تحديد المستضدات الرئيسة للسائل العداري الكبدي والرئوي عند الأغنام العواس في سورية

Identification of Major Antigens of the Liver and Lungs Hydatid cysts Fluid in Awassi Sheep in Syria

Received 3 June 2011 / Accepted 26 August 2011

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

(1): المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة- دمشق- سورية.

(2): كلية العلوم - جامعة دمشق - سورية.

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

المُلخَّص

ينتج داء الكيسات العُداريّة عن الطور اليرقي للمشوكة الحبيبية التي تصيب الكلاب والتي تشكل احد الأمراض الطفيلية المشتركة الأكثر أهمية في العالم من حيث اتساع انتشارها والأضرار الناجمة عنها.

عُزلت المستضدات النوعية التشخيصية لداء الكيسات العُداريّة من بروتينات السائل العداري، للكيسات العُداريّة الكبدية والرئوية التي جُمعت من الأغنام العواس المذبوحة في مسالخ مدينتي حماة وريف دمشق/ سورية، بهدف تحديد الجزيئات البروتينية ذات الفاعلية المُستضديّة.

تم تنقية البروتينات المستضدية عن طريق إمرارها في عمود الكروماتوغرافيا Sephadex G-100 بعد إجراء عمليات الترسيب بسلفات الأمونيوم، والديلزة في الماء المقطر، والنبذ، للتخلص من البروتينات عديمة الأهمية الاستضدادية، والحصول على البروتينات ذات الفاعلية الاستضدادية عن طريق فصلها في الجل الأكريلاميدي (SDS-PAGE)، ثم اختبار التبصيم المناعي (Immunoblot).

أوضحت النتائج أنّ العصابات 54 و38 و27 كيلو دالتون (الوحدات المُستضديّة للسائل العداري الكبدي) تفاعلت مع الأمصال الإيجابية المختبرة (المرجعية) للكيسات العُداريّة في اختبار التبصيم المناعي على غشاء النتروسيللوز، في حين لم تُظهر العصابات 67 و 16 كيلو دالتون أي تفاعل. ومن جهة أخرى، تفاعلت العصابات 54 و38 و28 و22 كيلو دالتون (الوحدات المُستضديّة للسائل العُداري الرئوي) مع أمصال الأغنام المصابة بالمشوكة الكيسية المرجعية، في حين لم تبدِ العصابتان 12 و 67 كيلو دالتون أيّة تفاعلات مع الأمصال المختبرة.

يُستنتج من هذه الدراسة إمكانية استعمال تلك العصابات التي تفاعلت مع أضداد الكيسات العُداريّة كمستضدات نوعية في الاختبارات المناعية.

الكلمات المفتاحية: مستضدات، الكيسات العُداريّة ، أغنام العواس، سورية.

Abstract

Hydatidosis is a dangerous parasitic zonoosis caused by larval stage of *Echinococcus granulosus*, with worldwide distribution and important economic impact in sheep.

©2013The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved - ISSN 2305- 5243.

Specific diagnostic antigens of *Hydatidosis* were isolated from fluids' liver and lung Hydatid cysts that collected from slaughtered sheep in Hama and countryside Damascus to determine the protein subunits that posse's antigenic activity.

The antigenic proteins were purified by passing through the sephadex G-100 in chromatography column, after precipitation with ammonium sulfate, centrifugation, and dialysis against distilled and deionized water, to obtain the antigenic active proteins and disposal the unimportant proteins, and separating it in SDS-PAGE and detection it by western blot.

The result showed that the subunits of hepatic hydatid fluid of 54, 38 and 27 KDa bands reacted with reference positive sera in the immunoblotting technique on nitrocellulose membranes, while the 67 and 16 KDa bands didn't react. On the other hand, the subunits of lung Hydatid fluid in the weight 22, 28, 38 and 54 KDa reacted with reference sera from sheep with Cystic *Echinococcosis*, which don't react with both bands in weight 12 and 67 KDa.

It can be concluded, it is possible to use liver and lungs Hydatid fluid subunits having antigenic activity as specific antigens in diagnostic tests.

Keywords: Hydatid cyst antigens, Immunodiagnosis, ELISA, Awassi sheep, Syria.

المقدمة

يُعد داء الكيسات العُداريّة واسع الانتشار عند الإنسان والحيوانات آكلات الأعشاب، ولاسيما الأغنام، وهو واسع الانتشار في دول العالم، وينجم عن الطور اليرقي للدودة الشريطية المشوكة الحبيبية عند الكلاب. وقد صُنِّف في زمرة الأمراض المهملة في العالم رغم الأضرار الكبيرة الناجمة عنه (Soulsby، 1987، Cabera وزملاؤه، 2001، Eckert وزملاؤه، 2002، WHO، 2006). وقد وُصفت تسع ذراري من المشوكة الحبيبة وذلك بناءً على الواسمات الجزيئية (Molecular markers) (Meslin و Pawlowski، 2002). وتزداد أهمية هذا المرض من خلال ارتفاع نسبة انتشاره التي بلغت نحو 49.20 % عند الأغنام العواس السورية التي تجاوز عمرها العام الواحد (الياسين وكروالي، قيد النشر)، حيث توضعت بنسبة 54.2 % في الكبد، و 12.8 % في الرئتين، ونحو 33 % في الإصابة المزدوجة أي في الكبد والرئتين معاً (بارودي، 1990).

تم الحصول على المستضدات العُداريّة من السائل العداري أو مستخلص الغشاء الجليدي، أو إطراحات ومفرزات الرؤيسات الأولية أو الدودة الكاملة. ويُعد السائل العداري المصدر الرئيس للتشخيص المناعي لداء الكيسات العُداريّة عند الإنسان والحيوان بالاعتماد على مستضدين رئيسين هما Ag-5 و Ag-B. استعمل المستخلص الجسمي في التشخيص المناعي عند الكلاب والثوي الوسيط من المجترات، ومن ناحية أخرى استُعملت المستضدات البرازية (Coproantigens) الناتجة من مفرزات الدودة وإطراحاتها في التشخيص المناعي في الثوي النهائي (Carmena وزملاؤه، 2006).

عُزلت هذه المستضدات بعد ديلزة سائل الكيسات العُداريّة البشرية للتخلص من البروتينات عديمة الأهمية الاستضدادية، وذلك عن طريق النبذ والتجفيد والترسيب بسلفات الأمونيوم، والترشيح في هلامة السيفادكس (Sephadex) (Capron وزملاؤه، 1967، رمضان، 1992)، وقد احتوى الغشاء الجليدي (Laminated layer) على مستضدات مشتقة من الطفيلي، وأخرى مشتقة من الثوي نفسه، وكانت الجزيئات الأكثر استضدادية للغشاء الجليديّ متركزة في المنطقتين الموافقتين للكتل الجزيئيّة من50 إلى 66 ومن 25 إلى 29 كيلودالتون. وانحصر الجزيء IgG في الثويّ من 50 إلى 55 ومن 25 إلى 29 كيلو دالتون، وأما الجزيئات الطفيليّة، فقد انحصرت في المنطقة ذات الوزن الجزيئي 27 كيلو دالتون (Taherkhani، 2001).

أثبت Maddison وزملاؤه (1989) أنّ هناك استجابات نوعيّة لأضداد أمصال المرضى المصابين بالكيسات العُداريّة مع العصابات ذات الكتل الجزيئيّة 12، 16، 20، 37، 38، 48 كيلو دالتون. وقد استُخدمت العصابات ذات الأوزان الجزيئيّة 23 و 25 كيلو دالتون المستخلصة من بيوض الشوّكات الحبيبيّة في هلامة الأكريلاميد (SDS-PAGE) في فحص الأضداد النوعيّة عند الأغنام. كما تشكّلت استجابات مناعيّة لخمس عصابات كانت أوزانها الجزيئيّة 116، 98، 68، 57، 45 كيلودالتون مع أمصال البشر والأبقار والأغنام المخموجة بالكيسات العُداريّة وذلك عند فحص 20 عصابة تراوحت أوزانها من 8 إلى 120 كيلو دالتون (Fadwa و Knobloch، 1989، Facon وزملاؤه، 1991، Sanchez وزملاؤه، 1991، Leggatt و McManus، 1994، Profumo وزملاؤه،

1994، Chamekh وزملاؤه،1995؛ Heath و Lawrence، 1996). وقد وجد Kanwar وزملاؤه (1992) أنّ السائل العداري الغنمي يحتوي على 15 عصابة بروتينيّة، تراوحت أوزانها الجزيئيّة بين 8 و 116 كيلودالتون، وقد تشكّلت الاستجابة المناعيّة الخلطيّة في الإنسان عند 12 عصابة بروتينيّة، وسجّلوا استجابات مناعيّة تطوّرت في أمصال مرضى الكيسات العُداريّة ضد العصابات 8، 16، 24، 38، 45، و58 كيلو دالتون، غير أنّ هذه العصابات أعطت تفاعلات تصالبيّة مع أمصال الأشخاص المصابين بأخماج أخرى، وعلى العموم فإن الاستجابات المناعيّة النوعيّة تركزت في العصابتين 8 و 16 كيلودالتون. حصلت رمضان (1992) على خمس عصابات بروتينيّة من خلال فصل سائل الكيسة العُداريّة الرئويّة البشريّة، وبلغت كتلها النسبيّة نحو 13182، 29512، 45708، 57543، 67608 دالتون، كما حصلت أيضاً على خمس عصابات عند فصلها لعينة أخرى من السائل العداري الرئوي البشري من منطقة جغرافيّة مختلفة عن المنطقة الأولى وكانت كتلها الجزيئيّة 19952، 39810، 47863، 58884، 67000 دالتون، كما حصل Burgu وزملاؤه (2000) على تسع عصابات بروتينيّة نوعيّة كانت أوزانها الجزيئيّة 200، 116، 98، 68، 58، 38، 24، 16، 8 كيلو دالتون، وذلك بفصل سائل الكيسات العُداريّة الكبديّة الغنميّة في هلامة الأكريلاميد المتعددة، وكانت العصابة 116 كيلو دالتون هي الأكثر نوعيّة عند الأغنام، في حين كانت العصابتان 68 و 8 كيلودالتون الاكثر نوعيّة عند الإنسان باستعمال اختبار التبصيم المناعي (Western Blot). وقد حصل Derbala (1998) على سبع عصابات من السائل العداري عند الجمل و3 عند الحمار، كانت كتلها الجزيئية 100، 72.4، 61.3، 46.8، 38.0، 34.7، 28.8 كيلو دالتون عند الجمل، و 143.2 و 128.2 و 44.6 كيلو دالتون عند الحمار على التوالي.

حصل الياسين (2006) على خمس عصابات بفصل السائل العداري للكيسة الكبدية وكانت الكتل الجزيئيّة الموافقة لها 85114، 67000، 53703، 26915، 15849 دالتون. وأيضاً على خمس عصابات كانت كتلها الجزيئيّة 67000، 53703، 38000، 29615، 13000 دالتون عند فصل السائل العداري الرئوي عند أغنام العواس السورية.

هدفت الدراسة إلى تحديد خصائص مستضدات السائل العداري الكبدي والرئوي عند الأغنام العواس في سورية.

مواد البحث وطرائقه

• العينات (Samples):

جُمعت عينات الدم المختبرة (الشاهد الإيجابي والشاهد السلبي) من الأغنام العواس المذبوحة في المسالخ المحلية في محافظتي حماة وريف دمشق / سورية، والتي بلغت 40 عينة دم من حيوانات مصابة بالكيسات العُداريّة عيانياً و24 عينة دم من حيوانات غير مصابة (سليمة ظاهرياً)، وتراوحت أعمار الحيوانات المفحوصة بين 6 أشهر و 10 سنوات. رُقّمت الحيوانات قبل الذبح وذلك بتثبيت لوحة بلاستيكيّة على الحيوان، وجُمعت عينات الدم مباشرة من الأوعية الدمويّة النازفة (مكان الذبح) في أنابيب معقّمة سعة 15 مل للحصول على المصل فقط، و أُغلقت بإحكام، وسُجل عليها رقم الحيوان وعمره. ثم نُبذت وحُصل على الأمصال التي وُزّعت بأحجام متساوية وحُفظت في أنابيب بلاستكية مقاومة للتجميد، وقُسمت إلى 3 مجموعات وحفظت على درجة - 20 م° إلى حين الاستعمال. ثم فُحصت كلّ ذبيحة على حدة فحصاً شاملاً، ولاسيّما محتويات التجويف البطني والتجويف الصدري، عن طريق اللمس والجس، كما أُجريت مقاطع في بعض الحالات لتمييز الكيسات العُداريّة الصغيرة من العقد والأورام، واستؤصل بعضها، ووضعت في أكياس بلاستيكيّة، وسُجل رقم الحيوان الذي أعطي له قبل الذبح، كما تم تحرّي الإصابات الطفيليّة الأخرى، ولاسيّما الديدان الكبديّة مثل المتورقات (*Fasciolosis*)، ومتفرعة المعي المغصّنة (*Dicrocoelium dendriticum*) ، والديدان الرئويّة، والكيسة المذنبة دقيقة الرقبة (*Cysticercus tenuicollis*). ثم وُضعت الأحشاء المصابة كلّ على حدة في أكياس بلاستيكيّة، و دوّن عليها أرقام الحيوانات، و نُقلت إلى مختبر الطفيليّات في كلية الطب البيطري في محافظة حماة.

• تحضير المستضدات (Preparation of antigens)

جُمع السائل العداري من كيسات عدارية كبدية وأخرى رئوية كلا على حدة في الإصابات المزدوجة. حيث تم مراعاة أخذ الكيسات الكبيرة والخصبة والسليمة غير المتشققة أو المتجبنة أو المتكلسة. ثم استُخلصت المستضدات من السائل العداري وفقا للطريقة الموصوفة من قبل الياسين وزملائه (2006)، حيث نُبذ السائل ثم أُخذ الطافي ورُسبت البروتينات الذائبة بإضافة سلفات الأمونيوم بنسبة 40 % من السائل الطافي، ثم نُبذ المحلول لمدة ساعة على درجة + 4 م° بسرعة 10000 دورة / دقيقة، وأُخذت الرسابة، وبعدها تمت الديلزة باتجاه الماء المقطر، ثم استُفردت في عمود السيفادكس G-100.

استُخدم جهاز الرحلان الكهربائي (PROTEAN- II XI CELL) من شركة BIO-RAD بهدف فصل البروتينات المستضديّة على أساس الوزن الجزيئي النسبي في هلامة متعددة الأكريلاميد (SDS-PAGE) وبنسبة 12.5%، مع إضافة SDS بنسبة 1 % وبسماكة 1.5 مم، حسب الطريقة الموصوفة من قبل Smith (1994)، بإضافة الميركبتوايتانول بيتا، لتحطيم الروابط الكبريتيّة (S-S)، ثم أُجري الرحلان في جهاز PROTEAN-II XI CELL ، وصُبغت بأزرق كومازي R-250، مدة ليلة كاملة، ثم أُزيل اللون لاحقاً بالإبانة.

• اختبار التبصيم المناعي
(Western blot، Immunoblotting test):

أولاً: النقل الكهربائي بالتبصيم الرطب،
Electrophoretic Transfer for Wet Blot

بعد الانتهاء من الرحلان الكهربائي للبروتينات على هلامة الأكريلاميد المتعددة، أُخذ أحد الجلين وصبغ بصبغة كومازي، أما الجل الآخر فعومل كالآتي:

نُقع مع غشاء النتروسيللوز (Nitrocellulose membrane) في دارئة نقل التبصيم الرطب (Wet blot transfer buffer، 25 mM Tris-HCl، 0.2 M glycine، 20 % methanol) مدة أقل من 15 دقيقة بهدف إزالة آثار الأملاح والمنظّفات الموجودة في دارئة الرحلان الكهربائي. واستُعمل لكل جل وسادتا ليف، واثنتان من ورق الترشيح (Trans-blot، Bio-Rad، No. 1703956)، ورُتبت بدءاً من الجانب الرمادي للقالب وفق الآتي: 1 - وسادة ليف 2 - ورق ترشيح 3 - الجل الحامل للبروتينات المستفردة 4 - غشاء نتروسيللوز 5 - ورق ترشيح 6 - وسادة ليف. ثم وضع القالب داخل حوض التبصيم في المكان المخصص له، بحيث يكون الترحيل من الجل إلى الغشاء. ثم مُلىء الحوض بدارئة التبصيم الرطب حتى الحافة السفلية للصف الأعلى من فتحات الكاسيت، ووُصلت الأقطاب الكهربائية بوحدة التغذية، وأُجري الرحلان على فلتاج ثابت (100 فولت) لمدة ساعة ونصف.

ثانياً: الكشف عن المستضدات على غشاء النتروسيللوز:

للكشف عن المُستضدات على أغشية النتروسيللوز غُسلت بدارئة الترس (TBST، 10 mM Tris-HCl، 0.15 M NaCl، 0.05% tween-20، pH 8.0)، وذلك للتخلص من آثار أملاح دارئة النقل، ثمّ صُبغت بأحمر بونسو لمدة 30 دقيقة وهي تهتز، ثم قُطعت إلى شرائط وفقاً لمسارات البروتينات وغُسل شريط الماركر بروتين وجُفف جيداً، وحفظ في مكان مظلم. أما بقية الشرائط فقد نُقعت في دارئة الترس (TBST) مضافاً إليها 5 % من الحليب خالي الدسم (TBST- 5 % Nonfat Dry Milk، NFM) لمدة ساعة على درجة حرارة 37 م° وذلك لإغلاق المواقع المستضدية اللانوعية، أُزيل بعدها محلول الإقفال (Blocking solution) و شُطفت بدارئة الغسيل (TBST) لمرة واحدة مدة خمس دقائق على الهزازة، ثم أجريت الخطوات الآتية:

- أُضيف 40 مل من المصل الايجابي (الأضداد الأولية) الممدد إلى 1:15000 في TBST-1% BSA أو TBST- 3% NFM و حُضنت عند درجة حرارة الغرفة مدة ساعة وهي تهتز بشكل ثابت.

- أُضيف 40 مل من الأجسام المضادة الثانوية المقترنة بأنظيم البيروكسيداز (Rabbit anti – sheep IgG (h + l) HRP conjugated)، من شركة ICL (Lot N°: 3) بتمديد 1:10000 في دارئة الترس المضاف لها 3 % من الحليب منزوع الدسم (محلول التمديد) (TBST- 3 % NFM)، ثم حُضنت مدة ساعة على درجة حرارة الغرفة على الهزاز.

- فُصلت كل مرحلة بأربع مرات غسيل بدارئة TBST لمدة خمس دقائق لكل غسلة في درجة حرارة الغرفة على الهزاز.

- أضيف 500 ميكروليتر (مكل) من الركيزة اللونية TMB 3.3',5.5'- tetramethylbenzidine الخاصة بغشاء النتروسيللوز Liquid substrate system for membranes، SIGMA N°. T0565.

- ظهرت العصابات خلال 15 دقيقة، وتمت المراقبة بعناية (لأنَ زمن التفاعل متفاوت)، إلى أن أصبحت واضحة بشكل كبير، وعندها أُوقف تطور التفاعل بشطف الأغشية بالماء المقطر منزوع الشوارد.

- صُبغ شريط الماركر بروتين بصبغة (0.1 % Amido Black) مدة دقيقة واحدة، وأزيلت الصبغة، ثم غسلت بالماء منزوع الشوارد إلى أن أصبحت الخلفية صافية تقريباً.

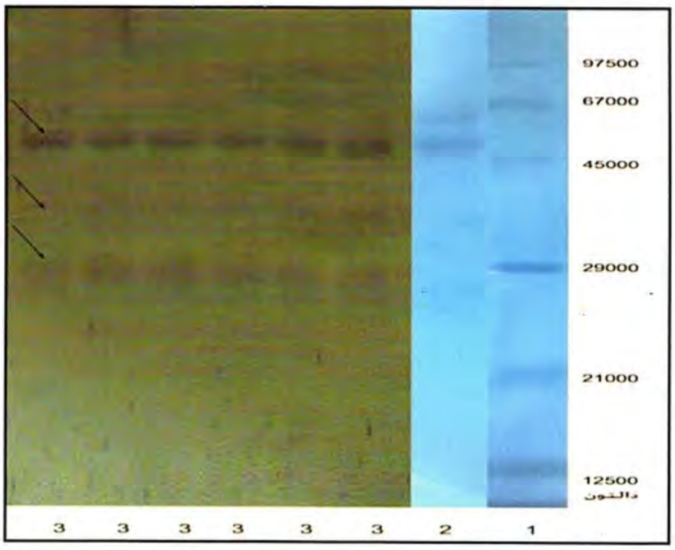
النتائج والمناقشة

بينت النتائج تشكل خمس عصابات من جراء فصل السائل العداري الكبدي في الجل الأكريلاميدي المتعدد ضمن الشروط المخفضة (Reducing condition) بإضافة المركبتوايتانول بتا، حيث تراوحت كتلها الجزيئية مابين 22 و 67 كيلودالتون. وقد أوضحت نتائج اختبار التبصيم المناعي على غشاء النتروسيللوز تفاعل العصابات 54 و38 و27 كيلو دالتون (الوحدات المستضدية للسائل العداري الكبدي) مع الأمصال الإيجابية للكيسات العُداريّة المرجعية، في حين لم تتفاعل مع العصابات 67 و16 كيلو دالتون (الشكل1).

بالمقابل تشكلت ست عصابات عند فصل بروتينات السائل العداري الرئوي فكانت كتلها الجزيئية الجزيئيّة نحو 67، 54، 38، 28، 22 و 12 كيلو دالتون (الشكل2).

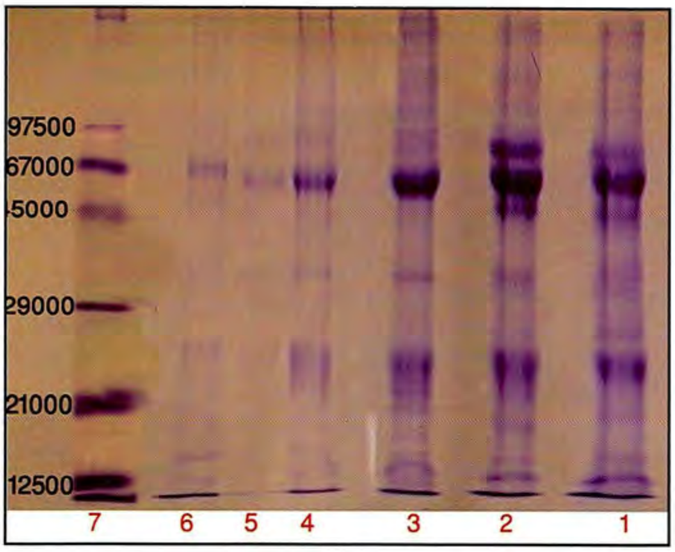
أوضحت النتائج أيضاً أن العصابات ذوات الأوزان الجزيئية 54 و 38 و 28 و 22 قد تفاعلت مع أمصال الأغنام المصابة بالشوكة الكيسية المرجعية في اختبار التبصيم المناعي، بينما لم تبد العصابتان 12 و 67 أيّة تفاعلات مع الأمصال الإيجابية المرجعية (الشكل 3).

يلاحظ أن هنالك تماثلاً بين بروتينات السائل العداري الرئوي والكبدي عند استفرادها في الجل الأكريلاميدي ضمن الشروط المخفضة وذلك في أربع عصابات (67، 54، 38، و28 كيلودالتون). في حين أظهر السائل العداري الرئوي العصابتين 12 و 22 كيلو دالتون، بينما ظهرت في السائل العداري الكبدي العصابة 16 كيلو دالتون.



الشكل1. التبصيم الناعي لعصابات السائل العداري الكبدي على غشاء النتروسللوز.

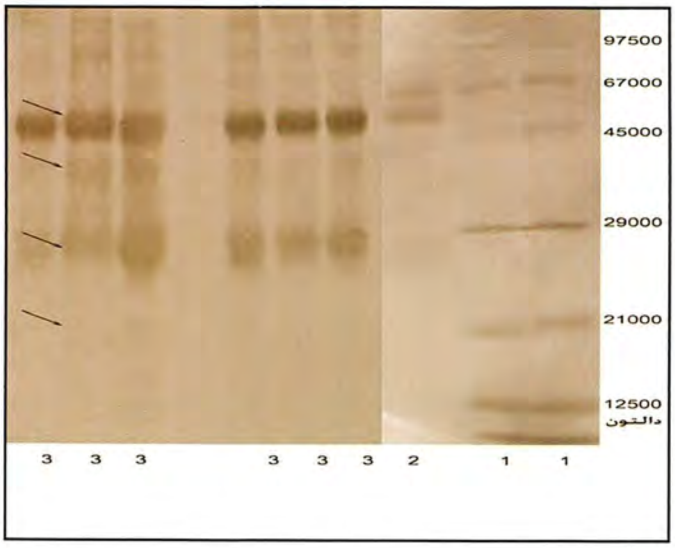
1 - ماركربروتين، 2 - سائل عداري كبدي، 1 و2 غشاء النتروسللوز مصبوغ بالأميدوبلاك، -3 عصابات السائل العداري الكبدي المفصولة والمتفاعلة مع الأمصال الإيجابية، أنظيم البيروكسيداز وركيزة TMB الخاصة بالأغشية.



الشكل2. استفراد السائل العداري الرئوي في الإصابة المزدوجة وفقاً لإمرارها في عمود السيفادكس - رحلان كهربائي SDS-PAGE- صبغة كومازي R-250.

1،2،3،4،5: توزع بروتينات القمة الأولى وفقاً لاستفرادها في الأنابيب، 6: القمة الثانية، 7 : الماركر بروتين.

ينتشر داء الكيسات العُداريّة انتشاراً واسعاً عند الإنسان والحيوان، ولاسيما عند الأغنام، ويسبب خسائر اقتصادية مهمة، ويساعد التشخيص المبكر لهذا المرض في نجاح المعالجة الكيميائية. لذلك طورت العديد من وسائل التشخيص المصلي للكيسات العُداريّة، ولاسيما عند الإنسان باستعمال مستضدات من



الشكل3. التبصيم الناعي للسائل العداري الرئوي مع الأمصال المرجعية على غشاء النتروسيللوز.

1: ماركر بروتين، 2: سائل رئوي مستفرد، ومنقول على الغشاء. 1 و 2 ، صبغة الأميدوبلاك. 3: عصابات السائل العداري المتفاعلة، أنظيم البيروكسيداز، وركيزة TMB الخاصة بالأغشية

مصدر حيواني، إلا أن الكفاءة التشخيصية لتلك المستضدات مازالت ضعيفة في الحيوانات بسبب التفاعلات الإيجابية الكاذبة العالية (Kitterberger وزملاؤه، 2002) لذلك كان من المهم تقييم مستضدات السائل العداري المفصولة بوجود أمصال أغنام عواس محلية مصابة.

أوضحت النتائج أنه تم الحصول على خمس عصابات من فصل السائل العداري الكبدي في الجل الأكريلاميدي المتعدد في الشروط المخفضة، بلغت أوزانها الجزيئية 67، 54، 38، 27، 16 كيلو دالتون على التوالي، وبذلك تماثلت مع النتائج التي حصل عليها الياسين (2006) من حيث عدد العصابات وكتلها الجزيئية، وكان الاختلاف في العصابة 38 كيلو دالتون التي حصل عليها في الدراسة الحالية، وعدم ظهورها في دراسته السابقة، وأيضاً العصابة 85 كيلو دالتون التي ظهرت في الدراسة السابقة وغابت في الدراسة الحالية.

أما بروتينات السائل العداري الرئوي فقد انفصلت إلى ست عصابات، إذ بلغت كتلها الجزيئية 67، 54، 38، 28، 22، و 12 كيلو دالتون، وقد تقاربت مع نتائج رمضان (1992) التي حصلت عليها من كيسة رئوية بشرية، واختلفت معها في عدد العصابات، إذ حصلت على خمس عصابات. كما تماثلت مع نتائج الياسين (2006) عندما عُزلت المستضدات من السائل العداري الرئوي الغنمي، واختلفت معه في عدد العصابات، حيث سُجلت في الدراسة الحالية العصابة 22 كيلو دالتون وغابت في نتائج الدراسة السابقة. ولوحظ أيضاً أن هنالك تقارباً بين الأوزان الجزيئية للعصابات المعزولة من السائل العداري الكبدي والرئوي حيث تطابقت في أربع عصابات. يمكن أن

تعزى النتائج إلى أن كيسات الرئة وكيسات الكبد هي من الذرية نفسها في الإصابات المزدوجة، وأن الاختلافات في بعض العصابة يمكن أن تعود إلى أنها مشتقة من بروتينات الثوي، أو من العضو الذي توجد فيه الكيسة بالنسبة إلى بروتينات الكبد أو الرئتين. كما أن هنالك تأثيراً لاختلاف نوع الثوي (Taherkhani، 2001)، واختلاف ذرية المشوكة الحبيبية، حيث تشكلت 7 عصابات تراوحت أوزانها بين 28 و 100 كيلو دالتون، وفي الحمار تشكلت 3 عصابات، أوزانها بين 44.6 و143.2 كيلو دالتون (Derbala، 1998) كما أن اختلاف الطرائق المستعملة في فصل البروتينات المُستضدية له تأثير في اختلاف العصابات المستفردة.

أوضحت النتائج أن عصابات السائل العداري الكبدي ذات الأوزان 54، و 38، و 27 كيلو دالتون وعصابات السائل العداري الرئوي ذات الأوزان 54، 38، 22،28 كيلو دالتون تفاعلت مع الأمصال الإيجابية المرجعية الغنمية المصابة بداء الكيسات العُداريّة في اختبار التبصيم المناعي، وهنا يلاحظ أنَ العصابات 38 و20 إلى 24 كيلو دالتون ذُكرت في نتائج كل من Maddison وزملائه (1989) وKanwar (1992) وBurgu وزملائه (2000) واختلفت معهم في باقي العصابات، حيث سجلوا تفاعلات مع العصابات 200، 116، 58، 68، 16، 8 ، و45 كيلودالتون. وذكر Kanwar (1992) أنّ العصابتين 8 و 12 كيلو دالتون هما الأكثر نوعية، في حين بيّن Burgu وزملاؤه (2000) أنّ العصابة 112 كيلو دالتون هي الأكثر نوعية عند الأغنام، وأن العصابتين 8 و 68 كيلو دالتون كانتا نوعيتين عند الإنسان، ويمكن أن ترجع هذه الاختلافات إلى اختلاف الذرية (النمط الوراثي) للمشوكة الحبيبية، إلى اختلاف مصدر السائل العداري والطريقة المتبعة في عزل المستضدات واختلاف الثوي الوسيط أيضاً.

يُستنتج من هذه الدراسة أنّ العصابات 54، 38، 27 و 22 كيلو دالتون يمكن أن تكون ذات قيمة تشخيصية في الاختبارات المناعية وأن تقلل من التفاعلات التصالبيّة مع أنواع الديدان الأخرى في الثوي الوسيط من الحيوان والإنسان.

المراجع

بارودي، عامر. 1990. دراسة عن انتشار داء الكيسات المائيّة في الحيوانات المذبوحة في سورية، رسالة ماجستير، كليّة الطب البيطري، جامعة البعث، 155ص.

رمضان، ميسون. 1992. دراسة مناعيّة عن المشوكة الحبيبيّة لدى الأشخاص المصابين بالكيسات الغداريّة، رسالة ماجستير، كليّة العلوم، جامعة دمشق، 129 ص .

الياسين، عبد المنعم. 2006. عزل مستضدات الكيسات العُداريّة عند الأغنام العواس في الجهورية العربية السورية، رسالة ماجستير، جامعة البعث، 132ص.

الياسين، عبد المنعم؛ محمد محسن قطرنجي و أنور العمر. 2006. عزل مستضدات الكيسات العُداريّة الكبدية عند الأغنام العواس، مجلة جامعة البعث، 28(1): 9-21.

الياسين، عبد المنعم وعبد الحي كروالي. انتشار الكيسات العُداريّة في الأغنام العواسي في المسالخ الفنية في سورية، المجلة العربية للبيئات الجافة / أكساد (قيد النشر).

Burgu, A., A. Doganay, B. Gonenc, and H.O. Sarimehmetoglu. 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 and S. Valledor. 2001. Control of *Echinococcus Granulosus* in Uruguay: Evalution of different treatment intervals for Dogs. Veterinary Parasitology. 103: 333- 304.

Capron, A., A. Vernes, and J. Biguet. 1967. Le diagnostic immunoelectrophoretique de L`hydatidose. Journées Lyonnaises de L` hydatidologie.

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

Chamekh, M., B. Facon, C. Dissous, A. Haque, and A. Capron. 1995. Use of a monoclonal antibody specific for a protein epitope of *Echinococcus granulosus* antigen 5 in a competitive antibody radioimmunoassay for diagnosis of hydatid disease, J. Immunol.

Derbala, A. A. 1998. Electrophoretic differentiation of soluble antigens from *Echinococcus granulosus* isolates using SDS-PAGE technique.Giza, Vet.med. J.46(3):285- 292.

Eckert J., M.A. Gemmell, F. X. Meslin and Z.S.

Med. Hyg. 40:377- 383.

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

Profumo, E., E. Ortana, R.Rigano, I. Gioia, S. Notargiacomo, S. Loppolo, and A. Siracusano. 1994. Cellular and humoral responses to antigenic subunits of *Echinococcus granulosus* cyst fluid in hydatid patients, Parasite Immunol. 16:393 -398.

Sanchez, F., F. March, M. Mercader, P. Coll, C. Munoz, and G. Prats. 1991. Immunochenical localization of major hydatid fluid antigens in protoscolices and cyst of *Echinococcus granulosus* from human origin, Parasite Immunol. 13:583- 592 .

Smith, B.J. 1994. SDS Polyacrylamide Gel Electrophoresis of Protein. In: Methods in Molecular Biology, Basic protein and peptides protocols Vol. 32: 23- 34, Humana Press Inc; Totowa ,N. J.

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

Taherkhani, H. 2001. Analysis of the *Echinococcus granulosus* Laminated Layer Carbohydrates by Lectin Blotting, Iran. Biomed. J. 5(1): 47 -51.

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.

Pawłowski. 2002. WHO /OIE Manual on *Echinococcosis* in Humans and Animals: A public health Problem of Global Concern.

Facon, B., M. Chamekh, C. Dissous and A. Capron. 1991. Molecular cloning of an *Echinococcus granulosus* protein expressing animmunogenic epitope of antigen 5, Mol. Biochem. Parasitol. 45:233- 240.

Fadwa, M.A., and J. Knobloch. 1989. Isolation and partial characterization of species-specific and cross-reactive antigens of *Echinococcus granulosus* cyst fluid, Mol. Biochem. Parasitol. 37:101- 108.

Heath, D. D., and S. B. Lawrence. 1996. Antigenic polypeptides of *Echinococcus granulosus* oncospheres and definition of proctetive molecules, Parasite Immunol. 8:347 -357.

Kanwar, J. R., S. P. KaushÝk, I.M.S. Sawhney, M.S. Kamboj, S. K. Mehta and V. K.VÝnayak. 1992. Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognised by immunoblotting, J. Med. Microbiol. 36:46 -51.

Kittelberger R., M P.Reichel, J. Jenner, D D. Heath, M W. Lightowlers, P. Moro, M M. Ibrahem, P S.Craig, and 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.

Leggatt, G.R., and D. P. McManus. 1994. Identification and diagnostic value of a major antibody epitope on the 12-kDa antigen from *Echinococcus granulosus* (hydatid disease) cyst fluid, Parasite Immunol. 16:87 - 96.

Maddison, S. E., S. B. Slemenda, P.M. Schantz, J.A. Fried, M. Wilson, and V. Tsang. 1989. Aspecific diagnostic antigen of *Echinococcus granulosus* with an apparent molecular weight of 8 kDa, Am.J.