیداتیدوز یکی از مشکلات بهداشت عمومی در بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای درحال توسعه است که خسارات اقتصادی و بهداشتی فراوانی ایجاد میکند. این بیماری توسط لارو کیستی شکل سستود کوتاه قد روده کوچک سگ سانان به نام اکینوکوکوس ایجاد می شود. کیست هیداتید در انسان و دام بیماری شایعی است که گستره جهانی داشته و در کشور ما نیز به وفور یافت می شود(۲). از بیماریهایی است که در دامها فاقد علائم بالینی اختصاصی می باشد و معمولا تشخیص قطعی آن درکالبد گشائی و یا بازرسی پس از کشتار دام صورت می گیرد. علائم بالینی بیماری هیداتیدوز در حیوانات بستگی به تعداد، اندازه و محل تشیکل کیست ها دارد. فراوانی کیست هیداتید در میزبان های واسط به عوامل مختلفی بستگی دارد. میزان آلودگی محیط بر شدت بروز بیماری در بین دامها موثر است و همچنین درجه حرارت محیط نیز بر قدرت حیات تخم انگل و میزان شیوع آلودگی موثر می باشد به نحوی که در درجه حرارتهای پایین، تخمها تا چندین ماه زنده می مانند ولی در گرمای تابستان، بیش از سه هفته دوام نمی آورند. عدم ضبط قسمتهای آلوده در دامهای کشتاری و معدوم نکردن صحیح آنها باعث دسترسی گوشتخواران به ضایعات کشتارگاهی شده و باعث ادامه چرخه انگل و در نتیجه افزایش فراوانی آن می شود(۳).

گونه گرانولوزوس مهمترین گونه اکینوکوک است که در تمام دنیا گسترش پیدا کرده و لذا چندین سویه امروزه شناسایی شده است خصوصا در مناطقی مانند خاور میانه و آفریقا که بیماری در آنجا آندمیک است(۴).

از آنجا که این یک بیماری مشترک انسان و دام است لذا همواره این پرسش وجود دارد که آیا

پروتواسکولکس موجود در کیست توان تولید مجدد کیست را در میزبان دارد یا خیر. گرچه امکان چنین مطالعه ای در مورد انسان وجود ندارد، ولی در حیوانات آزمایشگاهی قابل بررسی است، لذا مطالعه حاضر این آزمایش را در مورد خرگوش به انجام رسانده است.

با توجه به شیوع زیاد کیست هیداتیک در اکثر مناطق ایران و فقدان واکسن برای پیشگیری در دام و انسان، و از آنجا که در مواردی در مورد انسان جراحی کیست ضروری می باشد و امکان پاره شدن کیست در جراحی وجود دارد لازم است امکان تولید مجدد کیست توسط پروتواسکولکس ها بررسی شود و از آنجا که تاکنون چنین مطالعه ای دارویی در مورداثر پروتواسکولکس کیست هیداتیک گوسفند بر روی خرگوش صورت نگرفته مطالعه حاضر به آن پرداخته و نتایج آن می تواند استراتژی ما را هنگام جراحی کیست در انسان تغییر دهد.

مواد و روش کار

جمع آوری نمونه:

به منظور بررسی اثر پروتواسکولکس کیست هیداتیک در تولید کیست در خرگوش از اردیبهشت ماه ۱۴۰۱ تا نیمه خرداد مجموعا ۲۵ نمونه کیست هیداتیک گوسفند شامل۱۰ نمونه کیست ریه و ۱۵ نمونه کیست کبد از کشتارگاه دام دورود جمع آوری شد. نمونه های کیست پس از جمع آوری به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد انتقال داده شد. همینطور از اول اردیبهشت ۴ خرگوش گونه آنقوره ماده و ۴ خرگوش نر تهیه و در آزمایشگاه نگهداری شد.

روش آزمایش:

الف)جدا کردن پروتواسکولکس از کیست

ابتدا توسط یک سرنگ ۱۰ میلی لیتری با سرسوزن شماره ۱۸، در شرایط استریل ۳ میلی لیتر مایع هر نمونه کیست را آسپیره کرده در یک لوله آزمایش استریل ۱۰ میلی لیتری ریخته و پس از سانتریفیوژ دور ۱۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه مایع رویی را توسط پیپت خارج و رسوب حاصل که پروتواسکولکس ها و مقداری مایع کیست هستند را در لوله اپندورف ۲ میلی لیتری می ریزیم. برای اطمینان از زنده بودن پروتواسکولکس ها، ۱۰میکرولیتر از مایع کیست را توسط سمپلر روی لام قرار داده و یک تا دو قطره رنگ ائوزین ۱٪ به آن می افزائیم و ۴ دقیقه بعد زنده بودن پروتواسکولکس ها زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی۱۰xبررسی میشد. حداقل ۱۰۰ پروتواسکولکس شمارش گردیده که انواع رنگ گرفته به عنوان غیر زنده و آنهایی که رنگ نگرفته بودند به عنوان پروتواسکولکس های زنده در نظر گرفته می شوند. برای به دست آوردن تعداد نسبی پروتواسکولکس ها، ابتدا ۲۰میکرولیتر از مایع کیست را روی لام قرار داده و زیر لوپ، تعداد پروتواسکولکس ها شمارش شد، سپس با توجه به حجم کل مایع کیست، تعداد نسبی پروتواسکولکس ها در هر کیست محاسبه گردید.

ب)تزریق پروتو اسکولکس به خرگوشها

ایجاد کیست هیداتیک در میزبان واسط به دو روش است:

۱) روش اولیه که خوراندن تخم اکینوکوکوس به میزبان واسط است.

۲) روش ثانویه که تزریق پروتواسکولکس به داخل حفره صفاقی، حفره قفسه صدری، زیر پوستی و داخل کانال نخاعی میزبانهای واسط خصوصا جوندگان است.

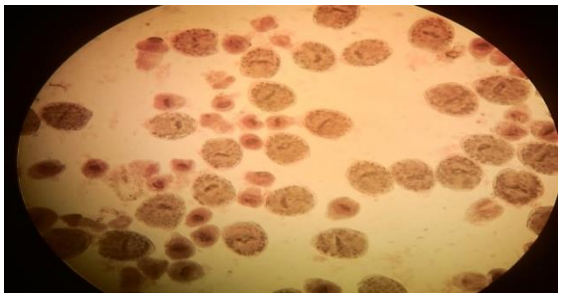
در این مطالعه ما روش ثانویه از نوع داخل صفاقی را برای خرگوش بکار برده ایم. خرگوشها را در دو گروه قرار داده گروه۱ شامل ۴ خرگوش آنقوره ماده و گروه۲ شامل۴ خرگوش آنقوره نر.

در روز اول دمای بدن خرگوشها با دماسنج اندازه گیری شد که بین ۳۷ تا ۳۷/۵ بود. با ترازوی دیجیتال توزین همه خرگوشها انجام که وزن گروه ۱ بین ۵۰۰ تا ۷۰۰ گرم و گروه ۲ بین ۵۰۰ تا ۶۵۰ گرم بود. از هر گروه یک نمونه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که هیچ دارو و پروتواسکولکسی به آنها تزریق نشد. دو گروه با کاهو، یونجه و گاهی هویج در طول مدت نگهداری و تغذیه می شدند. هر دو گروه در قفسهای جداگانه نگهداری می شد. در روز ۱۵ خرداد ۱۴۰۱ به هرگروه مقدار یک میلی لیتر مایع کیست که دارای حدود ۲۰۰۰ پروتواسکولکس بود از زیر شکم تزریق داخل صفاقی شد.

برای جلوگیری از عفونت باکتریال به هر گروه تست مقداری(به هر نمونه خرگوش تست نیم میلی لیتر) پنی سیلین مایع نوربروک به روش داخل عضله ران تجویز شد. در طول مدت نگهداری هفته ای دو بار خرگوشها از نظر دما و وزن بررسی می شدند.

پ)کالبد شکافی خرگوشهای تست

پس از ۴۵ روز از تزریق داخل صفاقی مایع کیست به نمونه های تست، نمونه هایی که زنده مانده بود در داخل یک محفظه شیشه ای بسته توسط اتر معدوم کرده و با اسکالپل و قیچی محوطه شکم و حفره صفاقی را باز کرده و پس از خارج کردن احشا داخلی هر دو فضای سینه ای و شکمی را و همینطور همه احشا شامل روده، کبد، کلیه ها، قلب و ریه ها را از نظر وجود کیست بررسی کردیم.



شکل۱- پروتواسکولکس های زنده کیست هیداتیک که رنگ نگرفته اند و نوع قرمز که مرده هستند (اصلی)

ارزیابی تعداد نمونه ها:

در مطالعه حاضر تعداد ۲۵ نمونه کیست هیداتیک از گوسفندانی که در کشتارگاه دورود، کشتار شده شامل ۱۰ کیست ریه و ۱۵ کیست کبدی در فاصله زمانی ازاول اردیبهشت ۱۴۰۱ تا نیمه خرداد جمع آوری شد.

جدول۱- تعداد نمونه خرگوش برحسب جنسیت

گونه دام	جنسیت	تعداد مورد آزمایش	تعداد کل
خرگوش آنقوره	ماده	۴	۴
خرگوش آنقوره	نر	۴	۴

در این مطالعه، در گروه اول ۴ خرگوش آنقوره ماده بود که یکی از آنها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در

گروه دوم ۴ خرگوش آنقوره نر بود که یکی از نرها به عنوان شاهد قرار داده شد.

توزین و اندازه گیری دمای بدن:

قبل ازکالبدشکافی دمای بدن خرگوشهای آنقوره با دماسنج دیجیتال از راه رکتوم گرفته شد که دمای طبیعی بدن۱ ±۳۷ درجه به دست آمد و اثری از تب وجود نداشت. همینطور با توزین هفتگی آنها، افزایش یا کاهش وزن قابل ملاحظه ای در هیچکدام دیده نشد.

نتایج

خوشبختانه همه خرگوشهای گروه یک و دو یعنی گونه آنقوره ماده و نر زنده ماندند. ۴۵ روز پس از تزریق داخل صفاقی مایع کیست هیداتیک به این خرگوشها در ۱۵ تیرماه هر ۶ نمونه تست به همراه ۲ خرگوش شاهد را مورد بررسی قرار دادیم. ابتدا هر نمونه را در یک ظرف شیشه ای درب دار تحت داروی اتر بیهوش و بتدریج دچار ایست قلبی شدند بعد در روی میز تشریح به وسیله اسکالپل و قیچی جراحی از خط وسط زیر گلو تا انتهای شکم پوست را برش و احشا قفسه صدری و شکمی را خارج کردیم.

جدول۲- نتایج رشد کیست هیداتید ثانویه در خرگوش با تزریق داخل صفاقی پروتواسکولکس اکینوکوکوس گرانولوزوس گوسفندی

گونه خرگوش	نوع کیست حاوی پروتواسکولکس	تعداد خرگوش آلوده شده (تست)	مدت زمان آلودگی (روز)	تعداد نمونه دارای کیست
آنقوره ماده	کبدی	۳	۴۵	۲
آنقوره نر	ریوی	۳	۴۵	۰

مطابق جدول۲ در گروه آنقوره در یک نمونه ماده یک کیست در روی کبد و در خرگوش ماده دیگر یک کیست نزدیک کلیه در محوطه صفاقی جدا شد ولی در خرگوشهای نر و خرگوشهای شاهد هیچ کیستی در محوطه صفاقی دیده نشد.

کیست جدا شده را برش داده و ساختار حفره ای آن نشان دهنده کیست هیداتیک گونه اکینوکوکوس گرانولوزوس بود ولی فاقد مایع و پروتواسکولکس بودند. اندازه کیست در یک خرگوش ماده شامل کیست کبد ۱۲میلی متر طول و عرض۷/۸ و در خرگوش دیگر کیست محوطه شکم به طول ۸/۵ میلی متر و عرض۷/۲ دیده شد.

بحث

کیست هیداتیک تک حفره ای، مرحله لاروی اکینوکوکوس گرانولوزوس است که طیف وسیعی از دامهای اهلی و وحشی و انسان را آلوده می کند(۵).

مطالعه حاضر به منظور بررسی امکان تشکیل ثانویه کیست هیداتیک چند حفره ای در خرگوش به عنوان میزبان واسط، انجام شد.

مطالعات متعددی در این زمینه در نقاط جهان ۵۵ ت.

در مطالعه ای مقایسه رنگ آمیزی ائوزین و تریپان بلو در تعیین زنده بودن پروتواسکولکس های کیست هیداتیک نیز از تحقیقات دیگر در این زمینه است. در این مطالعه از دو رنگ آمیزی ائوزین و تریپان بلو در تعیین زنده بودن پروتواسکولکس های کیست هیداتیک بارور

استفاده گردید که هدف از این بررسی مقایسه بین این دو رنگ آمیزی در تعیین زنده بودن پروتواسکولکس ها بود. در مجموع ۳۴۰کیست هیداتیک گاو و گوسفند با این دو رنگ آمیزی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این بررسی با آزمون آماری ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین تعیین زنده بودن در کیست هیداتیک کبد گوسفند ۳± ٪۹۴ و در کیست هیداتیک ریه۳± ٪۸۵ که بالاتر از نمونه گاوی ۳± ٪۷۹ بود(۶).

در مطالعه حاضر کیست های کبدی تعداد پروتواسکولکس بیشتری نسبت به نوع ریوی نشان داد ولی بررسی آماری نشده است.

در صورتی که پروتواسکولکس ها را در یخچال نگهداری کنیم، هنگامی که بخواهیم اثر مواد مختلف از جمله داروهای گیاهی را روی آنها بررسی نمائیم ناگزیریم آنها را از یخچال خارج کرده و به دمای ۳۷درجه ی سانتیگراد برسانیم و این اقدام ممکن است موجب ورود شوک حرارتی به پروتواسکولکس ها و مرگ تعدادی از آنها شود که خود میتواند در نتایج حاصل از آزمایش داروهای ضد پروتواسکولکس خدشه ایجاد کند؛ اما در صورتی که پروتواسکولکس ها را در دمای۳۷ درجه ی سانتی گراد نگه داری کرده باشیم، از بروز این اشکال جلوگیری به عمل خواهد آمد. درمطالعه حاضر پس از آسپیره کردن و جدا کردن پروتواسکولکس های هر کیست را در لوله اپندورف ۲ میلی لیتری در دمای انکوباتور ۳۷ درجه نگهداری می کردیم.

تاکنون چندین مطالعه برای نگهداری پروتواسکولکس های کیست هیداتید در محیط آزمایشگاه صورت گرفته است که در این زمینه می توان به مطالعات Benex(۱۹۸۶) و Casado و همکاران(۱۹۸۶) اشاره کرد(۷، ۸).

خرگوشها به تولید کیست از راه خوردن تخم کرم اکینوکوکوس مقاومند ولی اگر توده بزرگی از تخم بخورد منجر به تولید کیست در آنها می شود(۹).

اکثر محققان برای بررسی رشد کیست هیداتید در حیوانات آزمایشگاهی، از پروتواسکولکس که کم خطر می باشد، استفاده نمودند. برخی محققین، موش سفید را با پروتواسکولکس کیست هیداتید گوسفندی به طریق داخل صفاقی آلوده نمودند و اظهار داشتند که موش سفید حیوان واسط مناسبی برای ایجاد کیست هیداتید ثانویه است(۱۰).

در یک مطالعه در لرستان که هدف از انجام این مطالعه بررسی رشد کیست هیداتید ثانویه در حیوانات آزمایشگاهی، تعیین حساسیت آنها، تهیه مقاطع بافتی و چگونگی رشد و تشکیل مراحل کیست هیداتید ثانویه بود. به منظور بررسی رشد کیست هیداتید ثانویه و تعیین حساسیت موش سوری و هامستر سفید، تعداد ۳۶ سر موش سوری و ۲۷ سر هامستر سفید، با ترزیق داخل صفاقی لارو اکینوکوکوس گرانولوزوس گوسفندی مورد ارزیابی قرارگرفتند؛ سپس به مدت ۹ ماه، ماهیانه تعداد معینی از حیوانات کالبدگشایی شده و محوطه صفاق، کبد، ریه، کلیه و طحال از نظر آلودگی به کیست، مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی کیست هیداتید ثانویه در موش

سوری از ماه سوم تشکیل گردید و در ماههای بعد بخصوص ماه هشتم و نهم در کلیه موشها کیست هیداتید به تعداد زیاد رشد کرد؛ بطوری که در دو سر از موشهایی که در ماه نهم کالبدگشایی شدند، تعداد ۸ و ۱۴ کیست در محوطه صفاقی آنان مشاهده گردید. کلیه کیست ها غیر بارور و استریل بوده و با افرایش مدت آلودگی بر تعداد موش های مثبت و تعداد کیست ها افزوده گردید. بررسی مقاطع بافتی، دیواره کیست و واکنش سلولهای دفاعی را نشان داد. لذا موش سوری حیوان مناسبی برای رشد کیست هیداتید ثانویه می باشد و از ماه سوم آلودگی کیستها قابل مشاهده است(۱۱).

هدف از این مطالعه، استقرار خرگوش اهلی به عنوان میزبان میانی برای اکینوکوکوزیس کیستیک (CE) و ارزیابی قدرت لایه ژرمینال خام و آنتی ژن‌های پروتواسکولکس برای محافظت در برابر CE بود. اولا؛ دو گروه از خرگوش‌های سفید نیوزلند به طور جداگانه توسط ۵۰۰۰ انکوسفر فعال یا پروتواسکولکس زنده به صورت خوراکی آلوده شدند. پس از ۲۰ هفته، خرگوش های ذبح شده وجود کیست هیداتید را در اندام های داخلی مختلف نشان دادند. تشخیص مولکولی کیست های به دست آمده انجام شد. ثانیا؛ ۲۷خرگوش به ۹ گروه تقسیم شدند. گروه های ۱ و ۲ با آنتی ژن خام لایه ژرمینال و گروه های ۳ و ۴ با آنتی ژن خام پروتواسکولکس ایمن شدند. گروه ۵ و ۶ روغن معدنی کمکی دریافت کردند. گروه ۷ و ۸ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. گروه آخر به عنوان شاهد منفی نگهداری شدند. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که درصد حفاظت بالای ۸۳.۴ درصد و تیتر آنتی‌بادی بالایی در گروه‌هایی که آنتی‌ژن خام لایه ژرمینال را دریافت کرده‌اند در مقایسه با گروه‌هایی که با آنتی‌ژن خام پروتواسکولکس ایمن سازی شده‌اند، به‌عنوان درصد حفاظتی آن‌ها ۶۶.۷ درصد با پاسخ IgG کمتر ثبت شده است. در نتیجه، خرگوش های اهلی می توانند به عنوان یک مدل آزمایشگاهی برای CE استفاده شوند. توسعه آنتی ژن لایه ژرمینال نسبت به پروتواسکولس ها ایمنی زاتر است و می تواند به عنوان یک واکسن امیدوارکننده استفاده شود. باید به خرگوش موجود در محیط مجاور سگ های آلوده توجه شود زیرا می تواند بخشی از چرخه زندگی اکینوکوکوس باشد(۱۲).

با توجه به نتایج این مطالعه می توان گفت:

موش سوری حیوان مناسبی برای رشد کیست هیداتید ثانویه با استفاده از ترزیق داخل صفاتی لارو اکینوکوکوس گرانولوزوس گوسفند ایرانی می باشد.

رشد کیست هیداتید ثانویه در موش سوری از ماه سوم قابل مشاهده بوده و ساختمان کامل کیست هیداتید را دارا می باشند، کلیه کیست های هیداتید ثانویه ایجاد شده غیر باور و فاقد پروتواسکولکس بودند؛ , هامستر، حیوان مناسبی برای ایجاد کیست هیداتید ثانویه با ترزیق داخل صفاتی کیست هیداتید گوسفند ایرانی نمی باشد؛ برای ایجاد کیست هیدانید ثانویه در مدت زمان کوتاه، موش سوری حیوان مناسبی می باشد(سبزواری نژاد و دلیمی ۱۳۸۲). در مطالعه ما برخلاف موش سوری، خرگوش آنقوره

طی ۴۵ روز کیست تولید می کند که در مقایسه خیلی سریعتر از موش سوری تولید کیست ایجاد شده است.

در یک مطالعه کیست هیداتیک طی ۹۰ روز در موش تشکیل شد و در روز ۲۷۰ دارای کپسول زایا و پروتواسکولکس بودند و در هر موش ۱۰ کیست تشکیل شده بود(۱۳). در مطالعه ما طی ۴۵ روز در خرگوش کیست تشکیل شد بنابراین خرگوش انقوره میزبان حساستری است.

در یک بررسی استفاده از آنتی ژن های هیداتید مشتق شده از پروتواسکولکس های زنده کشت شده در دمای ۳۷ و ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت به عنوان یک واکسن برای محافظت در برابر عفونت هیداتید مورد مطالعه قرار گرفته است. موش‌های Balb/c با آنتی‌ژن‌های هیداتید خالص‌شده حاوی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میکروگرم پروتئین شوک حرارتی ۷۰ با یا بدون ادجوانت ایمن شدند. آنتی‌ژن‌های خام از پروتواسکولکس‌هایی که در معرض دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، ایمنی قابل توجهی ایجاد نکرد در حالی که در موش‌هایی که آنتی‌ژن‌های خام را از پروتواسکولکس‌ها در معرض دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد دریافت کردند، ایمنی قابل توجهی با محافظت مطلق مشاهده(۱۴).

در مطالعه ای در ایران یک آنتی ژن کیست هیداتید بنام P-29 که در باکتری اشرشیا کلون شده و به هامستر منتقل شد، برای تولید واکسن مورد ارزیابی در موش بالب-سی قرار گرفته است. این واکسن به موش‌ها ۳ بار با فاصله ۲ هفته به صورت عضلانی تزریق شدند. پس از گذشت ۳ هفته از آخرین تزریق، همه گروه ها به صورت داخل صفاقی با ۲۰۰۰ پروتواسکولکس تزریق شدند. پس از ۵ ماه، موش‌ها با تزریق کتامین/گزیلازین معدوم شدند و تعداد، اندازه و وزن کیست‌ها ثبت شد. نتایج ایمنی بالای ۹۳درصد را نشان داد(۱۵).

در مطالعه فوق اهمیت بررسی پروتواسکولکس کیست هیداتیک برای تولید واکسن ضد کیست نشان داده شده لذا مطالعات شبیه مطالعه حاضر اهمیت جوندگان برای این حوزه تحقیقی را نشان میدهد.

نتیجه گیری

خرگوش آنقوره جونده مناسبی برای تولید کیست هیداتیک به روش داخل صفاقی است زیرا توان بالایی در زنده ماندن دارد و کیست به سرعت در آن رشد می کند ولذا برای مطالعات ایمنی شناسی کیست هیداتیک برای انسان و استفاده از آنتی ژنهای آن در تشخیص کیست هیداتیک در انسان می تواند مفید باشد.

منابع

1. Osman F. A1. , Mohamad M. G2. And Gadee H. I. (2014). The prevalence and biochemical characters of hydatid cyst in sheep and goats slaughtered at El-Karhga, New-Valley Governorate, Egypt, Sky Journal of Agricultural Research Vol. 3(1), pp. 017 – 024
2. Azad, A. M. (2013). Biochemical Study of Germinal and Laminated Layers of Hydatid Cyst of *Echinococcus granulosus* and Surrounding Host Tissues Isolated from Different Intermediate Hosts, International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences (IJCEBS) Volume 1, 4 , 2320-4079
3. Wijdan M. S. Mero and Arshad Mohammad Abdullah. (2012). Comparative Estimation of Total Protein Content and Enzymatic Activities of Hydatid Cyst of *Ecchinococcus granulosus* Isolated from Sheep and Goats in Duhok Province, Kurdistan Region of Iraq, 2nd International Conference on Ecological, Environmental and Biological Sciences (EEBS'2012) Oct. 13-14, 2012 Bali (Indonesia)
4. D'Alessandro, A. , Rausch , R. L. (2008). New Aspects of Neotropical Polycystic (Echinococcus vogeli) and Unicystic (Echinococcus oligarthrus) Echinococcosis, Clinical Microbiology Reviews, Vol. 21, No. 2 , p. 380–401
5. Bowles. J. D. Blair. , McManus, D. P. (1992). Genetic Species Within the genus Echinococous identified by mitochondrial DNA sequencing. Mol, Biochem Parasitol. , 54,156-174
6. Frayha, G. J. , Haddad, R. (1980). Comparative chemical composition of protoscolies and hydatid cyst fluids of Echinococcus granulosus. Intl Journal parasitol,10,359-364
7. Griffiths , H. J. (1978). A Handbook of Veterinary Parasitology Domestic Animal of North America, University of Minnesota,pp:110-128
8. Yamashita,j. (1968). Development of Echinococcus in Laboratory animals. Bull World Health Organ,39(1):127-130
9. Casado,N. , Criado,A. , Jimenez,A. , De armas,C. , Brasa,C. (1992). Viability of Echinococcus granulosus cysts in mice following cultivation in vitro,International journal for parasitology, 22(3):335-339
10. Daryani A, Sharif Mm Amouei A, Nasrolahei M. Fertility and viability rates of hydatid cysts in slaughtered animals in the Mazandaran Province, Northern Iran. Trop Anim Health Prod 2009. 12
11. Hussain, A. ; Maqbool, A. ; Hussain, S. ; Athar, M. ;Shakoor, A. and Amin, M. K. (1992). Studies on prevalence and organ specificity of hydatidosis inruminants slaughtered at Karachi and Faisalabad abattoir, Pakistan. Indian-Journal of Dairy Science, 45 (9): 454-456
12. Irabuena ,O. , Nieto,A. , Ferreira,A. M. , Battistoni,J. , Ferragut,G. (2000). Characterization And Optimization Of Bovine Echinococcus Granulosus Cyst Fluid To Be Used In Immunodiagnosis Of Hydatid Disease By ELISA, Rev. Inst,Med. Trop. S. Paulo,42(5),255-262

13. Pumpek, S. , Roulu, E. N. K. , Dumanl,N. , Aktap, M. N. , Paku,C. E. , ALTAY, K. , ArmaÛan Erdem. T. K. (2005). Seroprevalence of Cattle Hydatidosis in Some Districts in the East Anatolian Region of Turkey, Turk J Vet Anim Sci,25, 1305-1310
14. Sbihi, Y. , Rmigui, A. , Rodriquez-Cabezas, M. N. , Orduna, A. , Rodrigues-Torres, A. , Osuna, A. (2001). Comparative sensitivity of six serological tests and diagnostic value of ELISA using purified antigen in hydatidosis. J. Clin. Lab. Anal. , 15: 14-18
15. Schwabe, CW and Schinazi LA, Araxie K. “Host Parasite reliationships in Echinococcosis II Age resistance to secondary Echinococcosis in the white mouse,” Am J Trop Med Hyg, 1959; Vol. 8,pp: 29-36

Survey of the Protoscoli Effect of Hydatid Cyst on Production of Cysts in Rabbit

Saeid Hashemi[1] Leila Derakhshan[2] Kimia Nejati[3] Melina Daghighian[4]

1-Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Boroujerd Azad University, Boroujerd, Iran

2-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shushtar Azad University, Shushtar, Iran

3-Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Shushtar Azad University, Shushtar, Iran

4-Student from the Faculty of Veterinary Medicine, Shushtar Azad University, Shushtar, Iran

Abstract

In order to investigate the effect of protoscolex hydatid cyst on the production of cysts in rabbits, from May 1401 to Tanime Khordad, a total of 25 sheep hydatid cyst samples, including 10 lung cyst samples and 15 liver cyst samples, were collected from Durood slaughterhouse and 3 ml of cyst fluid were collected under sterile conditions. aspirated and after centrifugation at 1500 rpm for 5 minutes, we poured the protoscolexes into a 2 ml Eppendorf tube. The viability of protoscolex was determined with 1% eosin dye with a light microscope. 2 groups of 4 female (group one) and male (group two) rabbits were tested. One sample from each group was not prescribed any drug or protoscolex as a control. Three rabbits from one group were injected intraperitoneally with one milliliter of cyst fluid containing about 2000 live protoscolex. The same amount of lung cyst was administered to three others from group two. After 45 days, the rabbits were killed with ether and autopsied, and cysts were isolated in two cases on the liver and peritoneal area. The size of the cyst in one female rabbit included a liver cyst of 12 mm in length and 7.8 mm in width, and in another rabbit, an abdominal cyst of 8.5 mm in length and 2.7 in width was seen. but they lacked liquid and protoscolex, so it seems that the protoscolex hydatid cyst of sheep has the ability to produce cysts in laboratory animals.

Keywords: Hydatid Cyst Fluid, Protoscolex, Ankoura Rabbit.