

بررسی اثر آنتی‌ژن‌های پروتواسکولکس کیست هیداتیک بر پیشگیری از رشد کیست‌های هیداتیک ثانویه

چکیده:

مقدمه و هدف: کیست هیداتیک در احشاء داخلی انسان و بعضی حیوانات مستقر می‌شود و یک مشکل بهداشتی - دامپزشکی و اقتصادی در مناطق آلوده تلقی می‌گردد. هنگامی که این کیست پاره می‌شود پروتواسکولکس‌های داخل آن ممکن است به خارج راه یافته و داخل بافت میزبان ایجاد کیست‌های جدیدی موسوم به کیست ثانویه بنمایند. در این راستا این مطالعه به منظور تعیین تأثیر آنتی‌ژن‌های پروتواسکولکس کیست هیداتیک بر پیشگیری از رشد کیست‌های هیداتیک ثانویه انجام گردید.

مواد و روش‌ها: این پژوهش یک مطالعه تجربی است که بر روی ۲۰ موش بальب - سی در سال ۱۳۸۳ در آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد انجام گرفته است. برای این منظور گروه مورد از راه داخل صفاقی مورد تزریق پروتواسکولکس هموزنیزه شده و آنتی‌ژن‌های سطحی پروتواسکولکس که با سه دترژنت توئین - ۸۰، اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ تهیه گردیده بودند قرار گرفتند. به منظور حصول پاسخ ایمنی مناسب تمام آنتی‌ژن‌های فوق در مخلوطی از ادجوانت آلوم تزریق شدند. موش‌های گروه شاهد فقط با ادجوانت آلوم تزریق شدند. تمام موش‌های گروه مورد به فاصله هر دو هفته دو یادآور از آنتی‌ژن‌ها دریافت نمودند. دو هفته بعد از آخرین تزریق همه موش‌ها در معرض پروتواسکولکس‌های زنده قرار گرفتند. سه ماه بعد از آلودگی موش‌ها کشته شدند و پروتواسکولکس‌های داخل حفره شکمی آنها شمارش گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با نرم افزار SPSS و آزمون آماری تی دانشجویی تحلیل گردید.

یافته‌ها: میانگین تعداد کیست‌های تشکیل شده در موش‌های تزریق شده با پروتواسکولکس‌های هموزنیزه شده 2 ± 2 بود، در حالی که میانگین تعداد کیست‌ها در گروه شاهد $5/8 \pm 1/7$ بود ($p < 0/02$). میانگین تعداد کیست‌ها در موش‌های تزریق شده با آنتی‌ژن‌های استخراج شده با دترژنت‌های توئین - ۸۰، اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ به ترتیب: $3/6$ ، 3 و $3/4$ بود، در حالی که میانگین تعداد کیست‌ها در موش‌های گروه شاهد $5/8$ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که میانگین تعداد کیست‌های تشکیل شده در گروه‌های مورد و شاهد تفاوت آماری معنی‌داری داشت. همچنین آنتی‌ژن‌های استخراج شده با توئین - ۸۰، اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ حاوی مواد محافظت کننده در برابر ایجاد کیست‌های ثانویه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: کیست هیداتیک ثانویه، آنتی‌ژن‌های سطحی، پروتواسکولکس، محافظت

دکتر حسین یوسفی *

دکتر مرتضی هاشم‌زاده **

کبری کهنسال ***

نزهت زبردست ***

دکتر هدایت شیرزاد ****

دکتر قربانعلی شهابی *****

دکترای انگل‌شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی

شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

دکترای ژنتیک، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی

شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

کارشناس ارشد انگل‌شناسی، مربی دانشگاه علوم

پزشکی شهرکرد، دانشکده پزشکی،

گروه انگل‌شناسی

دکترای ایمونولوژی، دانشیار دانشگاه علوم

پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و

مولکولی

دکترای ایمونولوژی، استادیار دانشگاه علوم

پزشکی شهرکرد، دانشکده پزشکی،

گروه ایمونولوژی

تاریخ وصول: ۱۳۸۵/۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۹/۲۶

مؤلف مسئول: دکتر حسین یوسفی

پست الکترونیک: H_yousofi@yahoo.com

مقدمه

کیست هیداتیک مرحله لاروی انگل سستودی
اکی‌نو‌کوکوس گرانولوزوس است که باعث آلودگی
احشاء دامها و انسان می‌گردد. آلودگی انسان به
کیست هیداتیک از نقاط مختلف ایران گزارش شده
است (۱-۳). در لایه داخلی اکثر کیست‌های هیداتیک
تعداد زیادی پروتواسکولکس وجود دارد که در چرخه
زندگی انگل نقش مهمی داشته است و در صورتی که
این کیست‌ها به وسیله سگ خورده شوند هر
پروتواسکولکس می‌تواند در روده این حیوان به یک
کرم بالغ تبدیل شود. در صورتی که کیست‌های
هیداتیک مستقر در احشاء انسان در اثر ضربه یا هر
علت دیگر پاره شوند پروتواسکولکس‌ها در احشاء
مجاور منتشر شده و هر پروتواسکولکس می‌تواند یک
کیست هیداتیک جدید ایجاد کند که به آن کیست ثانویه
می‌گویند (۴). با توجه به این واقعیت پیشگیری از ایجاد
کیست‌های هیداتیک ثانویه در انسان از اهمیت بالایی
برخوردار است. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که
ایمن‌سازی حیوانات آزمایشگاهی با آنتی‌ژن‌های
پروتواسکولکس هموژنیزه شده و یا پروتواسکولکس
ضعیف شده ایمنی مؤثری علیه عفونت تجربی کیست
هیداتیک ثانویه ایجاد می‌کند (۵). در این مطالعه به
منظور پیشگیری از ایجاد کیست‌های هیداتیک ثانویه
تأثیرات حفاظتی آنتی‌ژن‌های سطحی استخراج شده با
چند دترژنت در مقایسه با آنتی‌ژن پروتواسکولکس
هموژنیزه مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه تجربی است که بر
روی ۳۰ موش بالب - سی^(۱) در سال ۱۳۸۳
در آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه
علوم پزشکی شهرکرد انجام گرفته است. مدل
آزمایشگاهی کیست هیداتیک در موش به وسیله
محققین مختلف طراحی گردیده است (۶-۷). مطالعات
قبلی نشان داده‌اند که موش‌های بالب - سی حساسیت
بالایی نسبت به عفونت کیست هیداتیک دارند و مناسب
برای مطالعات ایمنونولوژیک این انگل مناسب
می‌باشند (۸). موش‌های بالب - سی مورد استفاده در
این تحقیق از انستیتو پاستور ایران خریداری
گردیدند.

حجم نمونه مطابق مطالعات انجام شده در
زمینه تحقیقات واکسن انگل‌ها شش موش برای هر
گروه برآورد گردید (۹). در این مطالعه چهار گروه
شش‌تایی از موش‌های بالب - سی با آنتی‌ژن‌های
پروتواسکولکس هموژنیزه شده (گروه مورد ۱)،
آنتی‌ژن سطحی استخراج شده با دترژنت اس‌دی‌اس^(۲)
(گروه مورد ۲)، آنتی‌ژن سطحی استخراج شده با
تری‌تون ایکس-۱۰۰^(۳) (گروه مورد ۳) و آنتی‌ژن
سطحی استخراج شده با توئین - ۸۰^(۴) (گروه مورد ۴)
مورد تزریق قرار گرفتند. به منظور حصول پاسخ
ایمنی مناسب تمام آنتی‌ژن‌های فوق با حجم مساوی
از ادجوانت آلوم^(۵) مخلوط و تزریق گردیدند. یک گروه

1-Balb/c
2-SDS
3-Triton x-100
4-Tween 80
5-Alum Adjuvant

برای تهیه پروتواسکولکس‌های هموزنیزه شده، ابتدا نمونه استوک پروتواسکولکس‌ها از فریزر خارج می‌گردید تا ذوب شود. این عمل فریز و ذوب شدن^(۲) چند بار تکرار شد. سپس تعدادی گلوله شیشه‌ای (پرل) داخل لوله ریخته شد و هم حجم پروتواسکولکس‌ها محلول پی‌بی‌اس اضافه گردید و لوله با ورتکس به مدت ۱ ساعت به شدت تکان داده شدند تا محتوای پروتواسکولکس‌ها خارج شده و آنتی‌ژن‌های عمقی و سطحی آزاد شود. بعد از سانتریفوژ، مایع رویی در لوله دیگری ریخته شد و میزان پروتئین آن اندازه‌گیری گردید.

آنتی‌ژن‌های سطحی از محتویات کیست هیداتیک با استفاده از دترژنت‌های مختلف تهیه شد. بعد از شستشوی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک رسوب حاصل از پروتواسکولکس‌های زنده در سه لوله آزمایش توزیع گردید و با اضافه کردن پی‌بی‌اس حجم هر لوله به ۱/۵ سانتی‌متر مکعب رسانده شد. سپس ۱/۵ سانتی‌متر مکعب اس‌دی‌اس ده درصد به لوله اول، ۱/۵ سانتی‌متر مکعب تریتون ایکس - ۱۰۰ ۳۰ درصد به لوله دوم و ۱/۵ سانتی‌متر مکعب توئین - ۸۰ ۳۰ درصد به لوله سوم اضافه گردید.

سه لوله به مدت دو ساعت روی شیکر قرار داده شدند. در مرحله بعد لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول رویی لوله‌ها به وسیله سمپلر جدا و در لوله‌های تمیز

شش‌تایی موش ب‌الب - سی نیز به عنوان گروه شاهد مورد تزریق ادجوانت آلوم تنها قرار گرفت. تمام موش‌های گروه مورد به فاصله هر دو هفته دو یادآور از آنتی‌ژن‌های مربوط فوق در مخلوط با ادجوانت آلوم دریافت نمودند. موش‌های گروه شاهد همزمان با موش‌های گروه‌های مورد فقط ادجوانت آلوم به عنوان یادآور دریافت نمودند. دو هفته بعد از تزریق آخرین یادآور همه موش‌های گروه‌های مورد و شاهد به منظور ایجاد کیست‌های ثانویه با پروتواسکولکس زنده کیست هیداتیک آلوده گردیدند. سه ماه بعد از آلودگی همه موش‌ها کشته شدند و کیست‌های هیداتیک تشکیل شده در حفره شکمی آنها شمارش گردید.

برای تهیه پروتواسکولکس، کیست‌های هیداتیک ریه و کبد گوسفند از کشتارگاه‌های استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری و به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل گردید. در آزمایشگاه مایع کیست هیداتیک با استفاده از سرنگ‌های ده و پنج میلی‌متری تخلیه گردید. این مایع به مدت ۲-۳ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و مایع رویی دور ریخته شد. رسوب که همان پروتواسکولکس‌ها بودند سه بار با محلول پی‌بی‌اس^(۱) شستشو داده شدند. در نهایت این پروتواسکولکس‌ها یا به عنوان منبع تهیه آنتی‌ژن فریز شدند یا به عنوان پروتواسکولکس زنده به موش‌ها تزریق گردیدند.

1-PBS
2-Freeze-thaw

یافته‌ها

تعداد کیست شمارش شده در گروه شاهد و چهار گروه مورد شامل؛ گروه تزریق شده با پروتواسکولکس هموژنیزه شده، آنتی‌ژن استخراج شده با دترژنت توئین - ۸۰، آنتی‌ژن استخراج شده با دترژنت اس‌دی‌اس و آنتی‌ژن استخراج شده با تریتون ایکس - ۱۰۰ در جدول ۱ نشان داده شده است.

آزمون آماری تی دانشجویی نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین تعداد کیست در گروه شاهد و گروه تزریق شده با پروتواسکولکس هموژنیزه شده و گروه‌هایی که با آنتی‌ژن‌های استخراج شده با دترژنت‌های اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ تزریق شده بودند وجود دارد، در حالی که اختلاف بین تعداد کیست گروهی که با آنتی‌ژن سطحی که با دترژنت توئین - ۸۰ استخراج شده و گروه شاهد از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

آنتی‌ژن‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل؛ پروتواسکولکس هموژنیزه شده و آنتی‌ژن‌های استخراج شده با دترژنت‌های توئین - ۸۰، اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ به همراه مارکر در ژل پلی‌اکریل‌امید الکتروفورز گردیدند و ژل حاصل شده با کوماسی بلو رنگ‌آمیزی گردید. در ناحیه آنتی‌ژن‌های استخراج شده با دترژنت‌ها، باندهای مشاهده نگردید، اما وقتی ژل با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد باندهای ضعیفی مشاهده گردید.

به صورت جداگانه جمع‌آوری گردید و به عنوان آنتی‌ژن‌ها استخراج شده با استفاده از دترژنت‌های توئین - ۸۰، اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ مورد استفاده قرار گرفت. پروتئین آنتی‌ژن‌های فوق اندازه‌گیری گردید.

آنتی‌ژن‌های مورد آزمایش در حجم مساوی با ادجوانت آلوم مخلوط گردیدند. سپس به هر موش گروه مورد حجم ۲۰۰ میکرولیتر آنتی‌ژن توأم با ادجوانت آلوم تزریق گردید. از حجم فوق ۱۰ میکرولیتر مربوط به استرپتومایسین و پنی‌سیلین بود تا از ایجاد آلودگی میکروبی پیشگیری شود. در این آزمایش مقدار پروتئین تزریق شده به هر موش در حجم ۲۰۰ میکرولیتر به ترتیب؛ ۲۵ میلی‌گرم برای آنتی‌ژن پروتواسکولکس هموژنیزه شده، ۱ میلی‌گرم برای آنتی‌ژن اس‌دی‌اس، ۱ میلی‌گرم برای آنتی‌ژن توئین - ۸۰ و ۰/۵ میلی‌گرم برای آنتی‌ژن تریتون ایکس - ۱۰۰ بود.

تمام موش‌های گروه مورد و شاهد دو هفته بعد از آخرین تزریق از راه داخل صفاقی مورد تزریق هزار پروتواسکولکس زنده در حجم ۲۰۰ میکرولیتر حاوی ۱۰ واحد استرپتومایسین و ۱۰ واحد پنی‌سیلین قرار گرفتند.

تمام موش‌هایی که مورد تزریق پروتواسکولکس زنده قرار گرفته بودند سه ماه پس از تزریق به روش قطع نخاع کشته شده و حفره شکمی آنها از نظر کیست هیداتیک مورد بررسی قرار گرفت. کلیه نکات اخلاقی در مورد کار با حیوانات رعایت گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS^(۱) و

آزمون آماری تی دانشجویی^(۲) تحلیل گردید.

1-Statistical Package for Social Sciences
2- T- test

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار کیست‌های هیداتیک شمارش شده در حفره صفاق موش‌های گروه مورد و شاهد سه ماه پس از تزریق پروتواسکولکس زنده

تعداد کیست	آنتی‌ژن	پروتواسکولکس هموژنیزه	اس‌دی‌اس	تریتون ایکس - ۱۰۰	توئین - ۸۰	شاهد
میانگین	۲/۳	۳	۳/۴	۲/۶	۵/۸	
انحراف معیار	۲/۸	۲	۱/۵	۲	۱/۷	
سطح معنی‌داری	/۰۲	/۰۳	/۰۴	NS*		

*NS: Not Significant

بحث و نتیجه گیری

کیست هیداتیک مرحله لاروی کرم سستوداکی‌نووکوکوس گرانولوزوس است. انسان از طریق خوردن تخم انگل که با مدفوع سگ دفع می‌گردد آلوده می‌شود. کیست هیداتیک در احشاء داخلی انسان و بعضی حیوانات مستقر می‌شود و هر گاه کیست هیداتیک پاره شود پروتواسکولکس‌های داخل آن ممکن است به خارج راه یافته و داخل بافت میزبان ایجاد کیست‌های جدیدی موسوم به کیست ثانویه بنمایند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ایمن‌سازی موش‌ها با پروتواسکولکس هموژنیزه شده باعث ایجاد مقاومت نسبت به آلودگی می‌گردد. در این مطالعه به منظور یافتن راهی برای پیشگیری از کیست‌های هیداتیک ثانویه خاصیت حفاظت‌کنندگی آنتی‌ژن‌های سطحی پروتواسکولکس که با دترژنت‌های مختلف تهیه گردیده اند مورد بررسی قرار گرفته است.

نتایج این تحقیق نشان داد که آنتی‌ژن هموژنیزه پروتواسکولکس و همچنین آنتی‌ژن‌های سطحی استخراج شده با دترژنت‌های اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ در مدل حیوانی اثر محافظتی بر ایجاد کیست‌های ثانویه دارند. اثر محافظتی پروتواسکولکس هموژنیزه شده در جلوگیری از ایجاد

کیست‌های ثانویه در موش‌ها به وسیله دمپستر و همکاران^(۱) (۱۹۹۲) نشان داده شده است (۸). در مورد آنتی‌ژن‌های سطحی هم می‌توان به مطالعه هراندز و نایتو^(۲) (۱۹۹۴) اشاره کرد. آنها آنتی‌ژن‌های سطحی پروتواسکولکس کیست هیداتیک را با دترژنت مگا - ۱۰^(۳) استخراج نمودند و با ادجوانت ناقص فروندز^(۴) به صورت داخل صفاقی به موش‌های سیدی‌ای^(۵) تزریق نمودند و موش‌های مذکور را در معرض پروتواسکولکس زنده قرار دادند. نتایج نشان داد که این آنتی‌ژن اثر محافظتی معادل ۷۸ درصد در پیشگیری از کیست‌های هیداتیک ثانویه داشته است (۵):

مولکول‌های سطحی استخراج شده به وسیله دترژنت‌هایی که ایمنی محافظتی در برابر کیست هیداتیک ثانویه ایجاد می‌کنند باعث برانگیخته شدن ایمنی هومورال و سلولی می‌گردند. هیث و لاورنس^(۶) (۱۹۹۵) نشان دادند که در دو هفته اول عفونت ثانویه ابتدا جمعیت سلول‌های تی افزایش می‌یابد و سپس یک کاهش در سلول‌های تی و یک افزایش در سلول‌های

1-Dempster et al

2-Hernandez & Nieto

3-Mega10

4-Ferund's Incomplete Adjuvant

5- Ferund's complete Adjuvant

6-Heath & Lawrence

پلازما سل دیده می‌شود (۱۰). همچنین به نظر می‌رسد که تزریق آنتی‌ژن سطحی با دترژنت باعث تولید آنتی‌بادی‌های محافظت‌کننده در مقابل عفونت ثانویه می‌گردد. در این رابطه هراندز و نایتو (۱۹۹۴) نشان دادند که پس از تزریق آنتی‌ژن‌های سطحی استخراج شده با مگا - ۱۰ تیترا آنتی‌بادی ایمونوگلوبولین جی^(۱) یک ماه پس از تزریق به موش‌ها قابل شناسایی بوده و تا انتهای آلودگی نیز وجود داشته است (۵). در این رابطه نقش ایمنی سلولی و همورال در ایجاد محافظت در برابر کیست‌های هیداتیک ثانویه در مدل حیوانی نشان داده شده است (۱۱). بعد از الکتروفورز آنتی‌ژن‌های استخراج شده با دترژنت‌ها در ژل پلی‌اکریل‌آمید و رنگ آمیزی ژل با کوماسی بلو، بانندی مشاهده نگردید. با توجه به این واقعیت به نظر می‌رسد آنتی‌ژن‌های سطحی که در این تحقیق موجب محافظت شده‌اند عمدتاً از جنس کربوهیدرات می‌باشند. در این رابطه نقش گلیکوپروتئین‌ها در ایجاد محافظت در انگل‌های دیگر نشان داده شده است (۱۲).

از مکانیسم‌های مؤثر ایجاد پروتکس در آزمایش‌های مربوط به این تحقیق اطلاعات زیادی در دسترس نیست. به همین دلیل پیشنهاد می‌گردد تأثیرات ایمونولوژیکی آنتی‌ژن‌های تزریق شده مورد تحقیق قرار گیرد.

در این بررسی آنتی‌ژن سطحی استخراج شده با توئین - ۸۰ اثر حفاظتی در مقابل کیست هیداتیک نداشته است. به نظر می‌رسد این دترژنت یا موفق به استخراج مولکول‌های مسئول محافظت نشده است و یا

اگر آنها را از روی تگمنت^(۲) پروتواسکولکس جدا نموده احتمالاً شکل این مولکول‌ها را تغییر داده‌اند، به طوری که دیگر قادر به تحریک سیستم ایمنی به صورت مؤثر نبوده‌اند.

به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که میانگین تعداد کیست‌های تشکیل شده در گروه‌های مورد و شاهد تفاوت آماری معنی‌داری داشت. همچنین آنتی‌ژن‌های استخراج شده با توئین، اس‌دی‌اس و تریتون ایکس - ۱۰۰ حاوی مواد محافظت‌کننده در برابر ایجاد کیست‌های ثانویه می‌باشند. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات بعدی ملکول‌هایی که اثر حفاظتی دارند شناسایی شوند.

تقدیر و تشکر

هزینه انجام این تحقیق به وسیله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأمین گردیده است، لذا بدین وسیله از معاونت و کارکنان محترم معاونت پژوهشی دانشگاه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

1-IgG
2-Tegument

A Survey about Protective Effect of Echinococcus Granulosus Protoscolices Surface Antigens in Preventing Secondary Hydatid Cyst

Yousofi H[†],
Hashemzadeh M^{},**
Kohansal K^{*},**
Zabardast N^{*},**
Shirzad H^{**},**
Shahabi G^{***}**

[†]Associate Professor of Parasitology, Cellular & Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

^{**}Associate Professor of Human Genetics, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

^{***}MSc of Parasitology, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

^{****}Associate Professor of Immunology, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

KEYWORDS

**Secondary hydatid cyst,
Surface antigens,
Protoscolices,
Protection**

Received:12/6/1385

Accepted:26/9/1385

Corresponding author: Yousofi H
Email: H_yousofi@yahoo.com

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Hydatid cyst is located in human and some animal visceral organs such as liver and lung. The disease is considered as a medical, veterinary and economical problem in endemic area. When the hydatid cyst is ruptured, protoscolices from inside the cyst may spread out to other parts of the body and develops a new cyst named secondary hydatid cyst. In this research in an attempt to prevent secondary hydatid cyst, protective potential of protoscolices surface antigens extracted with different detergents has been investigated in animal model.

Materials & Methods: In this experimental study, groups of Balb/c mice were immunized intra-peritoneally with protoscolices homogenate and three detergent (SDS, Tween and Triton x-100) extracted protoscolices surface antigens and alum as adjuvant. These mice were then boosted two times with the same antigens fortnightly. Control mice were simultaneously injected with alum alone. Two weeks following the last injection all the mice in cases and control groups were challenged with live protoscolices. Three months afterward all the mice in case and control groups were sacrificed and their peritoneal cavities were explored for hydatid cysts.

Results: The mean of developed cyst number in mice injected with protoscolices homogenate was 3 ± 2 , while in control group the mean of developed cysts number was 5.8 ± 1.7 ($p < 0.02$). The mean of developed cyst number in mice injected with SDS, Tween and Triton x-100 extracted protoscolices surface antigens was 3, 3.6 and 3.4, respectively, while the mean of developed cyst number in control group was 5.8.

Conclusion: The mean of cyst number in cases and control groups was different and this difference was statistically significant. Results of this investigation revealed that protoscolices homogenate antigens and some detergent extracted antigens are protective against secondary hydatid cyst infection

REFERENCES:

1. Ansari Lari M. A retrospective survey of hydatidosis in livestock in Shiraz, Iran, based on abattoir data during 1999-2004. *Vet Parasitol* 2005;133(1):119-23.
2. Dalimi A, Motamedi G, Hosseini M, Mohammadian B, Malaki H, Ghamari Z, et al. Echinococcosis/hydatidosis in western Iran. *Vet Parasitol* 2002;105(2):161-71.
3. Yousofi Darani H, Avijgan M, Karimi K, Manouchehri K, Masood J. Seroepidemiology of hydatid cyst in Chaharmahal va Bakhtiari province of Iran. *Iranian Journal of public health* 2003;23(2): 31-3.
4. Mandell GL, Bannet JE, Raphael D. Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. United States of America : Churchill livingstone company; 2000;2960-3.
5. Hernandez A, Nieto A. Induction of protective immunity against murine secondary hydatidosis. *Parasite Immunol* 1994;16(10):537-44.
6. Zhang W, You H, Li J, Zhang Z, Turson G, Aili H, et al. Immunoglobulin profiles in a murine intermediate host model of resistance for *Echinococcus granulosus* infection. *Parasite Immunol* 2003; 25(3):161-8.
7. Fotiadis C, Sergiou C, Kirou J, Troupis TG, Tselentis J, Doussaitou P, et al. Experimental *Echinococcus* infection in the mouse model: pericystic cellular immunity reaction and effects on the lymphoid organs of immunocompetent and thymectomized mice. *In Vivo* 1999; 13(6): 541.
8. Dempster RP, Berridge MV, Harrison GB, Heath DD. *Echinococcus granulosus*: development of an intermediate host mouse model for use in vaccination studies. *Int J Parasitol* 1991; 21(5): 549-54.
9. Darani HY, Curtis RH, McNeice C, Price HP, Sayers JR, Doenhoff MJ. *Schistosoma mansoni*: anomalous immunogenic properties of a 27 kDa larval serine protease associated with protective immunity. *Parasitology* 1997;115 (Pt 3):237-47.
10. Heath DD, Lawrence SB. Antigenic polypeptides of *Echinococcus granulosus* oncospheres and definition of protective molecules. *Parasite Immunol* 1996;18(7): 347-57.
11. Al-Qaoud KM, Abdel-Hafez SK. Humoral and cytokine response during protection of mice against secondary hydatidosis caused by *Echinococcus granulosus*. *Parasitol Res* 2005 ; 98(1): 54-60.
12. Curtis RH, Fallon PG, Doenhoff MJ. Sm480: a high molecular weight *Schistosoma mansoni* antigen associated with protective immunity. *Parasite Immunol* 1996; 18(3): 149-57.