مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد
سال دوازدهم ، شماره دوم ، تابستان ۱۳۸۳، ص ۳۳

بررسی آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه آنتی‌ژن‌های کیست هیداتیک با استفاده از روش ایمونوبلات

دکتر فاطمه غفاری‌فر[۱] ، دکتر عبدالحسین دلیمی‌اصل[۲] ، دکتر احمد زواران‌حسینی[۳] ، فاطمه جالوسیان[۴]

چکیده

مقدمه : ایمونوبلات یکی از روشهای سرولوژی با حساسیت و ویژگی بالا است که برای تشخیص بیماری کیست هیداتیک بکار می‌رود. در این روش سرم بیماران هیداتیدی با زیر واحدهای دو آنتی ژن اصلی اکینوکوکوس گرانولوزوس یعنی آنتی‌ژن ب وآنتی‌ژن ۵ واکنش ایجاد می کند و پاسخهای ایجاد شده قابل تجزیه و تحلیل می‌باشند.

روش بررسی : در این بررسی تعداد ۱۰۰ سرم مورد آزمایش قرار گرفتند که ۴۰ مورد مربوط به بیماران هیداتیدی می‌باشد که بیماری آنها توسط عمل جراحی اثبات شده است ، ۲۰ مورد مربوط به افراد مبتلا به بیماریهای انگلی به غیر از کیست هیداتیک ، ۲۰ مورد مربوط به بیماران مبتلا به بیماریهای غیرانگلی و ۲۰ مورد مربوط به افراد سالم می‌باشد.

نتایج : حساسیت بدست آمده برای سه زیر واحد آنتی ژن ب (با وزنهای ملکولی ۱۲ ، ۱۶ و ۲۰ کیلو دالتون) به ترتیب ۹۲/۵ ، ۸۴/۵ و ۸۷/۵ درصد و ویژگی برای هر سه زیر واحد ۱۰۰٪ بدست آمد . حساسیت بدست آمده برای دو زیر واحد آنتی‌ژن ۵ (با وزنهای ملکولی ۵۵ و ۶۵ کیلو دالتون) ، ۱۰۰٪ و ویژگی به ترتیب ۱۰۰ و ۹۰ درصد می‌باشد .

نتیجه گیری : نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بهترین زیر واحد برای تشخیص کیست هیداتیک ، زیر واحد ۵۵ کیلو دالتونی آنتی‌ژن ۵ می باشد.

واژه‌های کلیدی : کیست هیداتیک ، ایمونوبلات ، سرولوژی

مقدمه

هیداتیدوزیس یک عفونت مشترک بین انسان و حیوانات است. عامل آن سستودی از خانواده تنیده به نام اکینوکوکوس گرانولوزوس است . میزبان نهایی این انگل سگ و سگ‌سانان و میزبانهای واسط آن دامهایی نظیر گوسفند ، گاو و بز هستند . انسان نیز به فرم نوزادی مبتلا می‌شود . اشکال لاروی انگل در میزبانان واسط به صورت کیستهای بزرگی در اندامهای داخلی مخصوصا کبد و ریه ظاهر می‌شوند[۱] . این بیماری علامت بالینی خاصی ندارد بنابراین جهت تشخیص بیماری، ارزیابی بالینی آن کافی نیست .برای تشخیص این بیماری بهتر است از چند روش تشخیصی استفاده کرد . این روشها شامل استفاده از رادیوگرافی ، اولتراسونوگرافی، توموگرافی، همراه با تکنیک‌های ایمنی‌شناسی می‌باشد. آنتی‌بادی‌های اختصاصی برعلیه آنتی‌ژن‌های این انگل تاچند سال پس از بهبود باقی می‌مانند به همین جهت بسیاری از تستهای سرولوژی برای یافتن آنتی‌بادیهای IgGو IgE در سرم بیماران در طی بیماری و حتی پس از عمل جراحی یا درمان دارویی مورد استفاده قرار می گیرند [۳،۲] . بیش از ۵۰ سال است که تستهای سرولوژی متنوعی برای یافتن

۱- استادیار گروه انگل شناسی
۲- استاد گروه انگل شناسی
۳- دانشیار گروه ایمنی شناسی
۴- دانشجوی PhD گروه انگل شناسی
دانشگاه تربیت مدرس - تهران

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

آنتی‌بادی‌های IgG , IgM , IgA , IgEکه در اثر بیماری کیست هیداتیک در بیماران تولید شده بکار می رود. از تستهایی که هم حساسیت و هم ویژگی بالایی دارند می‌توان از تست الایزا و ایمونوبلات نام برد[۴]. بطور کلی مفهوم عملی بلات اشاره به تکنیک‌هایی دارد که در آنها باندهای جدا شده پروتئین ، RNAو یاDNA از ژل به ورقه‌های نازکی مثل کاغذ نیترو سلولز منتقل می‌شود .گرچه استفاده از این تکنیک بعد از الکترو فورز باعث صرف وقت بیشتر و پیچیده‌تر کردن کل آزمایش می‌گردد ولیکن به علت فواید فراوانی که این روش دارد بکاربردن آن بسیار با ارزش است . روشهای مختلفی برای انتقال از ژل به کاغذ نیتروسلولز وجود دارد که متداولترین آنها استفاده از جریان الکتریسیته است که این روش انتقال را الکترو ترانسفر می‌نامند . در این روش جریان الکتریکی به صورت عمودی بر سطح باعث حرکت پروتئینها به خارج از ژل و انتقال آنها به کاغذ نیترو سلولز می‌شود. پروتئینها به وسیله نیروی غیرکووالانت محکم به کاغذ نیترو سلولز متصل می شوند و نوع واکنش غیرقابل بازگشت می‌باشد . در این روش می توان از پلی کلونال و مونوکلونال آنتی‌بادی استفاده نمود . ایمونوبلات روش بسیار مفید و تأییدشده‌ای برای مشخص نمودن آنتی‌ژنهای اختصاصی است. در این روش آنتی‌ژنها تا حدود یک نانوگرم قابل تشخیص می‌باشند. با استفاده از این روش تشخیص واکنش متقاطع بین یک آنتی‌ژن و آنتی‌ژنهای مشابه دیگر امکان‌پذیر می گردد[۵،۶] . هدف از این مطالعه ، ارزیابی آنتی‌بادی‌های اختصاصی تولید شده بر علیه آنتی‌ژن‌های مختلف کیست هیداتیک در بدن انسان با استفاده از روش ایمونوبلاتینگ است.

روش بررسی

تهیه آنتی‌ژن : پس از جداسازی مایع کیست هیداتیک ، محلول آنتی‌ژنهای نسبتاً خالص را که حاوی آنتی‌ژنهای ۵ و ب می‌باشد تهیه گردید [۷] .

تهیه نمونه سرم : برای تهیه سرم مثبت از ۴۰ بیمار مبتلا به کیست هیداتیک که بیماری آنها به وسیله عمل جراحی تایید شده است ، همچنین از ۲۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد سالم ، ۲۰ فرد مبتلا به سایر آلودگیهای انگلی به عنوان گروه شاهد دارای آلودگیهای انگلی غیر از کیست هیداتیک (۳ مورد تنیا ساژیناتا ، ۴ مورد هایمنولپیس نانا ، ۳ مورد فاسیولا هپاتیکا ، ۳ مورد آسکاریس ، ۳مورد استرونژیلوئیدس استرکورالیس و ۴ مورد ژیاردیا) و ۲۰ فرد مبتلا به بیماریهای غیرانگلی به عنوان گروه شاهد بیمار بدون آلودگی انگلی (سرطان کبد ، سرطان ریه ، سرطان ناحیه شکم ، کولیت روده ، سرطان خون و عفونتهای باکتریال) نمونه سرم تهیه شد . علت انتخاب این گروهها بررسی واکنشهای متقاطع با آنتی‌ژنهای سایر انگلها و همچنین بررسی واکنشهای متقاطع با سایر بیمارانی است که از لحاظ علایم بالینی ممکن است مشابه با علایم کیست هیداتیک می‌باشند است این سرمها تا زمان بررسی در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند .

آزمایش ایمونوبلات : ابتدا آنتی‌ژن نسبتا خالص با روش SDS-PAGE الکتروفورز شد ، پس از پایان الکتروفورز ژل را به دقت از میان دو شیشه الکتروفورز خارج کرده و ۳۰ دقیقه در بافر انتقال قرار داده شد . قطعه‌ای از کاغذ نیترو سلولز که به اندازه ژل می‌باشد را می‌بریم ، برای آماده سازی کاغذ نیترو سلولز ابتدا آن را در آب مقطر خیسانده و سپس به مدت ۱ ساعت در بافر انتقال قرار داده و تعداد ۶ عدد کاغذ صافی را به ابعاد بزرگتر از کاغذ نیتروسلولز بریده و در بافر انتقال خیساندیم .سپس یک سطح شیشه‌ای را با متانول تمیزکرده سپس به ترتیب ۳ کاغذ صافی ، کاغذ نیترو سلولز ، ژل و ۳ کاغذ صافی را طوری برروی هم می‌چینیم که هیچ حباب هوایی بین آنها تشکیل نگردد. سپس این لایه ها را بین دو اسفنج قرار داده و این مجموعه را به داخل تانک وسترن بلات که محتوی بافر انتقال است قرار داده و جریان برق ۸۰-۱۰۰ ولت به مدت ۲ ساعت برقرار گردید . پس از اتمام مدت انتقال کاغذ نیترو سلولز را در آورده سپس قسمت مربوط به پروتئینهای استاندارد را بریده و در رنگ پونسو S رنگ گردید . پس از اطمینان از انتقال پروتئینها کاغذ نیترو سلولز در محلول بلوکه‌کننده قرار داده شد . سپس کاغذ را به صورت نوارهایی به قطر ۳ میلیمتر بریده و هر نوار را با سرم بیمار یا شاهد با رقت ۱:۸۰۰ مجاور گردید . سپس کاغذهای نیترو سلولز در مجاورت آنتی‌هیومن IgGکنژوگه با HRP(تهیه شده از شرکت سیگما) با

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

رقت ۱:۶۰۰۰ قرار داده شد و پس از اتمام زمان انکوباسیون کاغذها در مجاورت سوبسترای DAB ۱ قرار داده شد. پس از ظاهر شدن باندهی قهوه‌ای ، نوارها را به داخل ظرف آب مقطر منتقل کرده سپس بین دو کاغذ صافی خشک گردید[۷].

نتایج

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد که شدت و ضعف رنگهای بدست آمده برای هر باند در بیماران مختلف متفاوت می باشد . قویترین باندها در ناحیه ۶۵ و ۵۵ کیلودالتون یعنی ناحیه مربوط به آنتی‌ژن ۵ مشاهده گردید که برای همه بیماران هیداتیدی مثبت بود (تصویر ۱) . سپس مهمترین واکنش در ناحیه زیر ۲۴ کیلو دالتون مشاهده گردید ، این ناحیه مربوط به آنتی ژن ب بوده و دارای سه باند ۱۲ ، ۱۶ و ۲۰ کیلودالتون است که برای ۵۰٪ افراد هر سه باند مثبت بود و ۱۰۰٪ افراد دارای حداقل یک باند مثبت بودند(تصویر ۱). برای سایر باندها نتایج بدست آمده بدین ترتیب می‌باشد ، باند ۱۱۶ کیلودالتون ۳۰٪ ، ۵۲ کیلودالتون ۴۵٪ و ۶۰ کیلودالتون ۵۰٪ مثبت بوده است . سایر اطلاعات در جدول (۱) آمده است . با استفاده از این روش ، افراد سالم و افراد مبتلا به بیماریهای غیرانگلی واکنشی را با آنتی‌ژنهای کیست هیداتیک نشان ندادند . اما در مورد افراد مبتلا به بیماریهای انگلی در دو مورد از ۲۰ مورد (یک مورد تنیازیس و یک مورد فاسیولیازیس) در ناحیه ۶۵ کیلودالتون نتایج مثبت مشاهده گردید (تصویر ۱) .

نتایج بدست آمده برای آزمایش ایمونو بلات در افراد مبتلا به کیست هیداتیک بر حسب موقعیت کیست در جدول (۲) آمده است .بیشترین موارد مثبت برای افراد مبتلا به کیست هیداتیک کبدی و کمترین موارد مثبت برای افراد مبتلا به کیست هیداتیک ریوی بدست آمد .

۱- پروتئین‌های استاندارد
۲-۷- بیماران هیداتیدی
۸- بیمار مبتلا به سرطان کبد
۹- بیمار مبتلا به ژیاردیا
۱۰- بیمار مبتلا به فاسیولاهپاتیکا
۱۱- بیمار مبتلا به آسکاریس لومبریکوئیدس
۱۲- بیمار مبتلا به تنیاساژیناتا
۱۳- بیمار مبتلا به استرونژیلوئیدس استرکوراسیس
۱۴- بیمار مبتلا به کرم قلابدار
۱۵- بیمار مبتلا به هایمنولپیس نانا
۱۶- فرد سالم

شکل ۱ : نوارهای نیتروسلولز بدست آمده در روش ایمونوبلات برای بیماران هیداتیدی و بیماران غیرهیداتیدی و افراد سالم

جدول ۱: حساسیت و ویژگی بدست آمده و سترن بلات در گروههای مورد مطالعه برحسب باندهای بدست آمده

باندهای مثبت مشاهده شده / گروههای مورد مطالعه	باند ۱۴ کیلودالتونی		باند ۱۶ کیلودالتونی		باند ۲۰ کیلودالتونی		باند ۵۵ کیلودالتونی		باند ۶۵ کیلودالتونی	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
افراد مبتلا به کیست هیداتید (۴۰نفر)	۳۷	۹۴/۵	۳۳	۸۴/۵	۳۵	۸۷/۵	۴۰	۱۰۰	۴۰	۱۰۰
افراد مبتلا به سایر آلودگیها	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
انگلی (۲۰ نفر)	–	–	–	–	–	–	–	–	۴	۱۰
بیماریهای مبتلا به آلودگیهای غیرانگلی (۴۰نفر)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
افراد سالم (۴۰نفر)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
حساسیت	۹۴/۵		۸۴/۵		۸۷/۵		۱۰۰		۱۰۰	
ویژگی	۱۰۰		۱۰۰		۱۰۰		۱۰۰		۹۰	

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

جدول ۲ : نتایج مثبت بدست آمده از آزمایش و سترن بلات بر حسب باندهای مختلف و موقعیت کیست

باندهای مثبت مشاهده شده / موقعیت کیست	باند ۱۴ کیلودالتونی		باند ۱۶ کیلودالتونی		باند ۲۰ کیلودالتونی		باند ۵۵ کیلودالتونی		باند ۶۵ کیلودالتونی	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
کیست کبدی (۲۰نفر)	۱۹	۹۵	۱۸	۹۰	۱۹	۹۵	۴۰	۱۰۰	۴۰	۱۰۰
کیست ریوی (۱۲نفر)	۱۰	۸۳	۸	۶۶	۹	۷۵	۱۴	۱۰۰	۱۴	۱۰۰
کیست درچند اندام (۸نفر)	۸	۱۰۰	۷	۸۷/۵	۷	۸۷/۵	۸	۱۰۰	۸	۱۰۰

بحث

حساسیت و ویژگی بالای روش ایمونوبلات در میان تستهای سرولوژی آن را به عنوان تست برتر و متمایز از سایر روشها معرفی نموده و مخصوصا در مناطقی که سایر بیماریهای کرمی مانن‌سیستی سرکوزیس اندمیک هستند به عنوان تست انتخابی برگزیده شده است. علت دیگر اهمیت این روش ، الگوهای پاسخ آنتی‌بادی به تمام زیر واحدهای آنتی‌ژنیک قابل بررسی است .

در نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر حساسیت بدست آمده برای قطعه ۱۲ کیلو دالتونی ۹۲/۵٪ بود ، در مطالعه کانوار و همکاران (۱۹۹۲) حساسیت بدست آمده برای این قطعه ۱۰۰٪ [۸]، و در مطالعه لگات و همکاران (۱۹۹۲) برای این قطعه حساسیت ۹۰٪ [۹] و در مطالعه یوپولو و همکاران (۱۹۹۶) حساسیت ۸۰٪ بدست آمده بود [۱۰].در سایر مطالعات حساسیت بدست آمده برای این زیر واحد آنتی‌ژنی بدین ترتیب می باشد و راستگوی و همکاران (۱۹۹۲) ۶۵٪ [۱۱] ، خاربو وهمکاران (۱۹۹۷) ۵۸٪ [۱۲] ، پروفیومو وهمکاران (۱۹۹۴) ۷۲٪ [۱۳] و سیراکوزانو وهمکاران (۱۹۹۱) ۵۵٪ [۱۴] بدست آمده بود . در مطالعه حاضر و سایر مطالعات انجام شده برای آنتی‌ژن ب ، بیشترین حساسیت بدست آمده برای قطعه ۱۲ کیلو دالتونی بود بنابراین نقش ایمنی غالب را به این قطعه نسبت می‌دهند. در مطالعه حاضر حساسیت بدست آمده برای قطعه ۱۶ کیلو دالتونی ۸۲/۵ ٪ می باشد در مطالعه کانوار و همکاران حساسیت ۱۰۰٪ ، و راستگوی و همکاران ۵۹٪ ، خاربو وهمکاران (۱۹۹۷) ۵۰ ٪ ، یوپولو وهمکاران نیز ۵۰٪ گزارش شده است .

حساسیت بدست آمده برای قطعه ۲۰ کیلودالتونی در مطالعه حاضر ۸۷/۵٪ ، کانوار و همکاران (۱۹۹۲) ۱۰۰٪ ، و راستگوی و همکاران (۱۹۹۲)۵۵٪ ، خاربو و همکاران (۱۹۹۷) ۵۰٪ ، سیراکوزانو وهمکاران (۱۹۹۱) ۶۳٪ بدست آمده بود.

زیر واحدهای مربوط به آنتی ژن ۵ حساسیت بالایی را در روش ایمونوبلات نشان داده اند . در مطالعه ما قطعات ۵۵ و ۶۵ کیلو دالتونی در تمامی موارد بیماری مثبت بودند یعنی حساسیت آنها ۱۰۰٪ می باشد . در مطالعه پروفیومو وهمکاران (۱۹۹۴) مجموع حساسیت بدست آمده برای این دو واحد ۹۴٪ و در مطالعه خاربو وهمکاران (۱۹۹۷) ۷۸٪ بدست آمده بود.

در مطالعه کانوار و همکاران (۱۹۹۲) قطعه ۱۱۶ کیلو دالتونی به عنوان مهمترین زیر واحد تشخیصی گزارش شده بود ، در حالی که در مطالعه ما فقط ۳۰٪ موارد مثبت را توانسته بود تشخیص دهد .در مطالعه پروفیومو و همکاران (۱۹۹۴) نیز این قطعه اهمیت زیادی را نشان نداده بود .

در مطالعه ایشیما و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از روش ایمونو بلات حساسیت این روش برای هیداتیدوز انسانی ۱۰۰٪ بدست آمده بود .

در مطالعه عبدالحافظ و همکاران (۲۰۰۴) در روش تشخیص هیداتیدوز انسانی با استفاده از روش ایمونو بلات ،

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

حساسیت بدست آمده برای زیر واحدهای آنتی ژن ب یعنی قطعات ۱۲ ، ۱۶ و ۲۴ کیلو دالتونی به ترتیب ۶۹٪ ، ۳۵/۷٪ و ۴۰/۵٪ بدست آمد ، که بیشترین حساسیت برای قطعه ۱۲ کیلو دالتونی و کمترین در صد برای قطعه ۱۶ کیلو دالتونی بدست آمده بود . در مطالعه ما نیز بیشترین حساسیت برای قطعه ۱۲ کیلو دالتونی و کمترین در صد برای قطعه ۱۶ کیلو دالتونی بدست آمده بود .

نتیجه‌گیری

روش ایمونوبلات روش بسیار حساسی برای تشخیص بیماری کیست هیداتیک می باشد . نتایج بدست آمده از این روش قابل تفسیر می‌باشد ، بدین ترتیب که اگر چنانچه از آنتی‌ژنهای نسبتاً خالص استفاده شود وجود حداقل چهار باند مثبت نشانه مثبت‌بودن این تست می باشد در حالی که در مواردی که واکنش متقاطع با سرم افراد آلوده به فاسیولا و تنیا ساژیناتا نشان داده شد ، واکنش مثبت در یک باند و آن هم در ناحیه ۶۵ کیلو دالتون مشاهده شد.

علت تفاوتهای بدست آمده در مطالعات مختلف احتمالاً به علت تفاوت در استرینهای اکینوکوکوس گرانولوزوس، خصوصیات بالینی بیماران ،موقعیت کیست و حتی تأثیر بعضی از فاکتورها مانند وضعیت بیماران (دارای کیست هیداتیک اولیه یا دارای کیست هیداتیک عود کرده) می باشد .

منابع

۱- غفاری فر فاطمه ، دلیمی اصل عبدالحسین ، زواران حسینی احمد .« **تهیه ساده آنتی‌ژنهای گروه ب اکینوکوکوس گرانولوزوس از مایع کیست هیداتیک گوسفندی**» . مجله علوم پزشکی مدرس ، دوره ۲ شماره ۲ ، ص ۱۱۵-۱۱۹ ، ۱۳۷۹

2- Rigano R, Prefumo E, Siracusano A, ***New perspective in immunology of Echinococcus granulosus infection.*** Parasitologia.1997,39:275-7.

3- Finkelman FD, Pearce EJ, Urban JF, Sher A. ***Regulation and biological function of helminth – induced cytokine responses .*** Immunology Today, 1991, 12: A 62-A 66.

4- King CL , Nutman TB. ***Regulation of immune response in lymphatic filariasis and onchocerciasis .*** Immuno. Parasitol. Today , 1991, 12: 54-8.

5- Rogan MT. ***Immunological analysis of parasite molecules.*** In : Analytical Parasitology, 1996 : 320-361. Rogan M. T. Ed springer. UK.

6- Craig PS, Rogan MT & Allan JC. ***Hydatidosis and cysticercosis larval cestodes***: 209-236, In Medical Parasitology: A practical approach. Ed, Gillspy S. H. and Hawkey P. M., IRL-PRESS, Oxford, 1995.

7- Dunbar BS. ***Protein Blotting : A practical approach.*** Ed Oxford University press. 1994.

8- Kanwar JR, Vineyak VK. ***The significance of free and immun-complexed hydatid specific antigens as immunodiagnostic tool for human hydatidosis.*** J. Med. Microbiol, 1992 , 37 :396-403.

9- Legatt GR, Yang W, McManus DP. ***Serological evaluation of the 12 Kda subunit of antigen B in Echinicoccus granulosus cyst fluid by immunoblot analysis .*** Trans. Of Roy. Soc. For Trop. Med and Hyg. 1992 , 86: 189-92.

10- Iappolo S, Notargiacomo S, Profumpo E, Siracusano A . ***Immunological responses to antigen***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

B Echinococcus granulosus cyst fluid hydatid patients. Parasite Immunol. 1996, 18: 571-8.

11- Verastegui M, Morop: Guerala A . ***Rodrigues T. Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot test for diagnosis human hydatid disease.*** J Clin. Microbiol. 1992 , 30(6): 1557-61.

12- Khaebov A, Nahmias J. ***Cellular and humoral immune responces of hydatidosis patients to Echinococcus granulosus purified antigens.*** Am. J. Trop. Med- Hyg. 1997 , 57 (5) :619-625.

13- Profumo E, Ortona E, Rigano R . ***Detection of antibodies against Echinococcus granulosus major antigens and their subunits by immunoblotting . Trans. of Roy .*** 1991 , Soc. for Trop. Med and Hyg. 85: 239-43.

14- Siracosano A, Ioppolo S, Nootargiacomo S, Ortona E, Rigano R, Teggi A, Derosa F, Vicari G. ***Detection of antibodies against Echinococcus granulosus major antigens and their subunits by immunoblotting. Trans of Roy.*** Soc. For Trop. Med and Hyg. 1991, 85:239-43.

15- Ishiha MMI, Rubinsky EG, Ferreira AW, ````Hoshino S, Vaz AJ. ***Helminth antigens (T. solium, T. crassiceps, Toxocara canis, S. mansoni and Echinococcus granulosus) and cross-reactivities in human infections and immunized animals.*** Acta Tropica 89 (1): 73-84 . 2003.

16- Nasrieh MA, Abdel-Hafez SK. ***Echinococcus granulosus in Jordan. Diagnos.*** Microbiol. Infect. Disease. 2004 , 48: 117-123.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]