تقييم مستضدات السائل العداري للكشف عن أضداد الكيسات العدارية الغنمية باستخدام الاليزا غير المباشرة

Evaluation of Hydatid Fluid Antigens for Detection of Antibodies of *Echinococcuosis* in Sheep Sera Using Indirect ELISA

Received 19 May 2010 / Accepted 14 July 2011

عبد المنعم الياسين [1] ، سعاد العقلة [2]، محمود قويدر [2] ، و محمد محسن قطرنجي [3]

(1)؛ المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة، أكساد - دمشق - سورية.

(2)؛ كلية العلوم - جامعة دمشق - دمشق.

(3)؛ كلية الطب البيطري - جامعة البعث- حماة - سورية.

المُلخَّص

يُعدُّ داء الكيسات العدارية مرضاً مشتركاً خطيراً واسع الانتشار، يسبب خسائر اقتصادية كبيرة في الأغنام.

جُمعت 40 عينة مصل ايجابية من أغنام مصابة بداء الكيسات العدارية و 24 عينة مصل سلبية من أغنام غير مصابة بالكيسات العدارية، و11 عينة مصل من أغنام مصابة بداء الكيسات المذنبة دقيقة الرقبة. تم الكشف عن أضداد الكيسات العدارية بطريقة الاليزا غير المباشرة باستخدام مستضدات السائل العداري الكبدي المنقى جزئياً. هدفت الدراسة إلى تقييم حساسية ونوعية اختبار الاليزا غير المباشرة باستخدام مستضدات السائل العداري الكبدي، إضافة إلى إدخال تحسينات على طريقة تشخيصية مصلية جيدة وجديدة تُستخدم في المسوحات المصلية الوبائية عند الأغنام.

أوضحت النتائج أن حساسية ونوعية اختبار الاليزا لمستضدات السائل العداري الكبدي بلغت نحو 87.5 %، و 66.7 % على التوالي، كما تفاعلت تصالبياً مع مستضدات الكيسة المذنبة دقيقة الرقبة بنسبة 36.36 %.

يُستنتج من هذه الدراسة إمكانية استخدام مستضدات السائل العداري للكشف عن أضداد الكيسات العدارية بتقنية الاليزا غير المباشرة في الأغنام العواس، إلا أن نوعية الاختبار مازالت منخفضة، لذلك من الضروري البحث عن البروتينات ذات الفاعلية المستضدية العالية، التي تبدي تفاعلات تصالبية منخفضة.

الكلمات المفتاحية: مستضدات الكيسات العدارية، تشخيص مناعي، اليزا غير مباشرة، أغنام.

Abstract

Hydatidosis is a dangerous zoonosis with worldwide distribution and causes heavy losses in sheep. Forty positive serum samples were collected from sheep infected with hydatidosis, and 24 serum samples from uninfected sheep, and additional 11 samples from sheep with Cysticercosis tenuicollis were collected.

©2012 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved.

Antibodies against Hydatid cysts were detected with indirect ELISA method using partially separated antigens of hepatic Hydatid fluid. The study aimed to evaluate the sensitivity and specificity of the indirect ELISA method using hepatic hydatid fluid antigens in order to improve the sero-diagnostic method for use in sero-epidemiological survey of the disease in sheep.

The results showed that the sensitivity and the specificity of the indirect ELISA using hepatic hydatid fluid antigen were found to be 87.5%, 66.7%, respectively. Cross-reactions with Cysticercosis tenuicollis were found to be 36.36%. It is concluded that there is a possibility to use hydatid fluid antigens to detect hydatid cyst antibodies using indirect ELISA in Awassi sheep, but the specificity of the test is still low. Therefore, it is necessary to search for high antigenicity proteins with low cross reaction.

Keywords: *Hydatid* cyst antigens, Immunodiagnosis, Indirect ELISA, Sheep.

المقدمة

يُعدُّ داء الكيسات العدارية مرض طفيلي خطير يصيب الإنسان والحيوان و يسببه الطور اليرقي للدودة الشريطية المشوكة الحبيبية (*Echinococcus granulosus*)، التي تنتمي لعائلة الشريطيات والتي تتطفل في الأمعاء الدقيقة للعائلة الكلبية وهو واسع الانتشار في العالم لاسيما في بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط ، ويصيب طيفاً واسعاً من آكلات الأعشاب وخاصةً الأغنام في مناطق تربيتها المكثفة، ويُعدُّ داء الكيسات العدارية اليوم من الأمراض المهملة في العالم (Soulsby، 1987؛ Cabera وزملاؤه ، 2001؛ Eckert وزملاؤه، 2002؛ WHO، 2006).

بناءاً على الواسمات الجينية (Genetic markers) صُنفت المشوكة الحبيبية إلى تسع ذراري (Meslin و Pawlowski، 2002).

بلغت نسبة انتشار الكيسات العدارية نحو 49.20 % في الأغنام العواس السورية التي زاد عمرها عن سنة (Guerouali و Al- Yasin ، قيد النشر). تتوضع الكيسات بنسبة 54.2 % في الكبد، و 12.8 % في الرئتين، في حين بلغت الإصابة المزدوجة (الكبد والرئتين معاً) نحو 33 % (بارودي، 1990).

لذلك كان من المهم البحث عن طريقة موثوقة لتشخيص الإصابة عند الحيوانات الحية، علماً أنه اُستخدمت عدة طرق في تشخيص الإصابة عند الإنسان منها التصوير بالأمواج فوق الصوتية، والتصوير الشعاعي، والمرنان، والتصوير الطبقي المحوري (Lightowlers وزملاؤه، 1984 ؛ Von Sinner، 1991؛ Lightowlers وزملاؤه، 2000). إن عدم توافر هذه الطرق في كثير من الأحيان، يستدعي البحث عن طرق مناعية سهلة التطبيق لتأكيد الإصابة وتعقب المعالجة الكيمائية بعد الاستئصال الجراحي. لقد اُستعملت العديد من الطرق المناعية مثل اختبار تثبيت المتممة (Complement Fixation Test) الذي يُعدُّ أول الاختبارات المناعية المستخدمة في الكشف عن أضداد داء الكيسات العدارية، طُورت بعدها العديد من الاختبارات المصلية لهذا الهدف مثل اختبار التراص الدموي غير المباشر (IHA)، واختبار الانتشار المناعي المضاعف، واختبار التألق المناعي غير المباشر (IFT)، والرحلان الكهربائي المناعي (IE)، والمقايسة المناعية الإشعاعية (RIA)، والرحلان الكهربائي المناعي التقابلي Counter Current Immuno Electrophoresis، والاليزا، ELISA (Moosa وزملاؤه، 1994 ؛ Zarzosa وزملاؤه، 1999؛ Ortona و زملاؤه، 2000).

تُستخدم اليوم أشعة X والتصوير الطبقي المحوري، والتصوير بالأمواج فوق الصوتية لتشخيص الإصابة عند الإنسان، ثم يتم تأكيد الإصابة بالاختبارات المصلية مثل الاليزا والتبصيم المناعي، immunoblotting (Ekert وDeplzes، 2004).

إن حساسية ونوعية الكثير من هذه الاختبارات المصلية كانت منخفضة وأبدت تفاعلات ايجابية كاذبة، في حين حصل Siavashi وزملاؤه (2004) على نسبة حساسية ونوعية عاليتين باستعمال اختبار الاليزا الشطائرية (Sandwich Elisa) بلغت نحو 93.22 %، 98.75 % على التوالي، وذلك باستخدام مستضدات الكيسات العدارية الكبدية والرئوية الغنمية، كما وجد رمضان (1992) أن الاليزا الشطائرية تُقلل من التفاعلات التصالبية مقارنةً بالاليزا البسيطة غير المباشرة وذلك عندما يتراوح تركيز المستضد بين 125 و500 نانوغرام. أما في اختبار الاليزا النقطية أو التبصيم النقطي (Dot- Elisa) باستعمال المستضد B، فقد بلغت الحساسية والنوعية 100 %، و98.75 % على التوالي. واُستعملت بروتينات الرؤيسات الأولية والغشاء الجليدي (Cuticule

layer) كمصدر آخر للمستضدات العدارية للكشف عن أضدادها باختبار التبصيم النقطي وبحساسية 96.66 %، 86.66 % و 93.33 % في الغشاء الجليدي، والرؤيسات والسائل العداري على التوالي، وبنوعية بلغت 70 % لكل المستضدات (Swarna و parija، 2008). أما Hadighi وزملاؤه (2003) فقد حصلوا على حساسية ونوعية عالية باستعمال المستضد B الغنمي بتركيز 1 ميكرو غرام في كل نقطة في اختبار التبصيم النقطي للكشف عن أضداد الكيسات العدارية عند الإنسان، حيث بلغت الحساسية 97.1 % والنوعية 98.5 % بينما كانت قيمة التنبؤ الإيجابي (Positive Predictive Value, PPV)97.1 % و التنبؤ السلبي (Negative Predictive Value, NPV) ، 98.5 %. لقد قيّم Haniloo وزملاؤه (2005) المستضد B وحصلوا على حساسية بلغت 89 % في الاليزا، و 80 % في التبصيم المناعي لكلا العصابتين 16 و 12 و 8 كيلو دالتون، في حين كانت النوعية 98 % في الاليزا و100 % في التبصيم المناعي لكلا العصابتين. أما في حالة المستضد الخام للسائل العداري فكانت الحساسية والنوعية 94 % ، و83 % على التوالي. بينما كشف الياسين (2006) عن أضداد الكيسات العدارية في الأغنام باختبار الانتشار المناعي المضاعف وبحساسية 88.88 %، ونوعية 93.88 % لكنها أبدت تفاعلات تصالبية مع الكيسة المذنبة دقيقة الرقبة بنسبة 14.28 %.

يتطلب التشخيص المخبري الدقيق للخمج بالكيسات العدارية الحصول على مستضدات ذات حساسية ونوعية عاليتين، عُزلت تلك المستضدات من السائل العداري أو من مستخلص الغشاء الجليدي، والمخرجات والمفرزات من الرؤيسات أو الدودة الكاملة. يُعدُّ السائل العداري المصدر الرئيسي للتشخيص المناعي لداء الكيسات العدارية عند الإنسان والحيوان بالاعتماد على المستضدين AgB ، Ag5. في حين اُستعمل المستخلص الجسمي للدودة المشوكة الحبيبية في التشخيص المناعي عند الكلاب والثوي الوسيط من المجترات، ومن ناحية أخرى اُستعملت المستضدات البرازية (Coproantigens) الناتجة من مفرزات الدودة ومخرجاتها، في الكشف عن الدودة في الثوي النهائي (Carmena و زملاؤه، 2006).

انطلاقاً من ذلك، هدفت الدراسة إلى تقييم مستضدات السائل العداري الكبدي في الكشف عن أضداد الكيسات العدارية عند الأغنام العواس السورية لاستخدامها في المسوحات الوبائية وتشخيص الإصابة.

مواد البحث وطرائقه

العينات:

جُمعت عينات الدم المرجعية (الشاهد الايجابي والشاهد السلبي) من الأغنام العواس المذبوحة في المسالخ المحلية في حماة وريف دمشق ودمشق، والتي بلغت 75 عينة دم، منها 40 عينة دم من حيوانات مصابة بالكيسات العداريّة عيانياً و11 عينة من حيوانات مصابة بالكيسة المذنبة دقيقة الرقبة، و24 عينة دم من حيوانات غير مصابة (سليمة ظاهرياً)، وتراوحت اعمار الحيوانات المفحوصة بين 6 أشهر و 10 سنوات. رُقّمت الحيوانات قبل الذبح بتثبيت لوحة بلاستيكيّة مرقّمة برباط مطاطي على الأطراف الخلفيّة للذبيحة، على أنها الأجزاء الأخيرة، التي سيتم قطعها وإزالتها بعد استخراج محتويات الحيوان البطنيّة والصدريّة. جُمعت عينات الدم مباشرة من الأوعية الدمويّة النازفة (مكان الذبح)، في أنابيب معقّمة سعة 15 مل ، ثم أُغلقت بإحكام، وسُجّل عليها رقم الحيوان وعمره بشكل تقديري. ثم نُبذت للحصول على الأمصال التي وُزعت بأحجام متساوية، وحُفظت في أنابيب بلاستكية مقاومة للتجميد ، وقُسّمت إلى 3 مجموعات وحُفظت في الدرجة - 20 ° م إلى حين الاستعمال.

معاينة الذبائح:

فُحصت كلّ ذبيحة على حدة فحصاً شاملاً بالعين المجردة، لاسيّما أحشاءها البطنيّة والصدريّة، وعن طريق اللمس والجس، علاوة على ذلك أُجريت مقاطع في بعض الحالات بالسكين في الأحشاء الداخليّة لتمييز الكيسات العداريّة الصغيرة من العقد والأورام، واستؤصل بعضها، ووُضعت في أكياس بلاستيكيّة، وسُجل رقم الحيوان الذي أُعطي له قبل الذبح، كما تم تحرّي الإصابات الطفيليّة الأخرى، لاسيّما الديدان الكبديّة (المتورقات، Fasciolosis)، ومتفرعة المعي المغصّنة، (*Dicrocoelium dendriticum*)، والديدان الرئويّة، والكيسة المذنبة دقيقة الرقبة (*Cysticercus tenuicollis*) التي تشكل الطور اليرقي للدودة الشريطية (*T. Hydatigena*) ، حيث تتوضع في النسج تحت المصليّة للثرب، والمساريقا، والكبد. وُضعت الأحشاء المصابة كلّ على حدة في أكياس بلاستيكيّة، دُوِّن عليها أرقام الحيوانات، و نُقلت إلى مختبر الطفيليّات في كلية الطب البيطري.

جمع الكيسات العدارية:

جُمعت 10 كيسات عدارية من الكبد في الإصابات المزدوجة. مع مراعاة أخذ الكيسات الكبيرة والخصبة والسليمة غير المتشققة أو المتجبنة أو المتكلسة. ثم اُستخلصت المستضدات من السائل العداري وفق الطريقة الموصوفة من قبل الياسين وزملاؤه (2006) ، حيث نُبذ السائل ثم أُخذ الطافي ورُسبت البروتينات الذائبة بإضافة سلفات المغنيزيوم بنسبة 40 % من السائل الطافي، ونُبذ المحلول لمدة ساعة في درجة + 4 ° م بسرعة 10000 دورة /دقيقة ثم أُخذت الرسابة بعدها تمت عملية الديلزة (Dialysis)، وفُصلت في عمود السيفادكس (G-100) وأُخذت بروتينات القمة الأولى واُستعملت كمستضدات في اختبار الاليزا.

اختبار الاليزا غير المباشرة:

أُنجز اختبار الاليزا باستعمال أطباق خاصة ذات 96حفرة ، من إنتاج شركة Flow laboratory (Cat. No. 76 - 381 - 04) ، وفق الطريقة الموصوفة من قبل Reen (1994) و Crowther (2009)، مع بعض التعديلات، حيث أُجريت سلسلة من التجارب لتعيين التركيز المثالي للمستضد المدروس، وأيضاً التخفيف المثالي (Optimal dilution) لكل من المصل والضدّ الثانوي المقترن بالأنزيم. وُضعت 100 ميكروليتر في كل حفرة من حفر الطبق من المستضدّ المنقى جزئياً بتركيز 1.2 مكغ/مل في دارئة البيكربونات /كربونات (0.1 مول و pH = 9.6) وحُضن الطبق على درجة حرارة 37 ° م مدة ساعة، ثم نُقل إلى الدرجة + 4 °م مدة 24 ساعة، وذلك ليمتز المستضد إلى جدار الحفر في الطبق، ثم غُسلت 4 مرات بمحلول دارئة الفوسفات الملحية (Phosphate-Buffered Saline, PBS) (0.5 مول ، pH = 7.2) والمضاف إليها 0.05 % (PBST)، ثم أُغلقت المواقع المستضدية اللانوعية بإضافة 250 ميكرولتر من PBST مضافاً إليها 3 % من ألبومين مصل البقر (BSA) إلى كل حفرة من الطبق في درجة + 4 م ° طوال الليل. خُففت الأمصال حتى 1:400 في دارئة PBST مضافاً إليها 1 % BSA (محلول التمديد)، وأُضيف 100 ميكرولتر إلى كل حفرة من الطبق بشكل عينات مضاعفة (حفرتين لكل عينة) بعد غسله كما ذُكر سابقا. وحُضنت في درجة الحرارة 37 م ° مدة ساعة ثم غُسلت أربع مرات. خُففت الأضداد الثانوية المقترنة بأنزيم البيروكسيداز (Rabbit anti – sheep IgG (h+I) HRP conjugated إنتاج شركة ICL) إلى 1:8000 في محلول التمديد وأضيف 100 ميكرولتر إلى كل حفرة من حفر الطبق وحُضنت مدة ساعة في درجة الحرارة 37 °م. غُسل الطبق أربع مرات بالطريقة السابقة ثم أُضيف إلى كل حفرة 100 ميكرولتر من الركيزة اللونية TMB microwell من شركة KPL . وغُلفت بالسلوفان وتُركت في درجة حرارة الغرفة مدة 10 دقائق ثم أُوقف التفاعل بإضافة 100 ميكرولتر من حمض كلور الماء 1 نظامي. ثم قُرئت الكثافة الضوئية في قارئ اليزا أوتوماتيكي (Automated microplate Elisa reader) من شركة Bio-Rad على طول موجة 450 نانومتر.

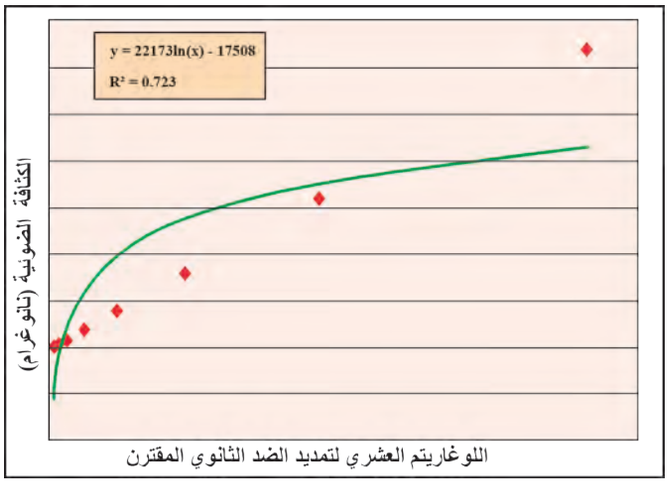
التحليل الإحصائي

أُستعمل كل من تحليل ROC وتحليل الحساسية (Sensitivity) والنوعية (Specificity) وتعيين قيم التنبؤ للقيم الايجابية (PPV) والسلبية (NPV).

النتائج

بينت النتائج أن أفضل تركيز لمستضدات السائل العداري الكبدي المنقى جزئياً بلغ 1.2 مكغ/مل، حيث انخفضت التفاعلات غير النوعية، وظهر ذلك بوجود خلفية صافية تقريباً في حفر طبق الاليزا الممتزة بالمستضد.

حُدِّد التمديد المثالي لكل من المصل و الضد الثانوي المقترن بالأنزيم Anti sheep IgG- linked enzyme(HRP) باستخدام طريقة رقعة الشطرنج (Checkerboard) والتي مُثِّلت من خلال رسم المخطط البياني/ اللوغاريتم العشري (الشكل1).



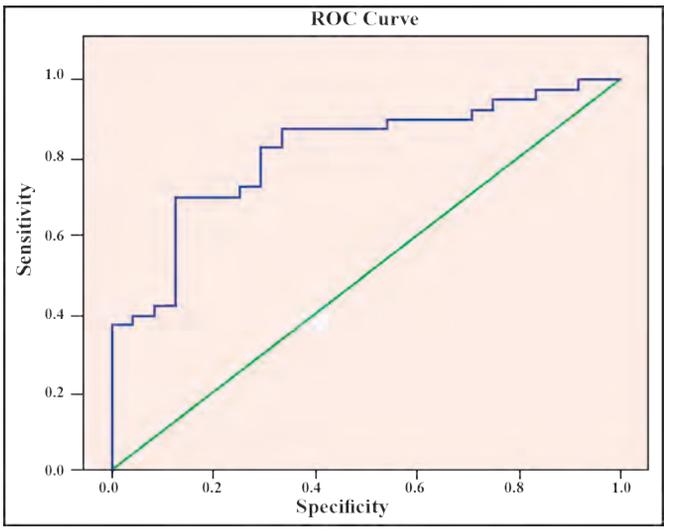
الشكل1. مخطط بياني لوغاريتمي لتحديد التمديدات المثالية لكل من المصل، والضد الثانوي المقترن بالانزيم (checkerboard).

تبين من الشكل1 وبتحديد منطقة الاستقرار النسبي (plateau region) أن أفضل تمديدات المصل تراوحت بين 1:400 إلى 1:800 بينما أفضل تمديدات الضد الثانوي المقترن بالأنزيم تراوحت بين 1:4000 إلى 1:8000 وعند إجراء سلسلة من التجارب وُجد أن التمديد 1:8000 هو الأفضل لذلك أُستعمل عند إجراء اختبارات الاليزا اللاحقة.

يبين اختبار ROC (الشكل 2) أن النقطة التي تفصل بين القراءات الايجابية (Positive results) والقراءات السلبية (Negative results) هي عند الكثافة الضوئية OD=1.3 حيث بلغت الحساسية نحو 87.5 % بينما كانت النوعية 66.7 %.

تفاعلت أربعة أمصال من أصل 11 من أغنام مصابة بالكيسات المذنبة دقيقة الرقبة مع مستضدات الكيسات العدارية وذلك بنسبة 36.36 %.

من الجدول1 تم حساب قيمتي التنبؤ الإيجابية والسلبية حيث بلغت نسبة التنبؤ الإيجابي (PPV) نحو 81.4 % بينما كانت نسبة التنبؤ السلبي (NPV) نحو 76.2 % مما يعني أن الاختبار قادر على أن يكشف الحالات الإيجابية الحقيقية بنسبة 81.4 % ، و بنسبة 76.2 % من الحالات السلبية الحقيقية في الاختبار الكاشف.



الشكل 2. مخطط بياني ROC لتحديد الحد الفاصل بين العينات الإيجابية والسلبية (Cut- off).

المناقشة

ينتشر داء الكيسات العدارية بشكل واسع في الإنسان والحيوان خاصةً في الأغنام، ويُسبب خسائر اقتصادية كبيرة، لذلك يُساعد التشخيص المبكر لهذا المرض في نجاح المعالجة الكيميائية. لقد طُورت العديد من وسائل التشخيص المصلي للكيسات العدارية لاسيما عند الإنسان باستعمال مستضدات من مصدر حيواني، إلا أن فعاليتها مازالت ضعيفة في الحيوانات، إذ كانت نوعية الاختبارات منخفضة بحيث تُعطي نتائج إيجابية كاذبة بنسبة عالية (Kitterberger وزملاؤه، 2002) لذلك كان من المهم تقييم فعالية مستضدات السائل العداري المستفردة جزئياً مع أمصال أغنام العواس السورية.

اُستعملت في هذه الدراسة مستضدات مستفردة من السائل العداري الكبدي من الأغنام العواس المذبوحة. أوضحت النتائج أن أفضل تركيز للمستضد هو 1.2 مكغ/مل أي بمعدل 0.12 مكغ/حفرة، لتمتز على سطح الحفرة (Coating antigen) حيث شكلت أقل نسبة من التفاعلات غير النوعية، وكان انعكاس خلفية الحفرة عندها ضئيلاً، وتقاربت هذه النتائج مع نتائج رمضان (1992) إذ استخدمت تراكيز تراوحت بين 125 إلى 500 نانوغرام/حفرة. بينما استعمل Ramtin وزملاؤه (2003) 1مكغ/حفرة، وقد يعود هذا الاختلاف إلى استعمال المستضد B فقط الذي قد يحتاج إلى كمية عالية منه، وتكون التفاعلات غير النوعية منخفضة، و استعملوا أيضاً الأمصال بتمديدات وصلت إلى مستوى 1:800 وتوافق ذلك مع نتائج الدراسة الحالية، حيث تراوح التمديد المثالي بين 1:400 إلى 1:800.

كما أوضحت النتائج أن النقطة الفاصلة بين القراءات الاختبار والقراءات السلبية (Cut- off) كانت عند OD=1.3 حيث بلغت حساسية الاختبار نحو 87.5 %، وقد تقاربت مع النتائج التي حصل عليها Hadighi وزملاؤه (2003)، و Haniloo وزملاؤه (2005)، و الياسين (2006)، بينما كانت أقل بوضوح مقارنةً مع النتائج التي حصل عليها Sawrna و Parija (2008)، حيث تراوحت الحساسية بين 97.1 - 100 %. في حين كانت نوعية الاختبار في الدراسة الحالية منخفضة إذ بلغت نحو 66.66 % (الجدول1)، وهي أقل مما حصل عليه Hadighi وزملاؤه (2003)، وHaniloo وزملاؤه (2005)، و الياسين (2006)، وSawrna و Parija (2008). حيث تراوحت بين 83 - 100 %. وهذا الانخفاض يدل على وجود تفاعلات ايجابية كاذبة بلغت نسبتها 33.3 %، وقد يعود ذلك إلى التفاعلات التصالبية مع أنواع أخرى من الطفيليات، سُجلت مع كل من الكيسة المذنبة دقيقة الرقبة والكيسة المذنبة الغنمية والشريطية المونيزية والشريطية تيسانيزية، وأيضاً الدودة الكبدية وأنواع أخرى (Burgu وزملاؤه ، 2000 ،Kitterberger وزملاؤه، 2002 ،Kandil وزملاؤه، 2004).

إن جميع الدراسات المذكورة آنفاً أجريت على أمصال بشرية باستعمال مستضدات غنمية باستثناء دراسة الياسين (2006) التي أُجريت على أمصال حيوانية في اختبار الانتشار المناعي المضاعف ومن المعروف أن اختبار الاليزا أكثر حساسية من الانتشار المناعي المضاعف بحيث يمكنه الكشف عن تراكيز منخفضة جدا من الأضداد مقدرةً بالنانوغرام، على عكس اختبار الانتشار المناعي الذي يحتاج إلى تراكيز عالية من الأضداد، وهذا يمكن أن يفسر ارتفاع نسبة التنبؤ الإيجابي الكاذب في هذا الاختبار وانخفاضه في اختبار الانتشار المناعي المضاعف حيث أن الطفيليات الأخرى غالباً ما تتفاعل أضدادها تصالبياً بشكل ضعيف.

وبما أن تعرض الإنسان للإصابة بالطفيليات ذات القرابة المستضدية مع الكيسات العدارية أقل منها في الحيوان. إضافةً إلى إصابته بالمشوكة متعددة

الجدول1. تحديد الحساسية والنوعية لاختبار الاليزا غير المباشرة.

العينات الايجابية			العينات السلبية					
عيانياً	الحقيقية	الكاذبة	عيانياً	الحقيقة	الكاذبة	الحساسية (%)	النوعية (%)	(%) PPV	(%) NPV
40	35	8	24	16	5	87.5	66.66	81.4	76.2

المساكن (*E. multilocularis*)، والكيسة المذنبة البقرية والخنزيرية التي تشكل تفاعلات تصالبية بشكل كبير، علاوة على ذلك، استخدام مستضدات أكثر نقاوة في تقانات تشخيصية عالية، كل هذه العوامل قد أدت إلى رفع نسبة الحساسية والنوعية للاختبارات المصلية في الإنسان بشكل أكبر مما هي في الحيوان.

يُستنتج من هذه الدراسة إمكانية تشخيص داء الكيسات العدارية عند الأغنام بتقانة الاليزا غير المباشرة، وضرورة توافر مستضدات عالية الاستمناعية (Antigenicity) ذات تفاعلات تصالبية منخفضة جداً.

المراجع

الياسين، عبد المنعم. 2006. عزل مستضدات الكيسات العدارية عند الأغنام العواس في الجهورية العربية السورية. رسالة ماجستير، جامعة البعث.

الياسين، عبد المنعم، محمد محسن قطرنجي، انور العمر. 2006. عزل مستضدات الكيسات العدارية الكبدية عند الأغنام العواس. مجلة جامعة البعث، 28(1)، 9-21.

بارودي، عامر. 1990. دراسة عن انتشار داء الكيسات المائيّة في الحيوانات المذبوحة في سورية، رسالة ماجستير، كليّة الطب البيطري- جامعة البعث.

رمضان، ميسون. 1992. دراسة مناعيّة عن المشوكة الحبيبيّة لدى الأشخاص المصابين بالكيسات العداريّة. رسالة ماجستير، كلّيّة العلوم- جامعة دمشق (129).

Al- Yasin, A. M., A. Guerouali., Prevalencen of Hydatid cysts in Awassi sheep at abattoirs in Syria, The Arab journal for Arid Environmental. (in press).

Burgu A., A. Doúanay., B. G. Nen., H. O. Sarimehmetoúlu., F. Kalinbacak. 2000. 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. 24 : 493-500.

Cabrera, P. A., S. Lloyd., G. Haran., L. Pineyro., S. Partietti., M. A. Gemmell., O. Correa., M. A. Morana., S. Valledor. 2001. Control of *Echinococcus Granulosus* in Uruguay: Evalution of different treatment intervals for Dogs. Veterinary Parasitology. 103: 304-333.

Carmena D., A. Benito., E. Eraso. 2006. Antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update, Acta Tropica, 98: 74 – 86.

Crowther R. J. 2009. Methods in molecular biology:The ELISA guidebook. Human press, second Ed.(566).

Eckert J., M. A. Gemmell., F. X. Meslin ., Z. S. Pawłowski .2002. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals:a Public Health Problem of Global Concern.

Eckert J., P. Deplazes. 2004. Biological, Epidemiological, and Clinical Aspects of *echinococcosis*, a *zoonosis* of Increasing Concern. Clin. Microbiol. Rev. 17: 107–135.

Hadighi R., F. Mirhadi., B. Rokni. 2003. Evaluation of Adot-ELISA for the serodiagnosis of human Hydatid disease, Pak. J. Med. Sci., 19(4):268-271.

Haniloo A1., J. Massoud., MB. Rokni. 2005. Evaluation and comparison of antigen B-ELISA and antigen B-immunoblotting in immunodiagnosis of cystic Hydatid disease, Pak. J. Med. Sci., 21 (3): 352-356.

Kandil O. M., O. A. Mahdy., S.K. Abou-El-Dobal. 2004. Purification and characterization of three larval Taeniid antigens by gel filtration. Vet .med. Giza , 52(4):449-456.

Kittelberger R., M. P. Reichel., J. Jenner., D. D. Heath., M. W. Lightowlers., P. Moro., M. M. Ibrahem., P. S. Craig., J. S.O'Keefe. 2002. Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies in sheep infected with *Echinococcus granulosus*. Vet. Parasitol. 110: 57–76.

Lightowlers, M. W., A. Flisser., C. G. Gauci., D. D. Heath., O. Jensen., R. Rolfe. 2000. Vaccination against cysticercosis and hydatid disease. Parasitol. Today. 16:191-196.

Lightowlers, M. W., M. D. Rickard., R. D. Honey., D. L. Obendorf., G. F. Mitchell. 1984. Serological diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in sheep using cyst fluid antigen processed by antibody affinity

WHO. 2006. The control of neglected zoonotic , Report of a Joint WHO/DFID-AHP Meeting with the participation of FAO and OIE Geneva, 20 and 21 September 2005.

Zarzosa M. P., A.Orduna Domingo., P. Guttierez., P.Alonso., M. Cuervo., A. Prado., M. A. Bratos., M. Garcia-Yuste., G.Ramos., A.Rodriguez., A. Torros. 1999. Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 35 (4): 255-262.

chromatography. Aust. Vet. J. 61:101-108.

Meslin, Z. S., Pawlowski. 2002. WHO/ OIE, Manual on *Echinocosis* in human and animals: Public health problem of global concern**.**

Moosa R. A., S. K. Abdel-Hafez. 1994. Serodiagnosis and seroepidemiology of human unilocular hydatidosis. Jordan. Parasitol. Res. 80: 664-671.

Ortona E., R. Rigano., P. Margutti., S. Noralgiacomo., S. Ioppolo., S. Vaccari., S. Barca., B. Buttari., E. Profuma., A. Teggi., A. Siracusano. 2000. Native and recombinant antigens in the immuno-diagnosis of human cystic Echinococcosis. Parasite Immunol. 22 (11): 553-559.

Ramtin, H., M. Fatemeh ., M. B. Rokni. 2003. Evaluation of a dot-ELISA for the serodiagnosis of human hydatid diseas Pak. J. Med. Sci. 19 (4):268-271.

Reen, D. J. 1994.Enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA), In: Methods in molecular biology: basic protein and peptide protocol edited by walker J.M, vol (32), press Humana.

Siavashi M.R., H. Taherkhani., K. Rezaei., M. R. R. Deligani., M. Assmar. 2004. Comparison of Dot-ELISA and Sandwich ELISA Diagnostic Tests in Detection of Human Hydatidosis, Iran. Biomed. J. 9 (2): 91-94.

Soulsby, E. J. L. 1987.Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. 7th: 119-127.

Swarna S. R., S. C. Parija. 2008. dot-ELISA for evaluation of Hydatid cyst wall, Protoscoleces and Hydatid cyst fluid antigens in the serodiagnosis of cystic Echinococcosis. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 50 (4):233-236.

Von sinner., W. N. 1991. New diagnosis signs in Hydatid disease Radiography, Ultrasound. CT and MRI correlated to pathology, European Journal of Radiology. 12:150-159.