مجلهٔ علوم دانشگاه تهران جلد۱۶ شماره های ۱ و ۲ سال ۱۳۶۶ از صفحهٔ ۵۷ تا ۶۸

# روشهای سرولوژی ومقایسه با آزمون پوستی در کیست هیداتید

دکتر منوچهر شهامت و معصومه هوشداران*

گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه تهران

دکتر حمیدرضا رضائی

گروه میکروبشناسی‌وایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شیراز

## چکیده

هدف ازاین بررسی ارزیابی آزمون پوستی ومقایسه آن با روشهای سرولوژیکی می‌باشد. برای این منظور ازمایع کیست‌هیداتید انسان بعنوان آنتی‌ژن استفاده نموده وسعی‌گردید بوسیله جوشاندن تاحدی خالص‌گردد. مقداری ازاین‌آنتی‌ژن نیزجهت مقایسه بصورت ناخالص استفاده شد. پس‌از تعیین پروتئین و نیتروژن آنتی‌ژن و تنظیم مقدار نیتروژن آن به اندازه دلخواه، برای ارزیابی قدرت آنتی‌ژنی ونیز یافتن الگو و تعداد آنتی‌ژنهای قابل رسوب، نمونه‌ای ازآنتی‌ژن‌های فوق را به‌چند خرگوش تزریق و سرم آنها را باطرق مختلف مانند رسوب در ژل، کانترایمونوالکتروفورز، الکترواایمونودیفیوژن، کراس الکترواایمونودیفیوژن مورد بررسی قرارگرفت. نتایج حاصله در تجزیه سرم خرگوش وانسان بایکدیگر مقایسه‌گردید.

همچنین بمنظور مقایسه، ازاین آنتی‌ژن در آزمون پوستی بیماران مبتلا به کیست‌هیداتید استفاده نموده و این آزمایش باآزمایش کانترایمونوالکتروفورز مقایسه‌گردیده است.

# Evaluation of Casoni Test in the diagnosis of Hydatid diseases and compare it with serological-test.

**Dr. M. Shahamat and M. Hooshdaran**

*Biology Dept, Faculty of Science, Tehran Unive.*

**Dr. H. R. Rezai**

*Microbiology and immunology Dept, Medicine School Shiraz Univ.*

## Abstract

Hidatidosis has been recognized since long time ago.

Although, many advances has been occurred in immunology in recent years, and by means of the immunological techniques, the diagnosis of the disease becoming easier, but due to the technical problems in some cases application of all the tests in the routine laboratory works are not easy.

Finding the opporpriate and purified antigen is the main problem of every serological test. Much works have been done in this field. Some of the workers used hydatid fluid as an autigen and tried to purify it by dialysis, lyophilization, or boiling.

* آدرس فعلی: گروه میکروبشناسی و ایمونولوژی دانشکدهٔ پزشکی - علوم پزشکی تهران

In our experiments the hydatid fluids (boiled or unboiled) were used. Thus the hydatid fluids of six patients were mixed and then divided in two parts.First part after boiling, centrifugation and filtration and the second part after centrifugation and filtration were used in all experiments for the evaluation of the antigenicity of the samples, the hydatid fluids were injected into four rabbits intradermaly and their sera were examined by geldiffusion, counterimmunoelectroforesis' electroimmunodiffusion, and crosselectroi_mmunodiffusion. The experiments were also performed with sera of the hydatidosis patients. With camparison of the results it was shown that in boiled antigens, some of the heavy molecules were broken into light and nonpercipitable molecules and some of the molecules were lost,

Skin tests were done with both antigens in hydatidosis patients and control groups, The results suggest boiled antigens were not suitable for the skin test. The results of counter tests have shown that the mixed antigens were more sensitive and more specific than single antigen.

## مقدمه

اکی نوکوکوسیس یا بیماری هیداتیدیکی از بیماریهای مشترك انسان وحیوان است که‌گستردگی جهانی داشته ولاروکرم میتواند در بخشهای مختلف بدن کیست بوجود بیاورد. هیداتیدوز یا بیماری مربوط به‌این انگل براساس نوع، تعداد کیست ومحل جایگزینی علائم متفاوتی بوجود می‌آورد. اغلب بیماران علائم مشخصه بالینی ندارند. از نشانه‌های آن فشاری است که با بزرگ شدن کیست به‌اندامهای مجاورمی‌آید ویا یکی از اندامهای آلوده ازکار می‌افتد.

در بعضی‌مواردنیز باپاره‌شدن کیست‌و ورودپروتئین های آن در میزبان‌شوك‌ایجاد میشود(براون، ۱۹۸۲ وسویت‌وهمکاران،۱۹۷۳ وعزیزی، ۱۳٤٦) به‌همین‌جهت تشخیص این‌بیماری ضروری‌است .

این بیماری بارادیوگرافی وآزمایشهای سرولوژیکی تشخیص داده میشود (ویلیام،۱۹۷۲). روشهای سرولوژیکی‌متفاوت بوده و معمولاقسمتهای‌مختلف کیست به‌عنوان آنتی‌ژن‌استفاده میشود. ولی مهمترین‌قسمت کیست‌که خاصیت آنتی‌ژن دارد مایع کیست و اسکولکس‌آن‌است (بنستد، ۱۹۵۳). روشهای ایمونولوژیکی برای تشخیص کیست‌هیداتیداز سال۱۹۰٦ که‌گدینی[1] روش‌ثبوت‌مکمل را به‌کاربرد و ۱۹۱۱ که‌کازرونی‌از روش آزمون پوستی استفاده نمود، معمول‌گردید.

ازآن تاریخ تاکنون روشهای سرولوژیکی مختلفی ابداع گردیده‌که برخی به‌علت بالابودن هزینه وبرخی به‌دلیل صرف وقت زیاد امروزه فقط در تحقیقات اپیدمیولوژی ازآنها استفاده‌میشود (اردهالی و همکاران، ۱۹۷۷). میزان حساسیت آزمونهای‌ایمونو-لوژیکی در تشخیص کیست‌هیداتید متغیر بوده و بستگی به‌شرایط فیزیکی کیست مانند بارور بودن، آهکی‌بودن، دست‌نخورده بودن و نیز محل قرارگرفتن کیست و عفونی نبودن آن دارد ( کی‌گان[2] ۱۹٦۸ ، کاپرون[3] ۱۹۷۰ ، یارزابل[4] ۱۹۷۳ لیکن در مجموع حساسیت آزمایشهای سرولـوژیکی در تشخیص کیست‌های کبدی بیشتر ازکیست های‌ریوی است ( اردهالی و همکاران، ۱۹۷۷).

دراین بررسی وتحقیق سعی براین بوده است‌که با استاندارد نمودن مایع کیست هیداتید، تاحدی ازغیر ویژگی آزمون پوستی کاسته وحساسیت این روش برای تشخیص بیماری نامبرده‌افزایش داده شود. درضمن همراه باآزمون پوستی، جهت مقایسه، سرم‌بیماران مشکوك توسط آزمایش کانترایمونوالکتروفورز نیز مورد مطالعه قرارگرفته است.

## مواد و روش آزمایش

الف‌ـ تهیه آنتی‌ژن : برای تهیه آنتی‌ژن‌ازمایع کیست‌هیداتید دست نخورده وزایا وعفونی نشده بیماران مبتلا به‌کیست‌هیداتید که در بیمارستانهای شیرازمورد عمل جراحی قرارگرفته‌اند استفاده شده است. این مایع را در شرایط استریل جدا وسپس برای مدت ۲۰ دقیقه با ۲۰۰۰-۱۵۰۰۰ دورسانتریفوژ نموده وفازمایع درشرایط استریل در $^{o}c$ ۷۰ ـ نگهداشته میشود.

ب‌ـ تهیه آنتی‌ژن مخلوط: ازهریك از ٦ نمونه مایع کیست به‌دست آمده از بیماران ۱۰سانتی‌متر مکعب برداشته و پس از مخلوط نمودن به‌دو قسمت مساوی تقسیم‌گردید.

٤۵سانتی‌مترمکعب‌این‌مایع به‌مدت ۲۰دقیقه با ۲۰۰۰-۱۵۰۰۰ دورسانتریفوژو سپس‌فازفوقانی راباصافی میلی‌پور (۰/۲۲ میکرون)

1) Ghedini 2) Kagan 3) Capron 4) Varzabel

صاف و در شرایط استریل در °c ۲۰ - نگهداری شد. این قسمت از آنتی‌ژن دراین مقاله به‌نام آنتی ژن معمولی (خام) آمده است.

۴۰سانتی‌مترمکعب دیگر را به‌مدت ۱۰ دقیقه در ظرف آب جوش بطور غیر مستقیم حرارت داده و سپس در دور ۲۰۰۰ - ۱۵۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژوپس از صاف‌نمودن باصافی میلی‌پور ( U ۲۲/۰ Gs )، فاز فوقانی در °c ۲۰- نگهداری گردید دراین مقاله‌این آنتی‌ژن بنام‌آنتی‌ژن جوشیده نامیده شده است.

تزریق آنتی‌ژن به‌حیوان: برای این منظور از ۴خرگوش به وزن تقریبی ۱/۵ کیلوگرم استفاده شده است به‌دو خرگوش آنتی‌ژن معمولی وبه‌دو خرگوش دیگر آنتی ژن جوشیده به‌ترتیب زیرتزریق گردیده است. به‌هر خرگوش چهار تزریق بافواصل معین انجام گرفته است. درنوبت اول و دوم (به‌فاصله یک هفته) چهارسانتی مترمکعب آنتی‌ژن در محلهای پشت‌گردن، پهلوی راست، پهلوی چپ و کف‌پا ودر نوبت سوم، (به‌فاصله ۴ روز از تزریق دوم) همان مقدار آنتی‌ژن ودر نوبت چهارم (به فاصله یک هفته از نوبت‌سوم) ۲سانتی‌متر مکعب ازآنتی‌ژن درمحلهای ناسبرده تزریق شد. در فاصله هرنوبت، برای تعیین‌وجود آنتی کور، ازگوش خرگوشها خون گرفته ونهایتاً پس‌ازاطمینان ازوجود آنتی کورخون‌گیری ازخرگوشها انجام ودر آزمایشهای مختلف بکار برده شده است.

آنتی‌ژن‌های موردمصرف درآزمایش پوستی: پس از تعیین پروتئین بروش لوری ونیتروژن‌بروش کجدال مایع کیست‌هیداتید، آنرا باسرم فیزلوژی رقیق کرده وبرای جلوگیری ازآلودگی میکروبی به‌آن ۲٪گرم تیمرسال به‌ازاء هر ۱۰۰ میلی‌لیتر آنتی‌ژن اضافه‌گردید ودر °c ۲۰ - نگهداری شد.

تهیه سرم فیزیولوژی به‌عنوان شاهد: ازسرم فیزیولوژی ۸/۵ درهزار به‌عنوان شاهد در تزریق پوستی استفاده‌گردید.

اندازه‌گیری پروتئین: بااستفاده ازسرم آلبومین کریستاله‌گاوی به‌عنوان استاندارد، پروتئین موجود در واحد حجم آنتی‌ژن راطبق روش لوری وهمکاران محاسبه‌گردید.

آزمایش رسوب درژل: این آزمایش براساس روش اکتولونی انجام‌گردید (اردهالی و همکاران، ۱۹۷۷).

آزمایش کانترایمونو الکتروفورز: این آزمایش براساس‌تکنیک اردهالی وهمکاران انجام شد.

روش‌آزمایش: ۲۵سانتیمتر مکعب ازآگار مذاب را در داخل صفحات مخصوص ۸×۳/۵ سانتی‌مترمکعب ریخته وپس‌از سفت شدن حفره‌هائی به‌فاصله۶-۵ میلی‌متر در دو ردیف درآن تعبیه‌شد.

سرم غیرفعال شده بیمار در حفره سمت آندوآنتی‌ژن در حفره سمت کاتدگذارده شد.

سپس صفحه به‌مدت ۴۵ دقیقه به‌جریان ۴میلی آمپر به‌وسیله دستگاه مخصوص تبدیل کننده جریان‌متناوب به‌جریان مستقیم‌وصل گردید. در این شدت جریان، آنتی‌ژن در۸/۲=pH به‌طرف آند (قطب مثبت) وآنتی کور به‌طرف کاتد (قطب منفی) حرکت میکنند اگر درسرم بیمار آنتی کور برضدآنتی‌ژن محلول باشد. باهم ترکیب شده درحد فاصل دو حفره خط ویا خطوط رسوبی ایجاد میگردد. بعدازنگهداری این صفحه‌ها در ۴درجه سانتیگراد خطوط رسوبی واضح تر دیده میشوند.

الکترواپمونودیفیوژن: این روش براساس تکنیک سویت و همکاران با تغییراتی که‌بوسیله کهن‌طب وهمکاران داده‌شده انجام گردید.

کراس الکترواپمونودیفیوژن: این آزمایش براساس تکنیک سویت و همکاران که به‌وسیله کهن‌طب وهمکاران ایشان تعدیل شده است انجام شد.

روش رنگ‌آمیزی: برای بهتر مشخص نمودن خطوط رسوبی داخل ژل، ازرنگ آمیدوبلک استفاده‌گردید.

مشخصات بیماران: بیماران مورد مطالعه بیمارانی بودند که برای معالجه کیست هیداتید براساس علائم و مشخصات بالینی که در بیمارستانهای شیراز بستری شده بودند و همچنین بیماران مشکوک به‌کیست هیداتید که سرم‌آنها برای آزمایشهای سرولوژیکی فرستاده شده بود. بیماران بستری در بیمارستان سعدی که مبتلا به‌امراض دیگری‌غیراز کیست هیداتیدبودند نیزبه‌عنوان شاهد مورد مطالعه قرارگرفتند.

تزریق پوستی: با سرنگ ۱ میلی‌لیتری یک بار مصرف، ۰/۱ میلی‌لیتر از آنتی‌ژن را به‌صورت داخل پوستی‌تزریق و محل تزریق با علامت مشخص‌گردید. برای کنترل نیز از ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استفاده شد.

آلرژی زودرس: ۲۵-۲۰ دقیقه پس از تزریق، محل تزریق مورد بررسی قرار گرفت. قطر قرمزی و تورم به وسیله خط‌کش میلیمتری اندازه‌گیری‌شد. درجه‌بندی‌نتایج‌حاصله مطابق جدول زیر براساس ضوابطی که توسط نوئل‌رز[1] و هرمن فریدمن[2] درکتاب Manual of Clinical Immunology پیشنهاد شده است ارزیابی‌گردید.

1- Noel - Rose 2- Herman - Friedman

| برجستگی برحسب میلیمتر | قرمزی برحسب میلیمتر | درجه بندی |
|---|---|---|
| ۰ | ۰ | O |
| ۱۰ - ۵ | ۱۰ - ۵ | ± |
| ۱۰ - ۵ | ۲۰ - ۱۱ | ۱+ |
| ۱۰ - ۵[a] | ۳۰ - ۲۱ | ۲+ |
| ۱۵ - ۱۰[b] | ۴۰ - ۳۱ | ۳+ |
| ۱۵ | ۴۰ | ۴+ |

a- برجستگی ویابرجستگی به‌علاوه پاهای کاذب

b- برجستگی ویا برجستگی به‌علاوه تعداد زیادی پاهای کاذب

واکنش آرتوس: ۱۰-۸ ساعت پس از تزریق، محل تزریق ازنظر واکنش آرتوس مورد بررسی قرارگرفت (فوندنبرگ وهمکاران، ۱۹۷۳).

آلرژی تأخیری: روش اندازه‌گیری آلرژی تاخیری بر اساس تکنیک پلگرینووهمکاران انجام گرفت. در این روش قرمزی وسفتی پس از ۳۶-۲۴ ساعت بعد از تزریق آنتی‌ژن بررسی شد. سطح برجستگی براساس فرمول زیرمحاسبه‌گردید.

مجذور شعاع . $\pi = A$ (سطح برجستگی)، اندازه یک سانتیمتر مربع یا بیشتر به عنوان واکنش مثبت تلقی میگردد (بلگرینو و همکاران، ۱۹۶۱).

نتایج حاصل: مقدار پروتئین هرکدام از نمونه ها بطور جداگانه اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین نمونه ها بطور متوسط از ۲۳/۹ میلی‌گرم درهرمیلی لیتر تا ۱۸۴/۲ میلی‌گرم در هر میلی لیتر متغیر بود. پس از مخلوط کردن نمونه مقدار پروتئین آنتی‌ژن مخلوط را به‌صورت خام (نجوشیده) وجوشیده اندازه‌گیری ونتایج زیرحاصل گردید. مقدار پروتئین آنتی‌ژن نجوشیده، ۷۶/۲ میلی‌گرم درهر میلی‌لیتر و آنتی‌ژن جوشیده ۶۵/۲ میلی‌گرم درهر میلی لیتر بود. سپس باتبدیل پروتئین به‌نیتروژن ازفرمول نتایج زیربدست آمد.

مقدارنیتروژن × ۶/۲۵ = مقدار پروتئین مقدارنیتروژن‌آنتی‌ژن نجوشیده، ۱۲/۱۹۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی لیتر و مقدار نیتروژن آنتی‌ژن جوشیده، ۱۵/۴۳۲ = میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر.

مطالعه قدرت آنتی‌ژنی کیست‌هیداتید: الف ـ قدرت آنتی‌ژن پس از تزریق به‌خرگوش: مایع کیست‌هیداتید ناخالص‌وجوشیده طبق روشی که به‌آن اشاره شدبه‌خرگوش تزریق گردید. درفاصله هر تزریق، خون‌خرگوشها برای وجود آنتی‌بادی به‌طریقه رسوب درژل مورد آزمایش قرارگرفت. نتایج حاصل نشان داد که‌در سرم خرگوشها در ۳ تزریق اولیه هیچگونه آنتی‌بادی بوجودنیامده بود. یک هفته پس‌از تزریق‌چهارم‌نتایج‌بدست آمده به‌شرح زیرمی‌باشد.

۱- سرم خرگوشها شماره ۱ و ۲ که‌باآنتی‌ژن نجوشیده تزریق شده بود یک خط رسوب را نشان میداد.

۲- سرم خرگوش شماره۳ که با آنتی‌ژن جوشیده تزریق شده بود نیز خط رسوبی شبیه خرگوشهای ۱ و ۲ظاهرنموده ولی درسرم خرگوش‌شماره ۴ هیچگونه آثاری‌ازوجود آنتی‌بادی مشاهده‌نگردید. (عکس‌شماره ۱)آزمایش کانترایمونوالکتروفورزبرروی‌سرم‌خرگوشها: سرم هر چهار خرگوش بطور جداگانه باروش کانترایمونوالکتروفورز مورد آزمایش قرارگرفت.

آنتی‌ژن به کاربرده شده دراین آزمایش مایع ناخالص کیست هیداتید بود. خرگوشهای ۱و۲ خط رسوبی واضحی نشان دادند. خرگوش شماره ۳ خط رسوب ضعف وخرگوش شماره ۴ هیچگونه خط رسوبی نشان نداد. به‌عبارت دیگر، نتایج حاصله عیناً شبیه آزمایش رسوب درژل بود. (عکس شماره ۲).

آزمایش الکترواایمونودیفیوژن: آزمایش‌الکترواایمونودیفیوژن برروی سرم‌های ۴ خرگوش ذکر شده انجام‌گرفت.

همان‌گونه که در عکس‌های شماره ۳و۴ملاحظه میشودسرم متعلق به‌خرگوشهای شماره ۱و۲ خطوط رسوبی تقریباً مشابهی با ارتفاعات مختلف تولیدمیکنند. هردوسرم باآنتی‌ژن نجوشیده ایجاد دوخط‌رسوبی به‌ارتفاع ۷ و ۶۴ میلیمتر نمودند ولیکن باآنتی‌ژن جوشیده یک خط رسوبی کمرنگ دیده شد. سرم خرگوش‌شماره ۳ یک خط رسوب ضعیف با آنتی‌ژن ناخالص تولید نمود و لیکن هیچگونه خط‌رسوبی‌باآنتی‌ژن‌جوشیده نشان نداد. (عکس‌شماره۵)

سرم خرگوش شماره ۴، باآنتی‌ژن‌های جوشیده و نجوشیده هیچگونه واکنشی نشان نداد (عکس شماره ۶).

ب‌ـقدرت آنتی‌ژنی مایع کیست هیداتید درسرم انسان مبتلا

به کیست هیداتید:

۱- رسوب درژل: این آزمایش باسرم ۶ بیمار مبتلا انجام گرفت. باآنتی‌ژن نجوشیده تقریباً ۵ سرم از ۶ نمونه مورد آزمایش جواب مثبت دادند. باآنتی‌ژن جوشیده، فقط سه سرم از ۶ سرم بیمار مبتلا به کیست هیداتید جواب مثبت داده و سایر سرمها، خطوط رسوبی تولید نکردند. (عکس ۷، ۸)

آزمایش کانترایمونوالکتروفورز: باسرم ۵ بیمار مبتلا به کیست هیداتید آزمایش کانترایمونوالکتروفورز نیز انجام گرفت. با آنتی‌ژن نجوشیده، ۵ نمونه ازسرم تولید خط رسوبی نموده ولی با آنتی‌ژن جوشیده فقط یک نمونه ازسرم ایجاد خط رسوبی کرد. ( عکس شماره ۹ )

آزمایش الکتروایمونودیفیوژن: سرم ۱۰ بیمار مبتلا به کیست هیداتید به دوگروه تقسیم شد ۵ ر. سانتیمترمکعب ازهریک از سرمهای ۵ بیمار را با یکدیگر مخلوط وباآن آزمایش الکتروایمونودیفیوژن انجام گرفت.

نتایج آزمایش چنین است: سرمهای مخلوط یک‌دسته باآنتی ژن نجوشیده دوخط رسوب باطول‌های ۸ و ۳۶ میلی‌متر را بوجود آورد. همین سرمها، با آنتی‌ژن جوشیده فقط یک خط رسوب به‌طول ۳۴ میلیمتر ایجاد نمود (عکس شماره ۱۰)

سرمهای مخلوط دسته‌دوم باآنتی‌ژن نجوشیده سه‌خط رسوب با طولهای ۳/۶ ، ۲/۱۳ و ۲۱ میلی‌مترایجاد کرد وباآنتی‌ژن جوشیده یک خط رسوب به‌طول ۲۷ میلی متربوجود آورد. (عکس شماره ۱۱).

آزمایش کراس الکتروایمونودیفیوژن: ۵ ر. سانتی‌مترمکعب ازسرم ۵ بیمار مبتلا به کیست هیداتیدرا بایکدیگر مخلوط وبا آن‌آزمایش کراس الکتروایمونودیفیوژن انجام گرفت. باآنتی‌ژن نجوشیده دو خط رسوبی به‌طول ۶/۵ و ۲۱ سیلیمتر وبا آنتی‌ژن جوشیده فقط یک خط رسوبی به‌طول ۲۹ میلی‌متر دیده شد(عکس شماره ۱۲ و ۱۳).

آزمایش پوستی: مقدار پروتئین و نیتروژن آنتی‌ژن مخلوط نجوشیده وجوشیده را تعیین وپس‌از آن‌مقدار نیتروژن آن طوری تنظیم گردید که درهر میلی‌لیتر آن تقریباً ۳۰ میکروگرم نیتروژن باشد ۵ ر. سانتی‌مترمکعب ازهریک ازآنتی‌ژنهای ناخالص وجوشیده برای آزمایش پوستی به کار برده شد.

نتایج آزمایش پس از ۲۰-۲۵ دقیقه برای آلرژی‌انافیلاکسی ۸-۱۰ ساعت برای واکنش‌آرتوس و ۲۴-۳۶ ساعت جهت آلرژی تأخیری مشاهده ونتایج آن یادداشت شد. آزمایش پوستی باآنتی ژن ناخالص وجوشیده رقیق شده درمورد ۱۲ بیمار که وجود کیست در آنان باعمل‌جراحی ثابت شده ونیز ۶ بیماری که برای بیماریهای مختلف در بیمارستانهای شیراز بستری بودند انجام گرفت . شدت واکنش آلرژی فوری در بیماران از ۲ تجاوز ننمود و آلرژی تأخیری و واکنش‌آرتوس درمورد همه آنها منفی بود. لذا چنین تصور شد که این‌مسئله مربوط به کمی میزان نیتروژن موجود در آنتی‌ژن باشد . بنابراین تصمیم گرفته شد که آنتی‌ژن رقیق شده ناخالص برای آزمون‌پوستی بیماران بکار برده شود.

تزریق پوستی بیماران باآنتی‌ژن ناخالص: ۵ ر. سانتی‌مترمکعب ازآنتی‌ژن‌ناخالص که دارای ۲/۷۶ میلی‌گرم پروتئین و ۱۲/۱۹۲ میلی‌گرم نیتروژن درهر میلی‌لیتر آن است برای آزمون‌پوستی بکار برده شد. وجود کیست در بیماران باعمل‌جراحی به‌اثبات رسیده و پراکندگی کیست به‌شرح زیر بود:

کیست کبد ۲۰ نفر، کیست ریه ۱۷ نفرو کیست سایراحشاء ۴ نفر، دو بیمار مبتلا به کیست کبد و کیست‌ریه بودند.

کنترل. مجموعاً از ۳۰ بیمار بستری وسرپائی که مبتلا به کیست هیداتید نبودند و نیز افراد سالم تشکیل شده بود . مدفوع کلیه افراد کنترل برای وجود تنیا فاسیولاهپاتیکا[1] مورد آزمایش انگل شناسی قرارگرفت . نتایج بدست آمده بدین‌ترتیب بود :

۱- به‌نظر میرسد آنتی‌ژنی که دارای ۱۲/۱۹۲ میلی‌گرم نیتروژن درهر میلی‌لیتر باشد مناسبتر ازآنتی‌ژنی است که دارای ۳۰ میکروگرم نیتروژن درهر میلی‌لیتر باشد.

۲-۳۹ نفر از ۴۳ نفر آلرژی فوری مثبت و۲۷ نفر از ۴۳ نفر آلرژی تأخیری مثبت نشان دادند.

نتیجه‌گیری آماری : با استفاده از آزمون Chi - Squere مشخص میگردد که دربین بیمارانی که آلرژی فوری آنافیلاکسی درآنها +۳و+۴ بود هیچگونه تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای موجود نیست درصورتیکه بین واکنش های +۳و+۴ با +۲ اختلاف قابل‌ملاحظه‌ای با احتمالی کمتر از ۵ درصد (P< ٪۵)مشاهده‌گردید. دراین‌مقاله بیمارانی که مبتلا به کیست‌هیداتید بودند ولی واکنش+۱ را نشان دادندمنفی واز +۲ تا +۴ مثبت‌گرفته شده‌است.

۲- در آزمایش آلرژی فوری‌انافیلاکسی‌نسبت به‌آلرژی‌تأخیری حساسیتی برابر با ۸۳ درصد وویژگی‌برابر با ۹۱ درصد مشاهده‌میشود.

۳- بین‌آلرژی‌تأخیری وآزمایش کانترایمونوالکتروفورزحساسیتی برابر ۶۶ وویژگی برابر با۷۵ درصد بدست آمده است. بنابراین نتیجه‌گیری میشود که آزمایش کانترایمونوالکتروفورز آزمایش مورداستفاده در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده‌پزشکی دانشگاه شیراز وواکنش تأخیری (گرچه دو پدیده مختلف راانداره‌گیری میکنند) ازلحاظ کاربرد یکی هستند وحساسیت‌وویژگی هردویکسان میباشد. درصورتیکه آزمایش کانترایمونوالکتروفورز وآلرژی فوری

1- Tenia Faciula Hypa tica

انافیلاکسی ازنظر حساسیت وویژگی یکسان نمی‌باشد.

**بحث**

از زمانیکه بیماری کیست‌هیداتید شناخته شد، بشر درصدد یافتن علت بیماری، راههای تشخیص و طرق مبارزه باآن بوده‌است. مانند هربیماری عفونی، محققین ابتدا طرق بالینی وسپس روشهای آزمایشگاهی را برای تشخیص این بیماری مورد بررسی وپژوهش قرار داده واز روشهای سرولوژیکی مختلفی استفاده نمودند. مشکل هرآزمایش سرولوژی‌یافتن آنتی‌ژن مناسب ونسبتاً خالص است که دراین موردعده‌ای از محققین مایع کیست‌هیداتید را بعنوان آنتی ژن موردمصرف قرار داده وسعی نمودند به‌صورت مختلف ازجمله، دیالیزکردن، پودرکردن ویاجوشاندن آنرا خالص نمایند. برخی نیز ازاسکولکس ویاغشاء پودر شده کیست‌هیداتید بعنوان آنتی‌ژن استفاده نموده‌اند. دراین بررسی سعی شده است‌آنتی‌ژن مناسبی برای آزمون پوستی وروش کانترایمونوالکتروفورز تهیه شود.

بعلاوه این روش ازنظر حساسیت واختصاصی‌بودن برای تشخیص بیماری کیست‌هیداتید در رابطه بامحل کیست مورد بررسی قرار داده‌شد. برای این‌منظور مایع کیست‌هیداتید از چند بیمار مبتلا تهیه وسعی‌شد بوسیله جوشاندن تاحدی خالص‌گردد. پس ازتعیین پروتئین ونتیروژن بدست آمده وتنظیم مقدارنیتروژن آن بمیزان ۱۲/۱۹۲ میکروگرم درهر میلی‌لیتر، آن‌را برای‌ارزیابی قدرت آنتی‌ژنی ونیزیافتن الگو وتعداد آنتی‌ژنهای قابل رسوب، نمونه‌ای ازآنتی‌ژنهای فوق را به‌چند خرگوش تزریق‌و سرم آنها را باطرق مختلف مانند رسوب درژل، کانترایمونوالکتروفورز الکترو ایمونودیفیوژن‌مورد بررسی قرارگرفت. نتایج حاصله در تجزیه‌سرم خرگوش وانسان نشان داد که درآنتی‌ژن جوشیده قسمتی از ملکولهای بزرگ به‌ملکولهای کوچکتر غیرقابل رسوب تبدیل میگردد. به‌همین‌علت درروش ژل‌دیفیوژن‌و دانترایمونو الکتروفورز خطوط رسوب از ۲ درآنتی‌ژن نجوشیده به‌یک خط‌رسوب درآنتی‌ژن جوشیده تقلیل می‌یابد. همچنین حرکت آنتی‌ژنها نیز درموردآنتی ژن نجوشیده در فاصله کمتری از مبدأ نسبت به آنتی‌ژن جوشیده مشاهده میشود- دراین بررسی سرم بیماران مبتلا به کیست‌هیداتید نیز به‌منظور سنجیدن قدرت آنتی‌ژنی مایع کیست هیداتید مورد مطالعه قرارگرفته ونتایج مشابهی مانند آنچه درخرگوش وباتزریق مصنوعی بدست آمده بود حاصل شده است. در آزمایش رسوب درژل‌و کانترایمونوالکتروفورز، باآنتی‌ژن نجوشیده خطوط رسوبی واضح وباآنتی‌ژن جوشیده، خطوط رسوب‌ضعیف‌تری مشاهده‌میشود سایر محققین هم جهت تعیین تعداد خطوط رسوبی درمایع کیست‌هیداتید، ازروش ایمونوالکتروفورز استفاده نموده‌اند، که با آنتی‌ژن وآنتی‌بادی دست‌نخورده نتیجه رضایت‌بخشی بدست نیامده است. زیراظاهراً آنتی‌ژن‌های موجود درمایع کیست دست نخورده خطوط رسوبی چندانی باسرم انسان مبتلا ایجاد ننمود ( دوتورینی و همکاران ۱۹۷۷ ) . به‌همین‌جهت این محققین تصمیم گرفتند از آنتی ژن و آنتی‌بادی تغلیط شده برای انجام ایمونوالکتروفورز و تعیین تعداد خطوط رسوب استفاده نمایند. با این روش دقیق ، محققین توانسته‌اند درحدود ۹ ، خط رسوب با مایع کیست‌هیداتید گوسفند مبتلا بدست آورند( کردی وهمکاران، اوریول‌و همکاران).

روش الکتروایمونودیفیوژن بطورکلی روش چندان حساس برای تعیین آنتی‌ژنهای مختلف مایع کیست‌هیداتید نیست. شاید به‌همین‌دلیل است که تعداد خطوط رسوبی دریافته ماازبیش ۳ خط تجاوز نمیکندبه‌علاوه در آزمایشهای انجام‌گرفته ازمایع کیست هیداتید انسان استفاده شده است که مسلماً ترکیبات آن بامایع کیست‌هیداتید حیوانات دیگر مثلاگوسفند متفاوت میباشد. شاید مناسب باشد که مایع مخلوط کیست‌هیداتیدگوسفند باروش الکترو ایمونودیفیوژن ازنظر قدرت و الگوی‌آنتی‌ژنی موردمطالعه قرارگیرد ونیز مایع کیست‌هیداتید انسان با روش ایمونوالکتروفورز به‌همین منظور مورد تجزیه واقع‌شود. برای آزمون‌پوستی دربیماران مبتلا و نیزگروه کنترل از هردو آنتی‌ژن فوق استفاده شده است. نتیجه‌بدست آمده در آزمون پوستی بیانگر آن است که آنتی‌ژنی که به وسیله جوشاندن تاحدی خالص شده برای‌آزمون پوستی‌مناسب نبوده‌است، زیرا این آنتی‌ژن در اکثر موارد واکنش مثبتی در بیماران ایجاد ننموده است. به‌علاوه واکنش ضعیفی که در بیماران مبتلا به کیست‌هیداتید ایجاد شده تقریباً مانندواکنشی است که در افراد سالم ویا بیمارانی که مبتلا به کیست‌هیداتید نبوده مشاهده‌میگردد بنابراین تصمیم‌گرفته شداز مخلوط مایع کیست‌هیداتید بدست‌آمده ازچند بیمار مبتلا به کیست‌هیداتید بدون‌جوشاندن ویاخالص کردن استفاده‌گردد. آزمون پوستی باآنتی‌ژن اخیر درمورد ۴۳ بیمار مبتلا به کیست‌هیداتید و ۳۰ کنترل ازافراد سالم ویا بیمارانی که مبتلا به کیست‌هیداتید نبودند انجام‌گرفته است که نتیجه حاصله رضایت بخش می‌باشد. بدین‌معنی که این آنتی‌ژن ۸۳ درصد حساسیت و ۹۱ درصدویژگی از خود نشان میدهد. نتایج بدست آمده در مورد مقایسه آنتی‌ژن ناخالص وجوشیده دراین آزمایش‌با نتایج بدست آمده توسط ویلیام (۱۹۷۲) ویارزایل (۱۹۷۵) تطبیق نمی‌کند. محققین نامبرده درآزمایشهای خود دریافتند که آزمایش پوستی با آنتی‌ژن جوشیده در مقایسه باآنتی‌ژن ناخالص از حساسیت‌زیادتری برخوردار است . شاید دلیل اختلاف بین یافته ما و آنچه ویلیام ویارزایل پیدا کرده‌اند مربوط به‌منشاء آنتی‌ژن مصرفی باشد. در آزمایشهای انجام شده مایع کیست‌هیداتید انسان مورداستفاده‌قرار

گرفته در حالیکه ویلیام آنتی‌ژن موردمصرف خود رااز مایع کیست هیداتیدگوسفند و یارزایل‌آنتی‌ژن مورد استفاده را از مایع کیست هیداتیدگاوی تهیه نموده‌اند واین اختلاف احتمالا مربوطبه‌میزان پروتئین‌های سرم درمایع کیست‌هیداتید می‌باشد. بطوریکه‌گزارش کرده‌اند قدرت آنتی‌ژن این مایع درکیست حیوانات مختلف متفاوت است (خرسندی و همکاران ، ۱۹۷۲).

در رابطه بامحل کیست ومثبت‌شدن آزمایش پوستی، نتایج حاصله کاملا شبیه‌به‌نتایج‌ویلیام یارزایل‌و کاگن‌است. دراین بررسی مشاهده میشود درصد بیشتری از بیماران‌دارای کیست کبدی‌نسبت به مبتلایان به‌کیست ریه مثبت می‌باشند (کاگن و همکاران ، ۱۹۶۶). دریافته ما در بین کنترل‌ها، دوبیمار غیرمبتلا به‌کیست هیداتید باآزمایش پوستی، +۲را نشان داده‌اند وبه‌عبارت دیگر مثبت کاذب بوده‌اند این‌امر شاید به‌دلیل اختصاصی نبودن‌آنتی ژن باشد. این آزمایش در بعضی از انگل‌های روده‌ای مثبت میگردد وعلت آن واکنش تداخلی است‌که بین این انگل‌وسایر سستودها وجود دارد. به‌همین‌جهت‌درتمام کنترلها، آزمایش‌مدفوع ازنظر انگل‌شناسی به‌عمل آمده است .

در آزمایش پوستی انجام شده، در ٤مورد نیز واکنش منفی کاذب مشاهده میگردد. به‌عقیده بعضی از محققین ممکن است واکنش منفی‌کاذب یا به‌علت وجود یک مرحله مقاوم‌کیست با غشاء سالم ودست نخورده باشد ویابه‌علت نازابودن‌کیست که در این حالت واکنش ایمنی ایجاد نخواهد کرد.

دراین‌بررسی، آلرژی‌فوری‌آنافیلاکسی، واکنش‌آرتوس‌وآلرژی تأخیری مورد مقایسه قرار گرفته‌اند ، نتایج حاصله نشان داد که:

اولا واکنش آرتوس دراین بیماری بوجود نمی‌آید. ثانیاً واکنش آنافیلاکسی از حساسیت‌بیشتری نسبت به‌آلرژی تأخیری برخوردار است. این یافته ما در حقیقت تأئیدی برنتایج کاگن (۱۹۶۶)، یارزایل (۱۹۷۰) و ناتانلس (۱۹۷۳) است. به‌نظر ما که در تائید نظرات کاگن میباشد بررسی هردو واکنش فوری‌و تأخیری به این آزمایش ارزش تشخیص بیشتری میدهد . زیرا با بررسی هردو واکنش به نتایج ۸۳ درصد حساسیت و ۹۱ درصد ویژگی دست یافتیم.

آزمایش دیگری که دراین پژوهش مورد مطالعه قرارگرفته ، کانترایمونوالکتروفورز است. این‌آزمایش که از سال ۱۹۷۱ تا کنون برای تشخیص این بیماری مورداستفاده قرار میگیرد و در آزمایشگاه میکروبشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه شیراز نیز بطور روزمره استفاده میگردد، چنین پیشنهاد شده که‌از سایر آزمایش‌های بدلیل ساده و سریع‌بودن برتر است (اردهالی و همکاران، پینون و همکاران، مانستو و همکاران).

در آزمایش کانترایمونوالکتروفورز با سرم ۱۰ بیمار مبتلا به کیست‌هیداتید، باآنتی‌ژن جوشیده فقطدر مورد دو بیمار خط‌رسوبی ضعیفی مشاهده میشود وسرم ۸بیمار دیگر منفی است ولیکن با آنتی‌ژن ناخالص کیست‌هیداتید ویژگی رضایت‌بخشی بدست میآید بهمین‌جهت پیشنهاد میشود که برای تشخیص آزمایشگاهی این آنتی‌ژن برآنتی‌ژن جوشیده مزیت دارد.

کاگن معتقد است درصورتی که نمونه‌های سرم به‌نسبت۱/۴ غلیظ شوند ویژگی آزمایش‌افزایش مییابد (ماگاجان و همکاران، ۱۹۷۶). عده‌ای دیگراز محققین براین عقیده‌اند که خالص‌نمودن مایع کیست هیداتید و غلیظ‌کردن سرم ، حساسیت و ویژگی این آزمایش را افزایش خواهد داد ( ماگاجان و همکاران ، ۱۹۷۶ ، مانستو و همکاران، ۱۹۸۰) .

محققینی که ازاین روش پیروی کرده‌اند همگی ازمایع کیست هیداتید ناخالص تهیه شده از یک‌بیمار یایک‌حیوان به‌عنوان‌آنتی‌ژن استفاده نموده‌اند ولیکن نتایج ما که با مخلوطی از مایع کیست‌های هیداتیدانسان بدست آمده مبین آنست‌که ازنظر حساسیت وویژگی درصد بالاتری را نشان میدهد وازاین‌نظر (حساسیت وویژگی) این آزمایش مشابه آلرژی تأخیری است، با این تفاوت که برای کانترایمونوالکتروفورز دستگاه کانتر الکتروفورز ضروری است.

برتری آزمون پوستی برسایر روشها این است‌که اولا درتمام مراکز درمانی بوسیله تکنیسین قابل‌انجام است. ثانیاً ازنظراقتصاد نیز مقرون بصرفه میباشد.

واکنش آلرژی‌فوری (انافیلاکسی) در ۴۳ بیمار مبتلا به کیست‌هیداتید در رابطه باسحل کیست درآنان :

| محل کیست | تعداد افراد مبتلا | تعداد مثبت* | درصد |
|---|---|---|---|
| کبد | ۲۲ | ۲۱ | ۹۵ |
| ریه | ۱۷ | ۱۵ | ۸۸ |
| سایراحشاء | ۴ | ۳ | ۷۵ |
| مجموع | ۴۳ | ۳۹ | ۹۱ |

$$\text{حساسیت این آزمایش} = \frac{۲۹}{۴۳} \times ۱۰۰ = ۹۱$$

* بیمارانی که شدت واکنش آلرژی فوری درآنها مساوی و یا بیشتر از +۲ بود مثبت‌گرفته شد .

واکنش‌آلرژی تأخیری* در رابطه باسحل کیست در۴۳ بیمار مورد آزمایش:

| محل کیست | تعداد افراد مبتلا | تعداد مثبت | درصد |
|---|---|---|---|
| کبد | ۲۲ | ۱۵ | ۶۸/۱۸ |
| ریه | ۱۷ | ۱۳ | ۷۶/۷۴ |
| سایراحشاء | ۴ | ۱ | ۲۵ |
| مجموع | ۴۳ | ۲۹ | ۶۸/۴۴ |

$$\text{حساسیت این آزمایش} \frac{۲۹}{۴۳} \times ۱۰۰ = ۶۷$$

*آلرژی تأخیری، ۴۸ساعت پس از تزریق آنتی‌ژن ارزیابی شد.

آزمایش کانترایمونوالکتروفورز در رابطه با محل کیست در۴۳ بیمار مورد آزمایش:

| محل کیست | تعداد افراد مبتلا | تعداد مثبت | درصد |
|---|---|---|---|
| کبد | ۲۲ | ۱۴ | ۶۴ |
| ریه | ۱۷ | ۸ | ۴۷ |
| سایراحشاء | ۴ | ۲ | ۲۵ |
| مجموع | ۴۳ | ۲۳ | ۵۳ |

$$\text{حساسیت} = \frac{۲۳}{۴۳} \times ۱۰۰ = ۵۳$$

شدت واکنش آلرژی فوری (آنافیلاکسی) در رابطه با محل کیست در ۴۳ بیمار مبتلا به کیست‌هیداتید :

شدت واکنش آلرژی فوری*

| | +۱ | | +۲ | | +۳ | | +۴ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| محل کیست | تعداد | درصد | تعداد | درصد | تعداد | درصد | تعداد | درصد |
| کبد | ۱ | ۴/۵ | ۳ | ۱۳/۶ | ۸ | ۳۶/۳ | ۱۰ | ۴۵/۴ |
| ریه | ۲ | ۱۱/۷۶ | ۴ | ۲۳/۵۲ | ۹ | ۵۲/۹۴ | ۲ | ۱۱/۷۶ |
| سایر احشاء | ۱ | ۲۵ | ۲ | ۵۰ | ۱ | ۲۵ | — | — |
| مجموع | ۴ | ۹/۳ | ۹ | ۲۰/۹ | ۱۸ | ۴۱/۸ | ۱۲ | ۲۷/۹ |

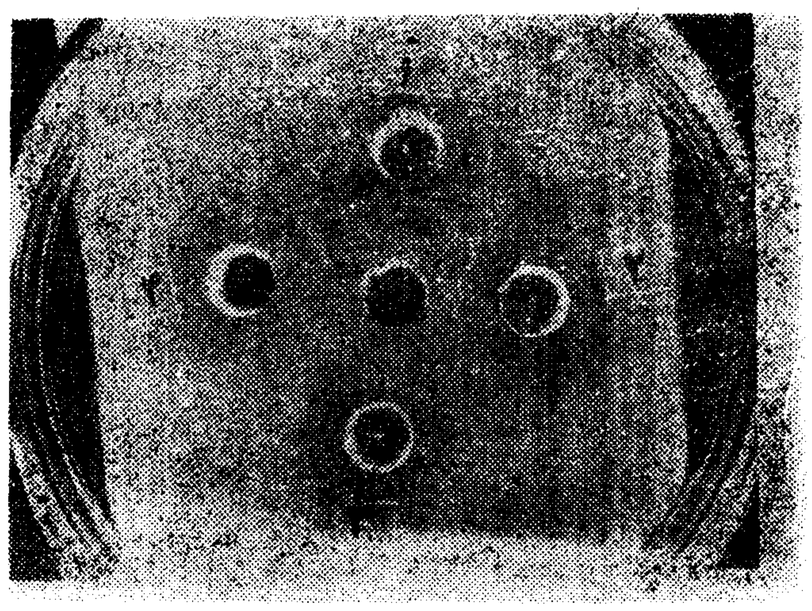
* ضابطه برای شدت واکنش:

+۱، قرمزی ۲۰-۱۱ میلیمتر وبرجستگی ۱۰-۵ میلیمتر

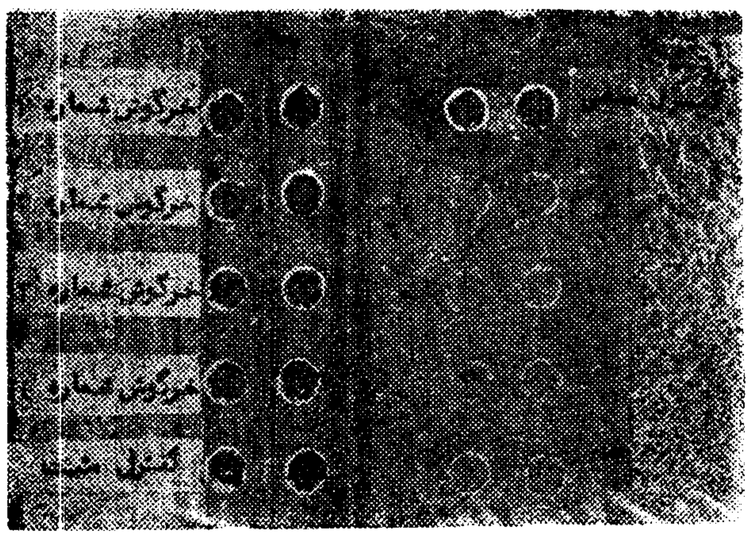
+۲، قرمزی ۳۰-۲۱ میلیمتر وبرجستگی ۱۰-۵ میلیمترکه ممکن است‌با پاهای کاذب همراه باشد

+۳ قرمزی آن ۴۰-۳۱ میلیمتر وبرجستگی آن ۱۵-۱۰ میلیمتر

+۴قرمزی آن بیشتر از ۴۰ میلیمتر وبرجستگی آن بیشتراز ۱۵میلیمتر می‌باشدکه ممکن است باپاهای کاذب‌همراه باشد.

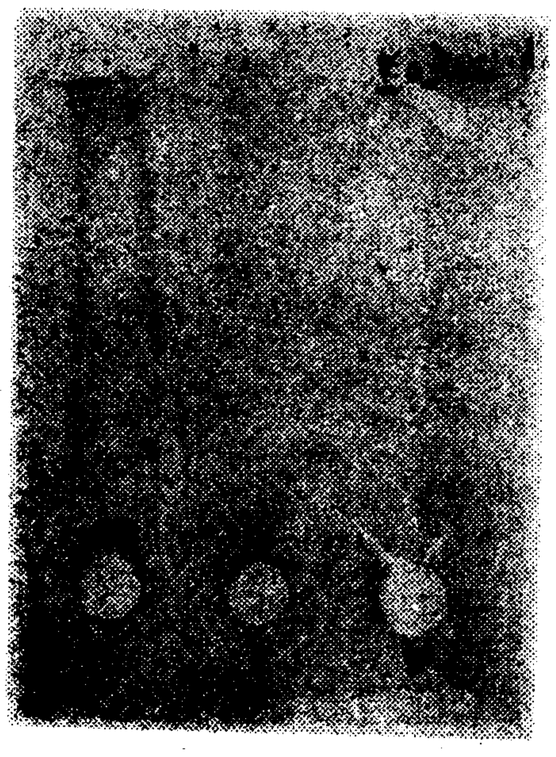


عکس شماره ۱ ـ آزمایش رسوب درژل
باسرم ٤ خرگوش

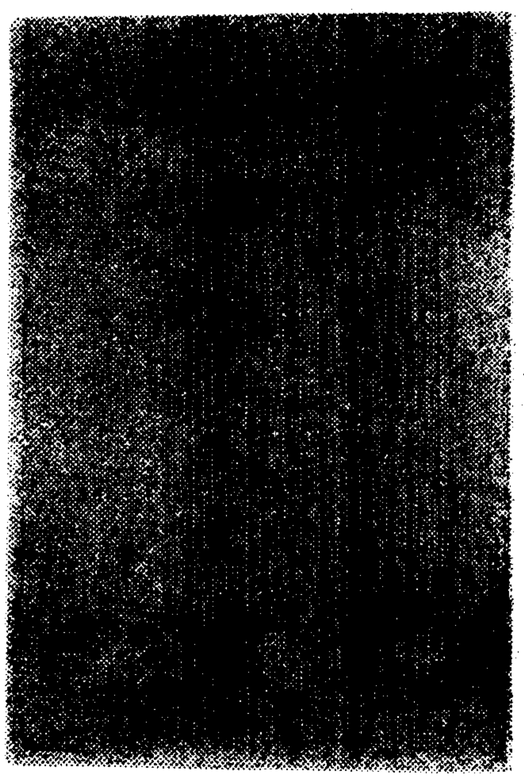


عکس شماره ۲ ـ آزمایش کانترایمونوالکتروفورز
با سرم ٤ خرگوش

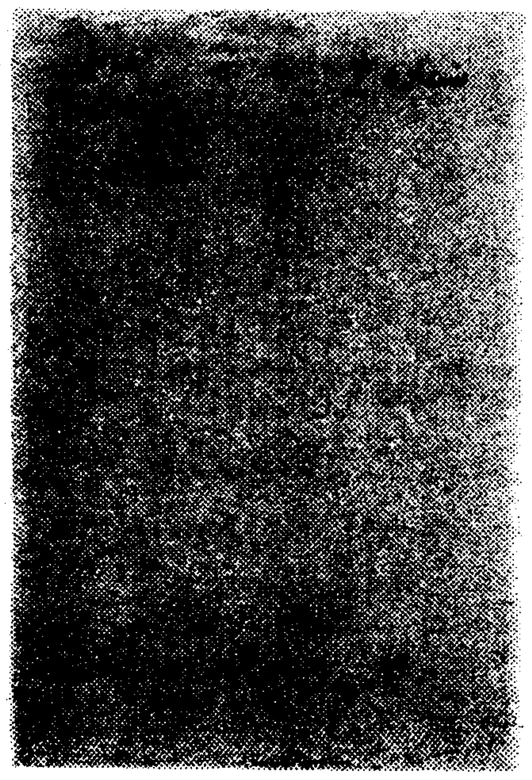
عکس شماره ۳ ـ آزمایش الکنروایمونودیفیوژن
با سرم خرگوش شماره ۱



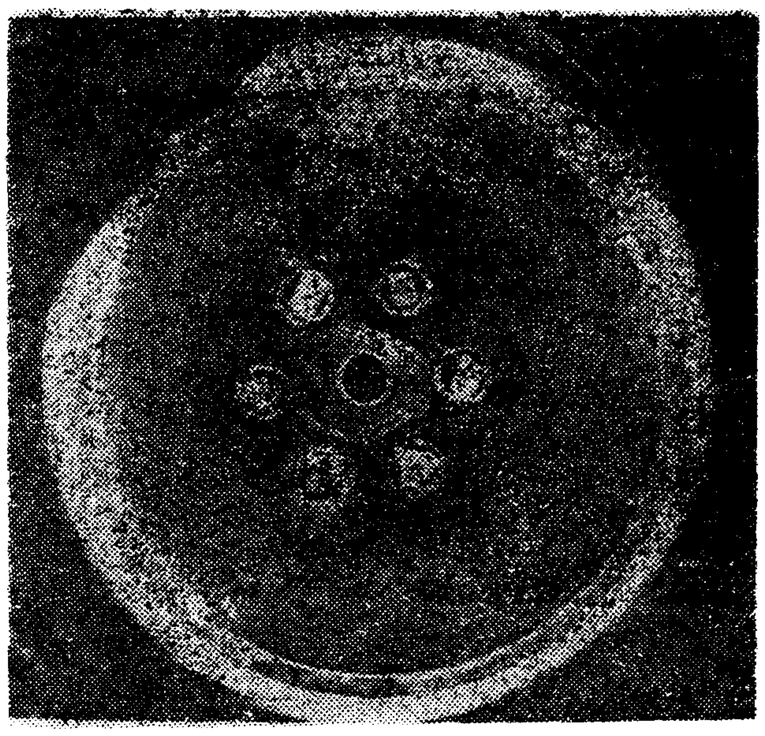
عکس شماره ٤ ـ آزمایش الکتروایمونودیفیوژن
با سرم خرگوش شماره ۲



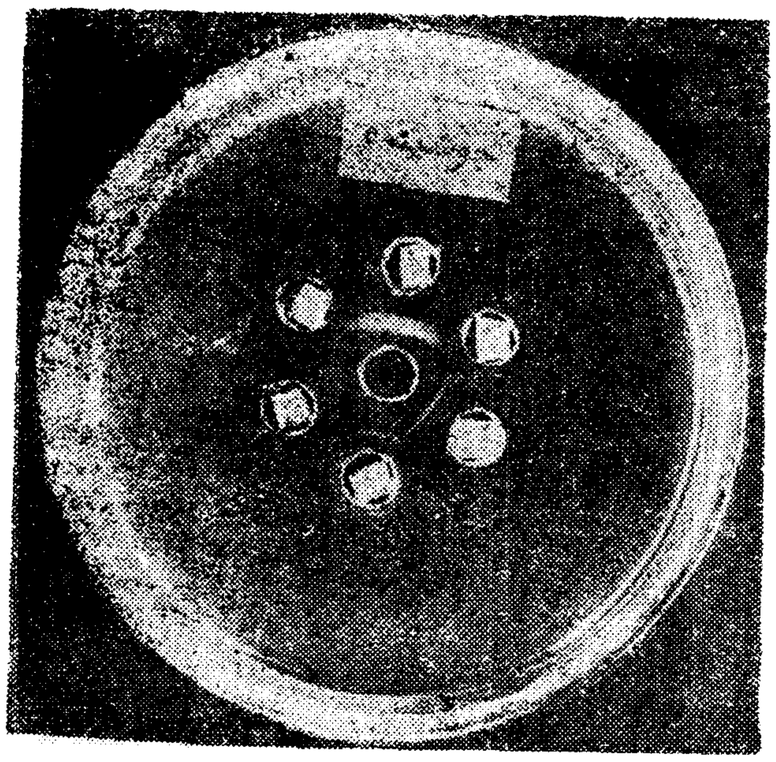
عکس شماره ٥ ـ آزمایش الکترو ایمونو ـ
دیفیوژن با سرم خرگوش
شماره ۳



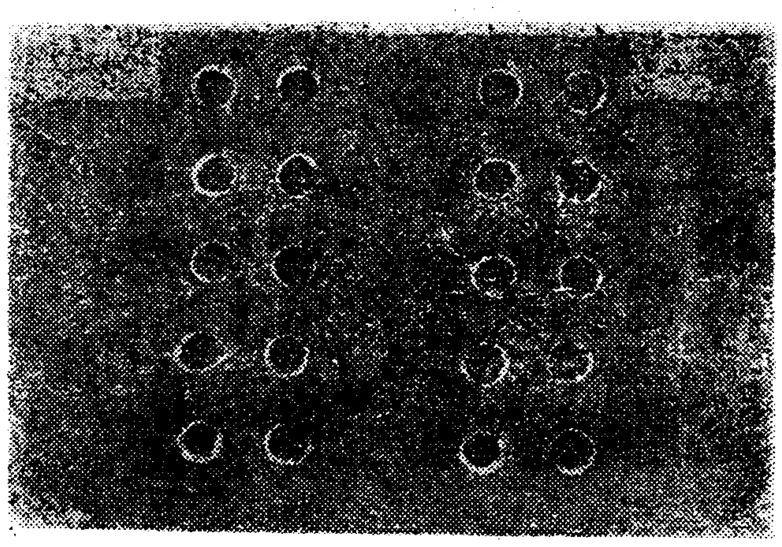
عکس شماره ٦ ـ آزمایش الکتروایمونو ـ
دیفیوژن با سرم خرگوش
شماره ٤



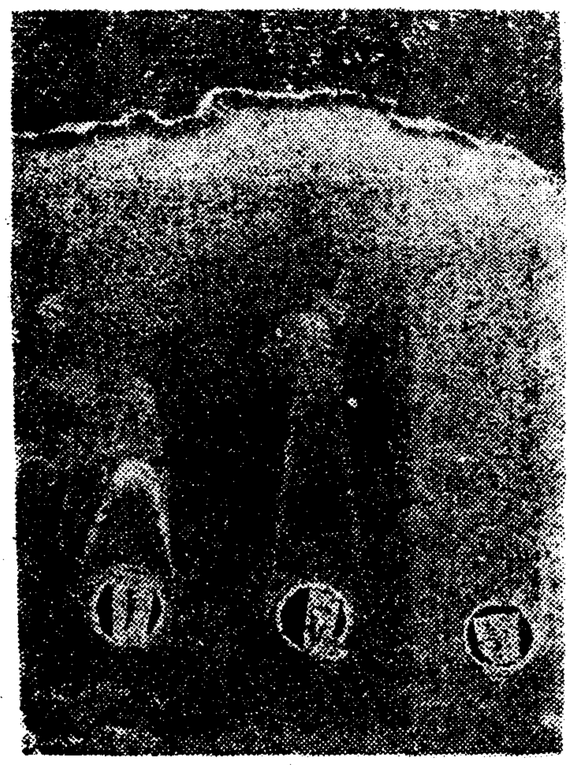
عکس شماره ۸ـ آزمایش رسوب در ژل باسرم ٦
انسان مبتلا و انتی‌ژن جوشیده



عکس شماره ۷ آزمایش رسوب در ژل با سرم ٦
انسان مبتلا وانتی‌ژن نجوشیده



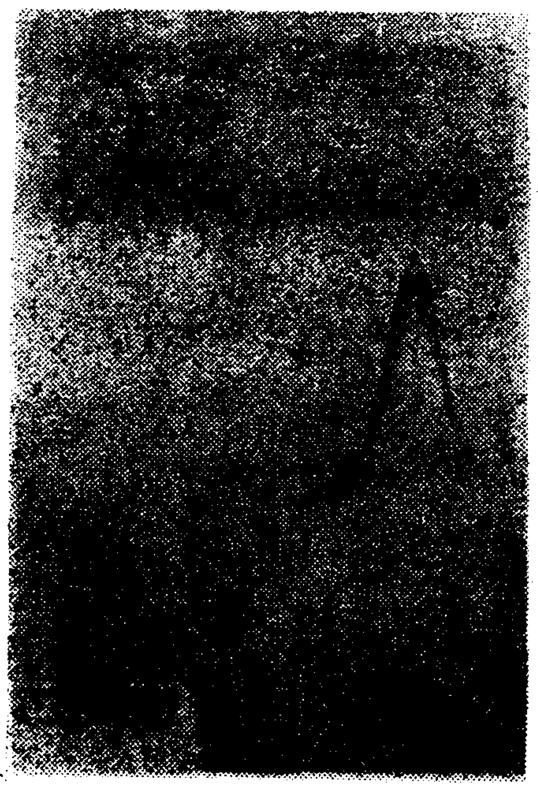
عکس شماره۹ ـ آزمایش کانترایمونوالکتروفورز
با سرم ٥ انسان مبتلا



عکس شماره ۱۰ـ آزمایش الکتروایمونودیفیوژن
با سرم ٥ انسان مبتلا

عکس شماره ۱۱ـ آزمایش الکتروایمونو-
دیفیوژن با سرم ٥ انسان
مبتلا

عکس شماره ۱۲ـ آزمایش کراس الکترو-
ایمونود یفیوژن با سرم
٥ انسان مبتلا و انتی‌ژن
نجوشیده



عکس شماره۱۳ـ آزمایش کراس الکتر-
وایمونودیفیوژن‌با سرم
٥انسان‌مبتلا و انتی‌ژن
جوشیده

## References


Ardehali. S; Kohanteb. J; Gerami. S; Behfourouz. N; Rezai, H. R. and Vaez - Zadeh. K. (1977) Evaluation of counter immunoeletrophoresis crossed electro - immunodiffusion and agar diffusion for immunodiggnosis of human hydatid disease. *Transaction of the Royal Society of Tropical* Medicine and Hygiene. **71 (6)**, 181 - 185.

Bensted. H. J. (1953) Hydatid disease Serologycal reactions with standarised reagents. *The lancet* Feb. 7. 265 - 268.

Brown. (1982) *Basic clinical Parasitology*. Appleton - Century - Crofts, Norwalk, Connecticut.

Chalambor N. (1969) *Experimental. Biochemistry*. Shiraz - Unikersity Iran. **1,** 166 - 170.

Chordi. A, and Kagan. **1**, G. (1965) Identification and characterization of Antigenic components of sheep hydatid fluid by immunoelectrophoresis. *J. of Parasitology*. **51 (1)**, 63 - 71.

Dottorini, S. and Carmelo, Tassi,(1977) Echinococcus granulosus : Characterization of the main - antigeneic component(Arc5) of hydatid fluld. *J. Parasitology*. **43**, 307 - 314.

Fundenberg. H. H. Stites. D. P. Caldwell. J. I.wells. J. V. (1978) *Basic & Clinical immunology*, Chapter. 22. Lange. Medical Publication

Kagan I. G. Pellegrino, J. and Memoria J. M. P. (1961) Studies on the standardization of the intradermal test for the diagnosis of Bilharziasis. *Am. Trop. Med.* & *Hyg*. **10**, 200 - 207.

Kagan I. G. Osmani, J. J. Varela, J. C. and Allain , D. S. (1966) Evaluation of intradermal and serologic tests for the diagnosis of hydatid disease. *Am. J. Trop. Med. and Hygiene*. **15 (2)**, 177- 197.

Kagan G.I. (1968)A review of serological tests for the diagnosis of hydatid disease. *Bull. World health Organiztion*. 39, 25 - 37.

Khorsandi, H.O. Tabibi, V. (1978) Similaritics of human Hydatid cyst fluid components and the host serum. *Acta. Medica. Iranica* **21 (2)**, 161 - 172.

Kohanteb. J, Ardehali, S, and Rezai. H. R. (1980) Studies on antigenic relationships of Leishmania promastigotes by electroimmunodiffusion and crossed electroimmunodiffusion tests. The - Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene **74 (5)** , 82 - 84.

Lowery. O. H. Resebrough, N. J. Farr. A. L. and - Randall, R. J. (1951) protient measurment with the folin. phenol. reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 - 275.

Magajan, R. C, Grangaly. N. K,Sharm. S,Chandanani. R. E. & Chitvara, N. L. (1976) Counter immo oelectrophoresis for rapid Serodiagnosis human hydatid. disease. *Indian - Journal, of Medical Research*. **64**, 1173 - 1176.

Mansueto. S, Migneco. G, Tripi. S, and picone. D. M. (1980) Simplified counterimmunoeletrop - hresis (C I EP) with a commercially produced antigen on cellulose acetate membrane for the diagnosis of hydatidosis. *Transaction of the Royal Society of Tropical medicine and Hygiene*. **74 (2)**, 260. - 261.

Noel. R. Rose and Herman Friedman. Manual of *Clinical - immunology*. Chapter 78 Skin Testing.

Oriol. R. Williams. J. F, Miguela, V. Pere & E. Sandi & Cristine. Oriol (1971) Purification of Lipo-protein antigen of Echinococcus granolosus from sheep hydatid fluid. *Am. J. of Trop. Med. and Hyg*. **20 (2)**, 569 - 574.

Pearson - Butter Worth and company(INC) *Laboratoy Technique in Food Analysis*.

solution of low nitrogen concentration. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **66 (1)**, 160 - 164.

Yarzabal. L.A, Schantz. P. M. and Lopez - lemes, M. H (1975) compative sensitivity and specificity of the casoni intradermal and the immunoele - ctrophoresis tests for the diagnosis of hydatid disease. The *Am*. j. *Trop. Med.and Hygiene*. **24** (5), 845 - 851.

Pinon. J. M. (1976) Counter - immunoelectrophoresis in the diagnosis of hydatid disease. *Lancet* **11**, 310.

Sweet, G. H, Wilson D. E and Gerber, JD. (1973) Application of electroimmuno diffusion, Comparative Serology of a micro Organism (Histo - plasma Capsulatum). *J. of immunology*. **111**, 554 - 565.

Williams. J. F ( 1972 ) An evaluation of the casoni test in human hydatidsis using an antigen —

## منابع فارسی

ارفع، فریدون(۱۳۰۱) کرم شناسی‌پزشکی جلداول. نشر دانش‌پژوه

عزیزی، دارا(۱۳٤٦) هیداتیدوز. مرکزنشردانشگاهی .