● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال ششم، شمارهٔ ٤ (پی‌درپی ٢٤)، صفحه ٤٣ الی ٤٨، پاییز ١٣٨٣
دریافت: ٨١/١١/١٥ پذیرش: ٨٢/٨/٢٩

تأثیر اجزاء کیست هیداتید در جلوگیری از عفونت هیمنولپیس نانا در رت

محمدرضا یوسفی [1*]، دکتر مهدی شریف [2]، دکتر جمشید ایزدی [3]، دکتر ابوالقاسم عجمی [4]، دکتر علیرضا خلیلیان [5]

١- کارشناس ارشد انگل شناسی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل ٢- دانشیار گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ٣- استادیار گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۴- استادیار گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۴- استادیار گروه پزشکی اجتماعی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

سابقه و هدف: انگل ها یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده بیماریهای عفونی در انسان وحیوانات اهلی می باشند و از لحاظ بهداشتی، پزشکی و اقتصادی دارای اهمیت هستند . با توجه به وجود اثرات محافظتی و مصونیتی متقابل (Cross reaction) بین گونه های انگلی، می توان از آنتی ژنهای بدست آمده از یک انگل در جلوگیری از ابتلا به انگل دیگر استفاده نمود و ادجوانت این اثر را تشدید و تداوم بخشید. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر اجزاء کیست هیداتید در جلوگیری از عفونت هیمنولپیس نانا در رت بود.

مواد و روشها: تعداد ٤٠ رت که از نظر سن وجنس یکسان بودند پس از اطمینان ازعدم وجود عفونت انگلی انتخاب شدند و به ٢ گروه اصلی و هر کدام به ٤ زیرگروه تقسیم شدند، در هر یک از زیرگروهها به ترتیب از آنتی ژنهای مایع، پروتوا سکولکس و دیواره ودر زیر گروههای گروه دیگر هم از این مواد آنتی ژنیک بهمراه ادجوانت استفاه شد. برای هر دو گروه نیز گروه شاهد در نظر گرفته شد. مصون سازی بصورت تزریقات متوالی انجام شد رت های مورد مطالعه یک هفته پس از تجویز ترکیبات آنتی ژنیک با تخم H.nana از طریق دهان آلوده شدند. پس از مشاهده تخم H.nana در مدفوع رتهای گروه شاهد کلیه رتها بیهوش و خونگیری از آنها انجام شد. آزمایشات مختلف بیوشیمایی بر روی سرم رتها و آزمایشات انگل شناسی و ایمونولوژی برروی نمونه های مدفوع آنها صورت گرفت.

یافته‌ها: اندازه گیری پروتئین های متفاوت سرم به ویژه گاماگلبولین نشان دهنده این بود که دیواره کیست هیداتید از جنبه قدرت آنتی ژنیک قویترین پاسخ را نسبت به ٢ جزء دیگر دارا است و مایع کیست هیداتید ضعیف ترین پاسخ را نسبت به ٢ جزء دیگر از خود نشان می داد.

نتیجه‌گیری: بررسی مدفوع رتهای گروه شاهد ودفع تخم در آنها نشان دهنده آلودگی در این گروه می باشد.رتهای مصونیت یافته با اجزاء متفاوت کیست هیداتید هیچگونه دفع تخمی را نشان ندادند نتایج بیوشیمایی و آماری کاملاً اثرات تشدید پاسخ ها را در بکارگیری ادجوانت بهمراه اجزاء متفاوت کیست هیداتید ثابت نمود و نتایج آن گویای ایجاد اثرات ایمن سازی با قدرت بالاتر و بادوام بیشتر پس از تجویز ماده ادجوانت است

واژه‌های کلیدی: *هیمنولپیس نانا، کیست هیداتید، پروتواسکولکس، ادجوانت.*

مقدمه

انگل ها از مهمترین عوامل ایجاد کننده بیماریهای عفونی در انسان و حیوانات اهلی می باشند. تاثیر انگلها در مرگ و میر، ایجاد بیماریهای مزمن و ضررهای اقتصادی به حدی زیاد است که به آسانی قابل اندازه گیری نمی باشد بدون شک بیماریهای انگلی نقش مهمی در محدودیت رشد و توسعه اجتماعی ـ اقتصادی اکثر کشورهای واقع در یک پنجم مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر جهان

▣ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۵۶۲ از اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تأمین شده است.

دارند(١). امروزه علی رغم پیشرفت های صورت گرفته درعلم پزشکی، بیماریهای انگلی از وفور بالایی برخورداند مالاریا ٥٤/٣٪ از جمعیت جهان را تهدید می کند و سالانه یک میلیون نفر را به هلاکت می رساند بیش از یک پنجم جمعیت جهان به کرم آسکاریس و ٧٠٠ میلیون نفر به تریکوسفال آلوده هستند. یک میلیارد نفر در معرض آلودگی به تک یاخته های روده ای، ٦٠٠ میلیون نفر در معرض ابتلا به شیستوزوما و ٩٠٥ میلیون نفر در معرض آلودگی با فیلرهای لنفاوی می باشند(١).

کرمهای انگلی انسان و دام عوامل بیماریزایی هستند که بندرت بطور مستقیم باعث مرگ ومیر افراد می شوند ولی به شکل غیر مستقیم در ایجاد ناراحتی و علائم بیماری نقش مهمی داشته و در بعضی موارد سندروم های توموری هم ایجاد می کنند. بعضی از این تاثیرات مخاطره آمیز کرمهای انگلی عبارتند از : به علت مصرف مقداری از مواد غذایی میزبان و یا خونریزی از محل زخمهای مخاطی که در روده ایجاد می کنند و همچنین خونخواری کرم و یا ترشح سم در بدن میزبان باعث ناتوانی عمومی و یا کم خونی شده لذا استعداد ابتلا به بیماریهای دیگر را هم افزایش می دهند. تجمع آنها در بافتها و اندام های بدن علائم و نشانه های متنوعی را ایجاد می کند که علاوه بر ناراحتی های ارگانی در سلامتی عمومی هم آثار نامطلوب برجای می گذارند و موجب اختلال تشخیص و درمان می شوند(٢).

پیشگیری در مورد عفونتهای انگلی کمتر مورد توجه قرار گرفته است .پیشگیری به چند صورت انجام می پذیرد مانند پیشگیری از طریق استفاده از داروها (کموپروفیلاکسی) پیشگیری از طریق واکسیناسیون یا از طریق محافظت شخصی و رعایت اصول و موازین بهداشتی(٣). کموپروفیلاکسی، استفاده از یک ترکیب شیمیایی بعنوان دارو به منظور پیشگیری است. بطور مثال کلروکین در جلوگیری از مالاریا را می توان نام برد. کموپروفیلاکسی هرگز بطور کامل قابل اعتماد نیست حتی افرادی که تحت تجویز مواد کموپروفیلاکتیک می باشند وبه مناطق اندمیک مسافرت کرده اند در زمان تب بایستی احتمال ابتلا به مالاریا را در تشخیص افتراقی مورد توجه قرار دهند(٤).

رعایت اصـول و موازین بهداشتی در پیشگیری اهمیت زیادی دارد. بطور مثال در مالاریا می توان استفاده از پشه بند در زمان استراحت، استفاده از مواد دافع ودور کننده حشرات، بکار بردن تورهای سیمی بر روی پنجره ها را نام برد(٤).

روش سوم در پیشگیری از عفونتهای انگلی استفاده از واکسیناسیون است، استفاده از این روش از راههای معتبر و پرطرفدار ولی با مشکلات متعدد می باشد، بنا به دلایلی پیشرفتهایی که در زمینه واکسیناسیون در مقابل بیماریهای انگلی صورت گرفته است از سیر آهسته ای برخوردار بوده است که بخشی از آن در نتیجه عدم شناخت کافی از مشخصات ایمونولوژیک انگلها وبخش دیگر به علت ناتوانی در تولید مثل آزمایشگاهی گونه های خاص انگلی است. انگل ها برخلاف ویروسها و باکتریها از یک سلول ساخته نشده اند وبدن آنها از سلولهای بیشتری تشکیل شده است بنابر همین اصل سیستم ایمنی در برخورد با آنها نمی تواند مانند باکتری و ویروس آنها را تحت سیطره خود در آورد. انگل ها از باکتری و ویروس بزرگترند و سیستم ایمنی بدن نیاز به زمان و امکانات بیشتری برای تحت کنترل در آوردن آن دارد. بعضی از انگل ها دارای مکانسیم های بسیار متفاوتی در فرار از سیستم ایمنی هستند. مثل لیشمانیا که وارد محل های امن ایمونولوژیکی مانند ماکروفاژها می شوند و در آنجا به تکثیر می پردازند و یا تریپانوزوماها که دارای تغییرات آنتی ژنیکی بسیار متفاوتی هستند(٤).

یکی از ویژگیهای مورد توجه آنتی ژنها واکنش متقاطع (Cross reaction) مابین آنها می باشد این نوع واکنش ها می تواند در تمامی سطوح رخ دهد(٥). واکنش های متقاطع تا اندازه زیادی با تکرار غیر معمول و بیش از حد ردیف های تکراری آمینونواسیدهای سازنده در آنتی ژنها ارتباط دارد وبر روی نوع و میزان اثر پاسخ های ایمنی بسیار تاثیر گذارند(٦). بطور کلی باید بیان کرد که علت واکنش های متقاطع ایمونولوژیکی به علت تشابه بین آنتی ژنها از نظر ساختاری و ساختمانی آنها می باشد(٧).

در سال ١٩٨٦ Gottstein (٨) و همکاران و در سال ١٩٨٧ ShePherd (٩) و همکاران و در سال ١٩٨٩ Kong (١٠) و همکاران در سال ١٩٩٦ Cheng (١١) و همکاران و موارد بسیار زیادی از این نوع مطالعات ، واکنش های متقاطع ایمونولوژیکی را بین انگلها از طریق روشهایی مانند SDS-Page و Westernblot،

Immuno PrciPitation، Immunobloting، ELISA و غیره مورد بررسی قرار داده و اثبات نمودند که واکنش های متقاطع بین انگلهای بخصوص بین یک انگل سستود با یک انگل سستود دیگر و یا بین یک سستود با یک نماتد یا ترماتد به میزان کمتر وجود دارد(۱۲). هدف از این مطالعه ایجاد یک نوع ایمنی نسبی در مدلهای آزمایشگاهی (رت ها) بر علیه یک عفونت انگلی سستودی و با استفاده از آن جلوگیری کردن از ورود یک نوع عفونت دیگر سستودی با توجه به وجود واکنشهای متقاطع بین آنها می باشد.

مواد و روشها

این مطالعه یک مطالعه مداخله گر (تجربی) می باشد. کیست های هیداتید از کبد و ریه گوسفندی از کشتارگاه تهیه گردید. کیستهای هیداتید گاوی و گوساله به دلیل Acephalo cyst بودن مورد استفاده قرار نگرفتند .بعد از شستشو و ضد عفونی سطح آن، توسط سرنگ استریل آنرا تخلیه کرده و سانتریفوژ (۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰دور) می گردد. پس از سانتریفوژ (ساخت شرکت Hettich مدل D-7200) پروتواسکولکس و مایع کیست هیداتیک کاملاً از هم جدا می شود و دیواره درونی کیست را با شکاف دادن سطح خارجی کیست بدست می آید. پس از جداسازی ۳ جزء کیست هیداتید یعنی (مایع، پروتواسکولکس و دیواره) آنها در ۳ لوله مجزا جداسازی می گردند. آنگاه آنها را با دستگاه لیوفیلیزه و Freeze drying (ساخت شرکت ZIRBUS مدل ۳۷۵۳۹-۱) بصورت پودر در آورده و در حرارت یخچال نگهداری می شوند.

چهل رت (Rat) که همگی ازجنس نر ۳-۲ ماهه از نژاد Wistar بودند از انستیتوپاستور تهران تهیه گردید. آنها به ۲ گروه اصلی (Aو B) و هر گروه اصلی به ۴ زیر گروه تقسیم گردیدند(A1، A2، A3، شاهد) و (B1، B2، B3 و شاهد) به گروه اول آنتی ژن ساده و به گروه دوم آنتی ژن + ادجوانت کامل فروند تزریق گردید. برای هر دو گروه هم یک گروه شاهد در نظر گرفته شد.

فرآورده های پودری آنتی ژنیک با آب مقطر ۲ بار تقطیر جداگانه رقیق گردید (۱/۱۰) و بعد از محلول شدن آنرا سانتریفوژ کرده و محلول رویی را به عنوان آنتی ژن در نظر گرفته و در آب مقطر ۲ بار تقطیر رقیق گردید (۱/۲۰). این محلول به عنوان آنتی ژن در تزریق به موشها استفاده شد. محلول آنتی ژن در گروه اول به موشها تزریق شد و در گروه دوم این محلول آنتی ژنیک به همراه هم حجم آن ادجوانت کامل فروند به صورت سه دوز $۰/۲^{C.C}$، $۰/۳^{C.C}$ و $۰/۵^{C.C}$ بصورت افزایشی و با فاصله ۱ هفته به موشها در ناحیه عضله پا تزریق گردید. یک هفته پس از آخرین مرحله ایمونیزاسیون، سوسپانسیونی که حاوی تخم H.nana بود به موشها از طریق دهان خورانده شد. پانزده روز بعد از خوراندن تخم H.nana همه گروهها ازجمله گروه شاهد از نظر دفع تخم درمدفوع به دو روش مستقیم و شناور سازی بررسی شدند.

ده روز پس از مشاهده اولین تخم H.nana در مدفوع رتهای گروه شاهد، همه موشها بیهوش شده و از قلب آنها نمونه خون تهیه گردید و آزمایشات بیوشیمیایی بر روی نمونه سرمی انجام گردید لازم به ذکر است که رتهای مورد مطالعه قبل از مراحل ایمن سازی مورد آزمایشات انگل شناسی قرار گرفتند تا عدم آلودگی آنها تائید گردد در ضمن از همه رتها نمونه سرمی نیز قبل از ایمن سازی تهیه گردید. آزمایشات بیوشیمیایی که بر روی نمونه های سرم انجام گردید: اندازه گیری پروتئین به روش بیوره و الکتروفورز پروتئین ها.

یافته ها

۱۵ روز بعد از خوراندن تخم به گروههای مورد مطالعه (گروه شاهد، گروه آنتی ژن ساده و گروه آنتی ژن + ادجوانت) هر یک روز درمیان نمونه های مدفوع با دو روش مشاهده مستقیم و شناور سازی مورد بررسی قرار گرفت و این کار تا روز ۴۰ بعد از خوراندن تخم ادامه یافت. درگروه شاهد از روز ۲۷ بعد از خوراندن تخم، تعداد ۲ عدد تخم H.nana در مدفوع مشاهده شد و در روزهای بعد این تعداد تخم روند افزایشی را نشان داد بطوریکه در روز ۲۹ بعد از عفونت تعداد ۳ عدد تخم انگل و در روز ۳۷ بعد از عفونت تعداد ۱۰ عدد تخم H.nana در مدفوع مشاهده گشت ولی در گروههای آنتی ژن ساده و آنتی ژن + ادجوانت تا پایان مطالعه هیچگونه دفع تخمی مشاهده نشد. این موضوع با کالبد گشایی روده رتها در پایان آزمایش هم به اثبات رسید که در گروه شاهد تعدادی کرم بالغ H.nana مشاهده گردید ولی در گروههای آنتی ژن ساده و آنتی ژن + ادجوانت هیچ کرم بالغی مشاهده نگردید.

جدول ١. میانگین نتایج بدست آمده از روش های بیوشیمیایی برروی سرم رتها در گروههای مختلف ٧ گانه

گروه	غلظت پروتئین تام به روش بیوره (گرم در دسی لیتر)	درصد پروتئین سرم به روش الکتروفورز			
		آلبومین	α	β	γ
شاهد	٦/٢٥	٤٦/٧	١٨/٧	٧/٩	٢٥/١±٠/٢١
آنتی ژن مایع	٦/٥٨	٤٤/٦	١٨/٦	٦/٦	٢٧/٤±٠/٢٥
آنتی ژن پروتواسکولکس	٦/٥٨	٤٤/٧	١٧/٩	٦/٦	٢٨/٤±٠/٣٧
آنتی ژن دیواره	٦/٥٩	٤٣/١	١٧/٦	٦/٦	٢٧/١±٠/٣٩
آنتی ژن مایع + ادجوانت	٦/٠٥	٤٦/٧	١٩/٦	٦/٦	٢٦/٧±٠/٥٣
آنتی ژن پروتواسکولکس+ ادجوانت	٧/٠١	٣٨	٢٠/١	٤/٨	٣٢/٦±٠/٥٦
آنتی ژن دیواره + ادجوانت	٧/١٩	٤٩/٥	١٧/٢	١١/٤	٣١/٧±٠/٦٣

پس از بررسی جدول ١ تجزیه و تحلیل داده ها توسط تستهای ANOVA و کروسکال والیس و Duncan teat بر روی هر کدام از داده ها به طور مجزا بطور کلی تفاوت معنی داری بین گروههای شاهد، آنتی ژن ساده و آنتی ژن + ادجوانت مشاهده گردید. بطور مثال در قسمت اندازه گیری پروتئین تام به روش الکتروفورز بررسی های آماری با روش Anova و Duncan test بر روی متغییر های آلبومین، α، β ، γ صورت گرفت. در فراکسیون های مختلف اندازه گیری شده تنها سطح γ دارای تفاوت معنی داری در مقایسه با دیگر متغیرهای بررسی شده را نشان می دهد ($P<0/02$) و سایر متغیرها مانند آلبومین، α و β از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان ندادند.

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که اجزاء کیست هیداتید (مایع، پروتواسکولکس ودیواره) بعنوان اجزاء آنتی ژنیک ناخالص در مقابل عفونت هیمنولپیس نانا ایمنی ایجاد کرده و مانع دفع تخم Honana شدند. در یک مطالعه ای که در دانشگاه اصفهان توسط آقای دکتر حجازی و همکاران بر روی موشهای C57BL/C6 بطور مشابه انجام شد از آنتی ژن های مایع کیست هیداتیک استفاده شد و تا حدود زیادی توانستند ایمنی مؤثری را در برابر کیست هیداتیک در موشها ایجاد کنند.

با توجه به عدم دسترسی به ادجوانت های تازه طراحی شده ساپونین وCPG وهمینطور گرانقیمت بودن آنها، در این تحقیق از ادجوانت کامل فروند استفاده گردید نتایج حاصل از این تحقیق که از ترکیب آنتی ژن به اضافه ادجوانت در ایمن سازی استفاه گردید نشانگر افزایش قدرت آنتی ژنیک می باشد. تمامی نتایج حاصله از استفاده کردن از ادجوانت بیانگر این است که سطح غلظت پلاسمایی آلبومین و گاماگلبولین بطور کاملاً آشکاری افزایش یافته است. درمیان ٣ گروهی که از آنتی ژن + ادجوانت در مصون سازی استفاده گردید، گروه آنتی ژن دیواره + ادجوانت بطور کاملاً آشکاری این تفاوت را نشان می دهد(جدول ١). این یافته با تحقیق مشابه که توسط دکتر ایزدی در سال ١٣٥٥ به تنهایی برای دیواره بدست آمده است مطابقت دارد(١٣).

با توجه به جدول ١ در رتهایی که آنتی زن + ادجوانت را در یافت کرده اند نسبت به سایر گروهها بیشترین افزایش در پروتیین سرمی آنها مشاهده می گردد(٧/١٩ گرم در صد)و این در حالی است که در تحقیق دکتر ایزدی نیز این یافته بدست آمده است ولی در بررسی رسول زاده بیشترین افزایش پروتئین تام سرم را به گروه مایع کیست نسبت داده است(١٤). همچنین در قسمت اندازه گیری پروتئین های تام به روش الکتروفورز میانگین میزان گاماگلبولین در گروه شاهد ٢٥/١ گرم بر دسی لیتر و میانگین گاماگلبولین گروه آنتی زن بدون ادجوانت ٢٧/٧ گرم بر دسی لیتر و میانگین میزان آن در

گروه آنتی زن + ادجوانت ۳۰/۳۳ گرم بر دسی لیتر بود که این یافته ها با نتایج کار دکتر ایزدی کاملا همخوانی داشته است ولی در تحقیق رسول زاده از ۳ جزء مورد بررسی افزایش گاماگلبولین را در گروه دریافت کننده آنتی ژن پروتو اسکولکس نسبت به سایر گروهها بیشتر میداند. مصون سازی رتها به این منظور در ۳ مرحله وبا دوزهای افزایشی صورت گرفت که بتوان ایمنی زایی را با فاصله زمانی شکل داد. در حقیقت بتوان در بدن حیوان ایجاد خاطره نمود و دیگر اینکه در دفعات دوم و سوم تزریق پاسخ ایمنی قویتری را نسبت به تزریق اول ایجاد کرد.

نتایج و داده های بدست آمده نشان می دهد که از اجزاء کیست هیداتید، مایع آن در مواردی که بصورت تنها و یا همراه با ادجوانت بکار برده شود قدرت آنتی ژنیک ضعیف تری نسبت به ۲ جزء دیگر کیست هیداتید نشان می دهد و دیواره کیست هیداتید نیز در مواردی که به تنهایی و یا با ادجوانت بکار برده می شود قویترین پاسخ ایمنی زایی را ایجاد می کند. این نتایج با یافته های ایزدی (۱۳۵۵) (۱۳) کاملاً مطابقت دارد ولی برخلاف آن رسول زاده(۱۴) پروتواسکولکس را قویترین جزء آنتی ژنیک در اجزاء کیست هیداتید معرفی کرده است. تمامی آزمایشهای انجام شده با روشهای متعدد و متفاوت برروی سرم رتها کاملاً با بررسی های تخم انگل و بررسی روده ای در رتها همخوانی دارند. استفاده از ادجوانت بهمراه اجزاء کیست هیداتید منجر به افزایش سطح غلظت پروتئین تام سرم و همچنین گاماگلبولین سرمی شده که یک یافته با اهمیت از نظر بیوشیمی به حساب می آید. کالبد شکافی روده رتهای مورد آزمایش و بررسی آنها دال بر عدم وجود انگل بالغ و گواهی بر عدم شکل گیری انگل در روده رتها می باشد. بنابراین تزریق محلولهای آنتی ژنیک اجزاء کیست هیداتید مانع از بالغ شدن کرم هیمنولپیس نانا شده است و توانسته است اثر محافظتی ومصونیتی کاملی را در برابر این کرم ایجاد نماید. پیشنهاد می شود از اجزاء کیست هیداتید بصورت خالص Purified Antigen در ایمونیزاسیون استفاده گردد تا بهتر مشخص شود که کدام جزء قدرت بیشتری را در افزایش ایمنی بدن دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقایان دکتر مهدی آسمار، دکتر اسفندیاری و دکتر حکیمی که در انجام این تحقیق بطور مؤثر ما را یاری داده اند تقدیر تشکر به عمل می آید.

****

منابع

۱. دوامی م ح. ایمنی در برابر انگل ها، انتشارات علوم پزشکی اراک ، چاپ اول ۱۳۷۹؛ ص:۳٦-۱۱.

۲. اورمزدی هـ انگل شناسی پزشکی ، تک یاخته شناسی ، انتشارات ماجد، چاپ دوم ۱۳۷٤؛ ص: ٥-۸۰۲.

۳. غروی م ج. کتاب جامع تک یاخته شناسی پزشکی، انتشارات تیمورزاده چاپ اول ۱۳۷۸؛ ص: ۱۰-۲.

٤. ارفع ف. کرم شناسی پزشکی، انتشارات دانش پژوه، ۱۳۷۳؛ ص: ۲۰-٥.

5. Heath DD, Lawrence SB, Yong WK. Cross reaction between the cycts of echinococcus granulosus, Taenia hydatigena and T Ovis in lambs. Res Vet Sci 1979; 27(2): 210-2.

6. Schantz PM, Shanks D, Wilson M. Serologic cross reaction with sera from patients with echinocccosis and cystcercosis. Am J Tiop Med Hyg 1980; 29(4): 609-12.

7. Ben Ismail R, Carme B, Niel G, Gentilini M. Non specific serological reactions with echinococcus granulosus antigents: role of anto-P_1 antibodies. Am J Trop Med Hyg 1980; 29 (2): 239-45.

8. Gottstein B, Tsang VC, Schantz PM. Demonstration of species – specific and cross reaction component of teania solium metacestode antigens. Am J Trop Med Titg 1986; 35(2):13.

9. Shepherd JC, MC Manus DP. Specific and cross reactive antigens of enhinococcus granulosus hydatid cyst fluid. Mol Biochem Parasitol 1987; 25(2): 143-54.

10. Kong Y, Kang SY, Cho SY, Min DY. Cross reacting and specific antigenic components in cystic fluid from metacestodes of echinococcus granulosus and taenia solium. Kisaengchunghak Chapchi 1989; 27(2): 131-9.

11. Cheng RW, Ko RC. Cross reaction between crude antigens of larval taenia solium cysticercus cellulose and other helminthes of pigs. Vet Parasitol 1991; 39(1-2); 170-91.

12. Moro PL, Gilman PH, Wilson M, et al. Immunblot (western blot) and double diffusion (DDS) tests for hydatid disease cross react with sera from patients with cysticercosis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1992; 89(4): 422-3.

۱۳. ایزدی ج. پایان نامه برای دریافت دکترای داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۱۳۵۵.

۱۴. رسول زاده م. پایان نامه برای دریافت دکترای داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران۱۳۸۰، شماره پایان نامه ۶۰.

* آدرس نویسنده مسئول: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، گروه انگل و قارچ، تلفن: ٤-۲۲۲۹۵۹۱-۰۱۱۱.