Journal Homepage: -www.journalijar.com
INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH (IJAR)
Article DOI:10.21474/IJAR01/7562
DOI URL: http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/7562

RESEARCH ARTICLE

DETECTION OF IgG ANTIBODIES AGAINST HYDATID CYST DISEASE IN HUMAN SERUM BY ELISA.

Manhal H.Salman, Shadha Abud.Algabar and Salamya E.Salman.

Manuscript Info

Manuscript History

Received: 14 June 2018
Final Accepted: 16 July 2018
Published: August 2018

Abstract

Echinococcosis is a zoonotic infection caused by developmental stages (larvae, hydiatid,metacetodes) of two kinds of tapeworms, *Echinococcus granulosus* and *Echinococcus multilocularis*, Sources of infection are final hosts (i.e. dogs for *E. granulosus* and mainly foxes for *E. multilocularis*) and food contaminated with parasite eggs. After oral ingestion of parasite eggs by humans (intermediate hosts) and hematogenous distribution inside the host, *E. granulosus* larvae (oncospheres) begin to vesiculate mainly in the liver and lungs and in other organs. The difficulty and the similarity of clinical symptoms with other diseases, the disease is diagnosed Serological ways including ELISA test.82 serum samples collected from some hospitals in Baghdad randomly. To detect the Human Hydatid Cyst disease non-visible symptoms in humans and used the ELISA test. results showed 18.29% positive case.

Copy Right, IJAR, 2018,. All rights reserved.

-

منهل حبيب سلمـــان*
شذى عبـد الجبـــار**
سلامه عيسى سلمان**

الخلاصه

يعتبر مرض الاكياس المائيه (hydatidosis**)واحد من اكثر الامراض المشتركة اهميه والناتج عن الاصابه باحد الاطوار النامیه (اليرقه ,الكيس ,والميتاسستودا) لنوعين من الديدان الشريطيه** tapeworms **وهي الـ** Echinococcus granulosus **حيث تكون الكلاب المضيف النهائي لهاوالـ** Echioncoccus multilocularis **والثعالب بصورة رئيسية المضيف النهائي لها ,وبعد دخول بيوض الطفيلي الى داخل جسم الانسان (المضيف الوسطي) يتوزع داخل جسمه عن طريق الدم وتتمركز اليرقه في الكبد والرئه بصورة رئيسية,ولصعوبه وتشابه الاعراض السريريه مع امراض اخرى يتم تشيخيص المرض بالطرق السريولوجية ومنها فحص الاليزا .تم جمع 82 عينه مصل الدم من بعض مستشفيات بغداد وبصورة عشوائية للكشف عن الاصابة بمرض الاكياس المائية الغير ظاهر الاعراض بالانسان واستخدمت عدة تشخيصية بتقنية الاليزا,وقد اظهرت النتائج** 18.29**% نسبة اصابة موجبة.**

Introduction **المقدمة**

Corresponding Author:- Manhal H. Salman.

يعتبر مرض الأكياس المائية من الأمراض المعدية والمتسببة عن الاصابة بأحد المراحل التطورية (larvae, hydatid, metacestodes) **لنوعين من الديدان الوحيدة** Echinococcus granulosus and Echinococcus multilocularis**. وتكون الاصابه بـ** .E.granulosus **واسعة الانتشار بالعالم أما الاصابة بـ** .E. multilocularis **فمقتصرة على الأجزاء الشمالية من الكرة الارضية ويعتبر الكلب المظيف النهائي ومصدرا للاصابه بـ** .E granulosus**.أما المظيف النهائي لـ** E multilocularis **فيعتبر الذئب المضيف الأول للاصابة اضافة إلى تلوث الغذاء ببيوض الطفيلي بعد دخول بيوض الطفيلي عن طريق الفم إلى داخل جسم المضيف الوسطي يبدأ بالانتشار لمختلف أنحاء الجسم ويتركز وجود اليرقة** (oncospheres)**في حالة الاصابة بـ** .E. granulosus**في منطقة الكبد وبنسبة 60% من مجموع الإصابات اضافة إلى تواجده في منطقة الرئة وبنسبه 20% ,أما باقي الأماكن بالجسم فيشكل 20% ويكون شكله كروي** unilocular **مملوء بالسوائل وبقطر يتراوح بين** 1 to 15 cm**.بينما في حالة الاصابة بـ لـ**E multilocularis **فيكون تمركز اليرقة بنسبة98% في منطقةالكبد وبدرجة ثانية بقية الأماكن كالكبد والكلية ومنطقة النخاع ألشوكي وبقية الأماكن الأخرى .**

وينمو الطفيلي داخل جسم المضيف بشكل infiltrative **وعلى شكل نمو سرطاني داخل انسجه جسم المضيف وخلال أسابيع إلى شهر يتحول شكل الطفيلي من نظام حويصلي إسفنجي التجاويف مملوءة بالحويصلات الصغيرة .وتسبب هذه الأكياس تأثيرا مرضيا في مناطق تواجدها وقد تسبب عطل في عمل الانسجه الحيوية للمضيف اوالاوعيه أو لاعضاء الجسم والأعراض المرضية نتيجة الاصابه تختلف حسب حجم وموقع الكيس أما يكون الألم في منطقه المعده او منطقه الصدر.(2)**

ويجب أن يفرق عن الأورام السرطانية سواء الحميدة منها أو الخبيثة وباستمرار انتشار نمو الأكياس داخل الجسم يؤدي الى خلل في عمل الكبد وبشكل واضح بعد فتره تمتد من 5 الى 15 سنه ,والأعراض الغير خاصة بالمرض كألم بالمعدة وبنسبه 36 % من المصابين وداء الصفار ألانسدادي وبنسبه 27 % , وفي الحالات إلى لا يتم بها العلاج تكون الاصابه مميته وبنسبه 94 % إلى 100% ,والعلاج يخفض نسبه الوفيات إلى 10-14 % . (4,2)

إن المصاب بالأكياس المائية لطفيلي E. granulosus **في الكبد يكون أكثر تحفزا لتكوين** IgG **موجبه عن الاصابه بالكيس المائي في الرئة .ولا توجد** seronegativity **في حاله الأكياس المائية . الاجسام المناعيه** IgM **من الممكن تواجدها في حاله الاصابه الحديثه او حين يحصل انفجار لاحد الاكياس المائيه نتيجه حادث ما .(10).**

ويتم تشخيص الاصابه اعتمادا على وبائيه المرض والاعرض المرضية للأكياس المائية من خلال الفحوصات الاشعائيه والسونار و computed tomography **والتقنيات السيريولوجيه ومنها فحص الاليزا ففي حاله الاصابه بـ** E multilocularis**- تتكون أجسام مناعية ضد الطفيلي داخل جسم المصاب أما في حاله الاصابه ب**E. granulosus **فتكون الاستجابة المناعية نتيجه الاصابه بالطفيلي اعتمادا على سلامه وحيوية وموقع الكيس وفي أي عضو من جسم المضيف تؤثر في الاستجابة المناعية للاصابه بالطفيلي .**

ويعد فحص الاليزا من الفحوصات ذات الحساسيه والتخصصيه العاليه للكشف عن الاجسام المناعيه سواء في مصل او بلازما الدم ضد الاصابه بالاكياس المائيه ويستخدم للكشف عن الاصابه الحاده بالمرض (IgM) **اضافه لاستخدامه في الدراسات الوبائيه للمرض .(7,3).**

المواد وطرائق البحث

1 -تم جمع نماذج السيرم (مصل الدم) من النماذج الوارده ويصوره عشوائيه من بعض مستشفيات بغداد(مستشفى الكاظميه التعليمي ,مستشفى الكندي التعليمي ,مستشفى النعمان التعليمي).

2- تم استخدام عدة تشخيصيه المانيه الصنعSERION ELISA classic Echinococcus IgG

3- تخفيف نماذج السيرم ببفر التخفيف المجهز مع العده التشخيصيه وبنسبه(1:100).

4- اضافه 100 مايكروليتر من السيرمات المخففه لكل حفر طبق الفحص مع وضع عينات السيطره الـ(+) و(-) المجهز مع العده وتترك لمده ساعه واحده بدرجه 37 درجه مئويه .

5- غسل طبق الفحص بمحلول الغسل المجهز مع عدة الفحص وبكميه 300 مايكروليتر للتخلص من المواد الزائده والغير مرتبطه بالطبق.

6- اضافه 100 مايكروليتر من الـ conjugate (Anti-human-IgG) لكل حفر الطبق وتحضن بدرجه حراره 37 درجه مئويه ولمدة نصف ساعه.

7- اعادة الخطوه رقم 5 .

8- 100 مايكروليتر من محلول substrate تضاف لكل حفر الطبق وتحضن بدرجة حراره 37 درجه مئويه ولمدة نصف ساعة .

9- 100 مايكرو ليتر من محلول الـ stop solution لايقاف التفاعل وتقرأ النتيجة بواسطة جهاز الاليزا وبطول موجيnm 405.

النتائج

اظهر الفحص لـ82 **عينه مصل الدم ان نسبه الاصابه 18.29% وقد توزعت الاصابات كما موضح في الجدول رقم (1)**

Sample\hospital	موجبة (+) positive	سالبة (-) negative	النسبه المئويه
مستشفى الكاظميه 41	9	32	21.95
مستشفى الكندي 13	2	11	15.38
مستشفى النعمان 28	4	24	14.28
82	15	67	18.29

المناقشه

استخدمت تقنيه فحص الاليزا (ELISA) للتحري عن الاجسام المناعيه ضد مرض الاكياس المائيه في الانسان والحيوان ,ويعد فحص الاليزا من الفحوصات الاكثر تخصصيه وحساسيه للكشف عن الاصابه بالاكياس المائيه .(6,1) ,وتنقسم المناعه في حاله الاصابه بمرض الاكياس المائيه الى قسمين :مناعه قبل ظهور الاعراض المرضيه وبعد ظهور الاعراض المرضيه على المريض والتي تتميز بتكوين الطبقه الجرثوميه Laminated Layer **حول الكيس المائي والتى تظهر مابين الاسبوع الثاني الى الاسبوع الرابع بعد الاصابه في المضيف الوسطي او الانسان بعد عمليه ابتلاعه للبيوض وافراز ال(**Oncosphere**)**
وممكن ان تكون فتره الحضانه لكل انواع الـــ *Echinococcosis* **أشهر الى سنتين او حتى تمتص ,والتي تعتمد بشكل كبير على موقع وسرعه نمو الكيس في جسم المصاب .ونتيجه لهذه الحاله يكون البحث عن فحص شديد الحساسيه اتجاه ادنى مستوى للاجسام المناعيه ولهذا السبب اجريت الكثير من الفحوصات المناعيه للحصول على ادق فحص لهذا المرض ,وقد اظهرت الدراسات ان السائل الموجود في الكيس المائي هو الاكثر تحفيزا لتكوين الاجسام المناعيه ضد المرض وبالتالي الكشف عن المرض باستخدام فحص الاليزا .وهذا ما ظهر واضحا ببحثنا هذا حيث ظهرت مستويات مختلفه من الاجسام المناعيه ضد مرض الالكياس المائيه الغير مشخص سريريا وبنسبة**18.29**% من الحالات التي تم فحصها بصوره عشوائيه .(9,8,5).**

التوصيات :

-تبليغ الجهات الصحية ذات العلاقة بجعل فحص التحري عن الاجسام المناعية ضد مرض الاكياس المائية الغير ظاهر الاعراض ضمن الفحوصات الدورية للنماذج الواردة الى المستشفيات ويتم بذلك التشخيص المبكر للمرض والعلاج بصورة صحيحة .
- التاكيد على التخلص السليم من مخلفات المجازر.
- الاستمرار بحملات الاباده للكلاب السائبه .

References:-

1. Biava, M.F.,Dao,A.,Fortier,B.,(2001)Laboratory Diagnosis of Cystic Hydatic Disease.World J.Surg.Jan;25(1):104.
2. Craig,Ps,Rogan,MTandCampos-Ponce,M(2003).Echinococcosis:disease,detectionand transmission,Parasilology.(suppl).127:25-s20. Gottestein, B (1984).An immunoassay for the detection of circulating antigens in human echinococcosis ,Am.J.Trop.Med.Hyg.,33:1105-1109.
3. G.r.Hashemi Tabar,A.Haghparast and H.Borji(2010).Serodiagnosis of Sheep Hydatidosis with Hydatid Fluid,Protoscolex and Whole Body of Echinococcus granulosus Antigens.W.A.S.J :9(7)788-792.
4. Gottstein,B.,(1992).Molecular and immunological diagnosis of cystic of echinococcosis.Clin.Microbiol.Rev.5(3),243-261.
5. Hashemitabar, G. R.1*; Razmi, G. and Shahroozian, A. R.(2008). Application of a modified human enzyme-linked immunosorbent assay kit for diagnosis of hydatidosis in sheep . I.J.V.R.Vol.9,No.1,Ser.No.23.
6. Lightowlers,M.W.,Liu,D,Haralambous A and Rickard.M.D.(1989).Subunit composition and specificity of the major cyst fluid anntiaens of Echinococcus granulosus.Molecular Biochemical Parasitology ,37:171-182.
7. Ortona,E,R.Rigano,B.Buttari,F.Delunardo,S.cloppolo,p.Margutti,E.Profumo,A.Teggi,S.
8. Vaccari and A.Siracusano,(2003).An update on immunodignosis of cystic ehinococcosis.Acta.Trop, 85:165-171.
9. Pedro,L.,Moro,H.Hector,E Garcia Armando,.E.Gonzales,J.Juan,Bonilla Manuela,H.Verastegui Robert and M.D.Gilman,(2005).Screening for cystic echinococcosis in an endemic region of Peru Using Portable Ultrasonography and the Enzyme-Linked Immunoelectro Transfer blot (ETTB) assay parasitol Res.,96:242-246.
10. Seyed M.Sadjjadi,Farzaneh Sedaghat,Seyed Vahid Hosseini, and Bahador Sarkari(2010).Serum Antigen and Antibody Detection in Echinococcosis:Application in Serodiagnosis of Human Hydatidsis.W.A.S.J.Vol.9 No.7.
11. S.A.Luka,I.Ajogi,I.Nock,C.Kudia and J.Umoh.(2009).Evaluation of Enzyme -Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Western Blotting for the immunodiagnosis of hydatid diseases in Sheep and Goats.J.V.M.:V.5 .N.2.