دراسة نسجية مرضية ومناعية لتأثير لقاح BCGفي نموالاكياس العدرية في الفئران المختبرية

إيناس عبد الهادي كاظم الدهيمي
كلية الطب البيطري / جامعة القادسية

الخلاصـــة

لمعرفة تأثير لقاح الـ BCG على الإصابة بالرؤيسات الأولية للأكياس العدرية في الفئران، تم استخدام(40) حيواناً من الفئران السويسرية البيضاء اللون لكلا الجنسين وقسمت بصورة عشوائية إلى ثلاثة مجاميع ضمت المجموعة الأولى (15) حيواناً منعت بلقاح الـ BCG بجرعة 0.1 مل داخل الجلد لكل حيوان ومنعت المجموعة الثانية (10 حيوانات) بمحلول دارئ الفوسفات الملحي المتعادل وعدت كسيطرة سالبة . وبعد مرور اسبوع اعطيت المجموعة الاولى جرعة منشطة من نفس المستضد وبنصف جرعة التمنيع الاولى. وبعد مرور 27 يوم من التمنيع تم إجراء فحص الحساسية المتأخرة وفحص التلازن الدموي غير المباشر وذلك باستعمال مستضد الرؤيسات الاولية وبعد مرور (30) يوم من التمنيع أعطيت حيوانات التجربة جرعة التحدي وذلك باستخدام 2000 رؤيس أولي حي داخل التجويف البريتوني، ولقحت مجموعة السيطرة الموجبة التي ضمت (15) حيواناً(المجموعة الثالثة) بنفس الجرعة وفي نفس وقت التلقيح المذكور في المجموعة السابقة. وبعد مرور (60) يوماً من التلقيح فحصت المناعة الخلوية والمناعة الخلطية ، وبعد مرور 3 أشهر من التلقيح تم قتل الحيوانات وفحصت التغيرات النسجية المرضية لها.أظهرت النتائج أن المستضد المستخدم قد حفز الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية قبل التلقيح، أما بعد التلقيح فقد لوحظ فرط الحساسية المتأخرة في الحيوانات الممنعة بلقاح ألBCG بزيادة معنوية إحصائيا عن حيوانات السيطرة الموجبة ، أما الاستجابة المناعية الخلطية فقد سجلت الحيوانات الممنعة زيادة معنوية احصائياً عن حيوانات السيطرة الموجبة.وتوافقت نتائج التغيرات المرضية في الحيوانات الممنعة مع نتائج الاستجابة المناعية، إذ تولدت لديها مناعة جيدة ضد الإصابة بالأكياس العدرية.إذ سجلت الحيوانات الممنعة بلقاح الـ BCG أفضل استجابة مناعية تمثلت باختزال في حجم وعدد الاكياس التي ظهرت متنكسة ومتكلسة وظهور تغيرات نسجية مرضية طفيفة في الأعضاء الداخلية للمجموعتين الأولى والثانية مقارنة مع حيوانات السيطرة الموجبة. وأوضحت النتائج وجود تصالب مناعي بين الأكياس العدرية ولقاح ألBCG مختبرياً.

المقـــدمـــة:

يعد خمج الأكياس العدرية (Hydatid cysts) المتسبب عن طفيلي المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* أحد الأخطار المحدقة بصحة الإنسان نتيجة لعدم ظهور أي علامات مرضية واضحة في المضائف الوسطية كذلك الخسائر الاقتصادية نتيجة إتلاف الأعضاء المصابة بالمرض كالكبد والرئتين في الإنسان والحيوان(Schantz, 1990) . يوجد المرض في الأحشاء الداخلية ويحتل الكبد والرئتان الموقع المتصدر في نسبة الإصابة بالإنسان والمضائف الوسطية الأخرى، وتعد الكلاب والذئاب والثعالب هي المضائف النهائية للمرض (Thompson and McManus, 2001). أوضحت العديد من الدراسات استعمال مستضدات بعض الجراثيم لتقوية الجهاز المناعي ضد الإصابة ببعض الأمراض في الحيوانات المختبرية وكذلك بعض الحيوانات الحقلية ، إذ بيّن الجبوري (2002) أن التمنيع بجرثومة اللستريه يعطي مناعة ضد الإصابة بجرثومة البروسيلا المجهضة Brucella abortus وعصيات السل ألبقري Mycobacterium bovis وجرثومة Rhodococcus equi ومناعة قليلة ضد جرثومة Salmonella typhimurium ، كما أشار الباحث علوان (2001) إلى أن مستضد جدار الكيسة العدرية يحفز الاستجابة المناعية ضد جراثيم S. typhimurium .ولعدم وجود دراسات سابقة حول تأثير لقاح الBCGفي نمو الاكياس العدرية صممت الدراسة لمعرفة تأثير ذلك في الفئران المختبرية من حيث استحداث الاستجابات المناعية الخلوية والخلطية .

المواد وطرائق العمل:

حيوانات التجربة:

أجريت التجارب على (40) حيوانا من الفئران البيض المختبرية Balb/C *Mus musculus* من كلا الجنسين بعمر 28-35 يوم والتي جهزت من قبل مركز أبحاث الأجنة و العقم/بغداد و قد تم توفير غرفة نظيفة ومعقمة لتربيتها إضافة إلى تهيئة الظروف الملائمة من حيث التغذية و التهوية ودرجة الحرارة المناسبة إذ كانت 26-30 م .وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية نظيفة معقمة وقد تركت الفئران أسبوعا بعد جلبها دون معاملة لغرض تكيفها قبل بدء التجربة .

لقاح الـ BCG:جهز لقاح BCG من مستشفى الولادة والأطفال التعليمي في الديوانية شعبة اللقاحات وتم حساب الجرعة المعطاة إذ كانت 0.05 ملغم /ملتر إذ آن العبوة تحتوي على 20 جرعة للأطفال بعمر اقل من سنة.

مصادر العينات وكيفية التعامل معها:

تم الحصول على العينات الحيوانية من مجزرة الديوانية من أكباد ورئات الأغنام و الماعز المصابة طبيعياً بالمشوكات الحبيبية Echinococus granulosus بعد ذبحها من قبل القصابين وقد حضر مستضد الرؤيسات الاولية حسب طريقة (Migeuze *et al.*, 1996).

تصميم التجربة:

تم استعمال (40) فأر مختبري وقد قسمت بصورة عشوائية الى ثلاثة مجاميع تضمنت:-

- المجموعة الأولى:تضم (15) فأراً حقنت بلقاح BCG وبجرعة 0.1 مل داخل الجلد I/D وبعد أسبوع أعطيت نصف الجرعة كجرعة منشطة. وتم أجراء الاختبار الجلدي بعد 27و60 يوما من أول تمنيع باستعمال مستضد الرؤيسات الاولية وذلك بحقن(50) مايكروليترمن المستضد في منطقة راحة القدم اليسرى وتم قتل 5 حيوانات في اليوم 30, 60لغرض جمع الدم وفحص الاستجابة المناعية الخلطية ثم إصابة الفئران المتبقية بجرعة تحدي من الرؤيسات الأولية بمقدار 2000 رؤيس أولي في غشاء البرتيون.
- المجموعة الثانية: تضم (15) فارا وعدت كمجموعة سيطرة موجبة إذ تمت إصابة الحيوانات بالرؤيسات الأولية الحية وبنفس وقت جرعة التحدي التي أعطيت للمجموعة السابقة.

المجموعة الثالثة: ضمت (10) فئران وعدت كمجموعة سيطرة سالبة تم حقنها بالمحلول الملحي الفسيولوجي المتعادل (PBS) وبجرعة 0.5 مل تحت الجلد. وبعد 3 أشهر من موعد الإصابة قتل ما تبقى من الحيوانات وتم جمع النماذج من الكبد, الطحال, الكلية,الرئة من الحيوانات التي قتلت مع ملاحظة التغيرات المرضية العيانية وحفظت بمحلول الفورمالين الدارئ المتعادل 10% وحضرت العينات حسب (Luna, 1968).

النتائج:

الاستجابة المناعية

يبين الجدول(1) نتائج الفحص الجلدي للمجاميع الحيوانية الممنعة بعد مرور27 يوما من التمنيع بلقاح الـ BCG والمقاسة بالملم بعد 24 و48 ساعة من إجراء الفحص، إذ كان المعدل الحسابي لتثخن راحة القدم في الحيوانات الممنعة بلقاح الـBCG (0.31 ± 0.02) ,(0.26 ± 0.02) على التوالي. وكان الفحص سالب في جميع حيوانات مجموعة السيطرة السالبة.

يوضح الجدول (2) نتائج فحص الفحص الجلدي بعد مرور60 يوماً من إعطاء جرعة التحدي لمجموعة السيطرة الموجبة والمجموعة الممنعة بلقاح الـBCG والمقاسة بمستضد الرؤيسات الأولية بعد 24 و 48 ساعة من إجراء الفحص، فقد كان المعدل الحسابي لمجموعة لقاح BCG (0.33±0.01) و (0.30 ± 0.02) بعد 24و48 ساعة أما مجموعة حيوانات السيطرة الموجبة فقد كان المعدل الحسابي لفرق تثخن راحة القدم (0.28±0.05) و (0.30 ± 0.01) بعد 24 و48 ساعة على التوالي. إذ أظهرت مجموعة لقاح BCG زيادة مهمة في المعدلات الحسابية عن حيوانات السيطرة الموجبة وبفارق معنوي مهم وكان الفحص سالب في جميع حيوانات مجموعة السيطرة السالبة.

يوضح الجدول (3) نتائج قياس الاستجابة المناعية الخلطية باستخدام فحص التلازن الدموي غير المباشر بعد مرور 30 يوماً من تمنيع حيوانات التجربة بلقاح BCG ، أظهرت النتائج ارتفاع المعيار ألحجمي للمستضد إذ كان المعدل الحسابي(32±19.5). كما يوضح جدول رقم (4) نتائج قياس الاستجابة المناعية الخلطية بعد مرور 60 يوماً من إعطاء جرعة التحدي بالرؤيسات الأولية الحية، إذ أظهرت النتائج وجود فرق معنوي بين الحيوانات الممنعة بلقاح BCG التي سجلت معياراً حجمياً مقداره (35.2±17.5) مع حيوانات السيطرة الموجبة التي بلغ معيارها الحجمي (16±3.14).

التغيرات المرضية:-

التغيرات المرضية العيانية Gross pathological changes

أظهرت التغيرات العيانية للفئران الممنعة بلقاح BCG وجود أكياس عدرية صغيرة الحجم تراوحت أعدادها من 1-3 وكانت قياساتها (2×1) ملم في أكباد بعض الفئران وقد ظهرت في 5 فئران من مجموع 15 فأر مختبري كما وجدت بقع صغيرة على الطحال لنفس المجموعة كان عددها 2 تقريباً وقياسها 0.5 ملم فضلاً عن وجود احتقان في الرئة وتضخم حجم الطحال، ولم تلاحظ تغيرات عيانية مهمة في بقية الأعضاء (شكل 1). تميزت الصورة المرضية العيانية في مجموعة السيطرة الموجبة بوجود الأكياس العدرية الثانوية بعد مرور شهرين في الفئران المصابة وكانت هذه الأكياس في 12 فأراً من مجموع 15 وبلغ عدد الأكياس بحدود (10-12) كيساً توزعت على الكبد (6-3)والطحال(4-1) وقد كانت هذه الأكياس كروية تبلغ أقطارها 0.5 - 1 سم بيضاء اللون ممتلئة بالسائل العدري الحاوي على الرؤيسات الأولية التي تم فحصهاعند فتح الكيس وإفراغ محتوياته (شكل 2).كما سجل اكبر حجم للطحال (شكل 3) ، في حين تميز الفحص العياني للأعضاء الداخلية لحيوانات مجموعة السيطرة السالبة بعدم وجود تغيرات مرضية عيانية تذكر.

التغيرات النسجية المرضية Histopathological changes:

الكبد:بين الفحص ألمجهري وجود أكياس عدرية متنكسة في كبد أحد حيوانات هذه المجموعة وهي محاطة بمحفظة ليفية ومرتشحة بكثافة بخلايا العدلات والحمضات والبلعمات وتنكس الطبقة المولدة للكيس العدري ، كما لوحظ ترسب الكالسيوم (Calcification) في المناطق المتنخرة وتكاثر الاورمات الليفية (شكل 4) ، وعكس نسيج الكبد تكفف لمفي شديد حول الأوردة المركزية وبين الخلايا الكبدية مع نخر وتنكس الخلايا الكبدية (شكل 5).الطحال:بين الفحص ألمجهري فرط تنسج اللب الأبيض فضلاً عن ارتشاح كثيف للخلايا اللمفية والخلايا البلازمية في اللب الأحمر. وفي بعض المناطق لوحظت بؤر متعددة من الورم الحبيبي تكونت بصورة رئيسية من الخلايا الظهرانية مع مركز نخري تجنبي (شكل 6).

الرئة:اظهر الفحص زيادة سمك الحواجز بين الاسناخ وبين القصبات الرئوية نتيجة لارتشاحها بالبلعمات والخلايا اللمفية والظهرانية مع احتقان الشعيرات الدموية وامتلائها بالدم إضافة إلى وهط ونفاخ رئوي شديد.

تركزت الآفات المرضية النسجية في فئران مجموعة السيطرة الموجبة في الكبد إذ لوحظ وجود تغيرات تنكسيه تميزت بالتورم ألغيمي مع تفجي هيولي الخلايا الكبدية واحتقان الأوردة المركزية والجيبانيات . كما أوضح الفحص وجود مناطق واسعة من النخر التجلطي في نسيج الكبد

وتنخر الخلايا الكبدية ، كما لوحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية كالعدلات والخلايا اللمفية والخلايا البلازمية والبلعمات في المتن الكبدي وحول الأوعية الدموية فضلاً عن تكاثر خلايا كوفر.كما اظهر الفحص أيضا وجود الأكياس العدرية التي تميزت بطبقاتها (المولدة والانتاشية) والمحاطة بطبقة ليفية مع ارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بخلايا العدلات ، الحمضات والخلايا البلازمية والخلايا اللمفية والبلعمات مع ضمور وتنكس الخلايا الكبدية القريبة من الكيس, كما أوضح الفحص ألمجهري للطحال ظهور تفاعل خلوي شديد تمثل بزيادة أعداد العدلات والحمضات مع احتقان اللب الأحمر كما أوضح الفحص نفاذ (Depletion) اللب الأبيض وتنخر الخلايا اللمفية إضافة الى ارتشاح الخلايا البلازمية والخلايا اللمفية شكل(7) فضلاً عن ترسب مـادة النشـوان (Amyloidal Substance) شكل (8) واحتقان بعض الشرينات المركزية كما وجدت بعض الباحات النخرية في النسيج كما لوحظ أكياس عدرية مع نمو المحفظة الليفية المرتشحة بالخلايا الالتهابية . بين الفحص النسيجي للكلى وجود تغيرات تنكسية في ظهارة النبيبات تمثلت بالتورم ألغيمي وتفجي هيولي الخلايا المبطنة للنبيبات مع انعدام حيز بومان في الكبيبة وارتشاح الخلايا الالتهابية كالبلعمات والخلايا اللمفية حول الأوعية الدموية مع وجود باحات نزفيه .لوحظ ارتشاح الحمضات والعدلات والخلايا وحيدة النواة معظمها الخلايا اللمفية بين وداخل الاسناخ الرئوية وحول القصبات والقصيبات الهوائية وحول الأوعية الدموية مع رهط ونفاخ رئوي حاد.

جدول (1) يوضح نتائج فحص الحساسية المتأخرة في الفئران الممنعة باستخدام الفحص الجلدي بعد مرور(27) يوما من التمنيع:-

حيوانات التجربة	معدل فرق التثخن في الجلد بعد مرور 24 ساعة	معدل فرق التثخن في الجلد بعد مرور 48 ساعة
لقاح الـ BCG	0.02 ± 0.31	0.02 ± 0.26
السيطرة السالبة	0	0

جدول (2) يوضح نتائج فحص الحساسية المتأخرة للفئران الممنعة باستخدام الفحص الجلدي بعد مرور (60) يوماً من إعطاء جرعة التحدي بالرؤيسات الأولية الحية.

حيوانات التجربة	معدل فرق التثخن في الجلد بعد مرور 24 ساعة	معدل فرق التثخن في الجلد بعد مرور 48 ساعة
السيطرة الموجبة	0.05 ±0.28	0.01 ± 0.30
لقاح الـ BCG	0.01 ± 0.33	0.02 ± 0.30
السيطرة السالبة	0	0

جدول (3)يوضح نتائج قياس الاستجابة المناعية الخلطية باستخدام فحص التلازن الدموي غير المباشر للفئران الممنعة بعد مرور (30) يوماً من التمنيع

حيوانات التجربة	1	2	3	4	5	المعدل الحسابي	الانحراف القياسي
لقاح الـ BCG	32	26	16	32	64	32	19.5
السيطرة السالبة	0	0	0	0	0	0	0

جدول (4) يوضح نتائج قياس الاستجابة المناعية الخلطية باستخدام فحص التلازن الدموي غير المباشر للفئران الممنعة بعد مرور (60) يوماً من اعطاء جرعة التحدي بالرؤيسات الاولية الحية

حيوانات التجربة	1	2	3	4	5	المعدل الحسابي	الانحراف القياسي
لقاح الـ BCG	32	64	16	32	32	35.2	17.5
السيطرة الموجبة	16	16	32	8	8	16	3.14
السيطرة السالبة	0	0	0	0	0	0	0

المناقشة:

عمدت الكثير من الدراسات الحديثة إلى إيجاد طرق جديدة وفعالة للحد من انتشار مرض الأكياس العدرية من خلال اكتشاف اللقاحات والتمنيع واستعمال الجهاز المناعي كسلاح لصد المرض وتقوية الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية التي تؤدي إلى وقف نمو الطفيلي في اغلب الحالات(Siracusano *et at*, 2001) .أوضحت نتائج دراستنا إن لقاح الـ BCG قد حفزاستجابة مناعية خلوية وخلطية في الفئران المختبرية. بينت نتائج فرط الحساسية المتأخرة باستعمال الاختبار الجلدي والمقاسة بمستضد الرؤيسات الأولية إن لقاح الBCG قد حفز الاستجابة المناعية الخلوية بعد مرور 27 يوما من تمنيع الحيوانات بهذا المستضد وممكن ملاحظة ذلك من خلال مشاهدة ارتفاع المعدلات الحسابية لتثخن راحة القدم بعد مرور (24) ساعة من إجراء الفحص وقد توافقت هذه الزيادة مع النتائج التي ذكرها الباحثون (فالح ، 2002 ; النعماني، 2002) وهذا قد يشير إلى احتمالية وجود تشابه بين تركيب مستضد الرؤيسات الأولية ولقاح الـ BCG .وقد وجد الباحثان Thompson(1976) وفالح (2002) إن لقاح الـ BCG يحفز الاستجابة المناعية ضد الإصابة بالجنين سداسي الأشواك Hexacanth embryo إضافة إلـــى انـــه يقلل عدد الأكياس العدرية المتكونة في الحيوانات الممنعة مقارنة بحيوانات السيطرة.كما أشار(Turner *elal*. 2000) أن لقـاح الـBCG يحفـزخلايا الدم المحيطي على إفراز IFN- γ والوسائط المناعية الأخرى المهمة في تنشيط الخلايا اللمفية التائية المساعدة CD_4 + T والخلايا اللمفية السامة للخلايا Cytotoxic T lymphocytes.

أما بالنسبة لقياس الاستجابة المناعية الخلطية فقد أظهرت نتائجنا وجود ارتفاع معنوي في مستوى أو عيارية الأجسام المضادة في الحيوانات الممنعة باستخدام فحص التراص الدموي غير مباشر (IHA) بعد مرور شهر من التمنيع إذ حفزت هذه المستضدات الاستجابة المناعية الخلطية بمعايير مختلفة ،وقد اظهر لقاح الBCGمعيار(Titer) عالي للأجسام المضادة قبل الإصابة، ولربما يعود سبب ارتفاع المعيار إن اللقاح قد حفز استجابة مناعية غير نوعية إذ وضح الباحثان Roben and Tanner (1983) قدرة لقاح الـ BCG على تحفيز مناعي نوعي وغير نوعي وذلك من خلال إنتاج الأجسام المضادة أو من خلال تنشيط الأنسجة الشبكية البطانية، وقد جاءت نتائجنا متوافقة مع تفسير الدراسة التي أجراها خليل (1993) إذ بين قدرة لقاح الـ BCG في تقليل شدة الإصابة بالطور اليرقي للمشوكات الحبيبية في الفئران من خلال تنشيط الاستجابة المناعية غير النوعية في تلك الحيوانات وهذه النتائج مطابقة لنتائج الباحثين فالح (2002) والنعماني (2002).كما اختلفت نتائج الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية بعد إعطاء جرعة التحدي في حيوانات التجربة فقد سجل الفحص الجلدي بعد مرور شهرين من إعطاء جرعة التحدي أعلى نتائج في الحيوانات الممنعة بلقاح الـ BCG مما يشير إلى كفاءة التحفيز المناعي بهذا المستضد ضد الإصابة. كما أظهرت النتائج أن لقاح الـ BCG قد أدى إلى تحفيز الخلايا البائية والتائية إضافة إلى تنشيط البلاعم الكبيرة لإنتاج المدورات الخلوية وكذلك تنشيط الخلايا السمية القاتلة للخلايا Cytotoxic Killer cell والخلايا الطبيعية القاتلة NK cells أي أن لقاح الـ BCG قد حفز استجابة مناعية خلوية على حساب الاستجابة المناعية الخلطية (Collins, 1982). أما مجموعة السيطرة الموجبة فقد أظهرت تفاعلا جلدياً شديداًعندقياس فرق التثخن وقد يكون هذا التفاعل ناتجاً من ظهور

الأجسام المضادة لمستضدات الرؤيسات الأولية وإنتاج الكلوبيولينات المناعية في الإصابة المبكرة نتيجة لتحفيزالميكانيكية المعتمدة على خلايا T (Baz *et al*, 1999).

أثبت Kalinna and McManus (1993) إن آلية الطفيلي في إخفاء نفسه من الاستجابة المناعية من خلال أو ادمصاصه بروتينات المضيف على سطح الطفيلي والتي تؤدي إلى إخفاء مستضداته وتمنع ارتباطه مع المضادات المتخصصة، كما تؤدي الإصابة الثانوية في الفئران المختبرية بالرؤيسات الأولية إلى ارتفاع مستوى IL-10, IL-6, IL-1, IFN- γ , IFN- α إضافة إلى بعض الكلوبيولينات المناعية المتخصصة (Haralabidis *et al*., 1995)

أوضحت نتائج فحص التراص الدموي غير المباشر للمستضد المستعمل في التمنيع بعد مرور شهرين من إعطاء جرعة التحدي ارتفاع في المعيار الحجمي للأجسام المضادة في حيوانات التجربة مما يبين قدرة المستضد المستعمل على تحفيز الاستجابة المناعية الخلطية وقد وجد معيار مرتفع للأجسام المضادة في مجموعة الحيوانات الملقحة بالـ BCG في حين كانت نتائج مجموعة السيطرة الموجبة مقاربة لها. وجد Lightowlers *et al*., (1996) ان الاستجابة المناعية ضد الأكياس العدرية أما استجابة مناعية قبل تكوين الكيس العدري اذ تثبط نمو الكيس وتمنع تكوينه بعد التعرض لجرعة التحدي أو استجابة مناعية بعد تكوين الكيس وذلك إن الأجسام المضادة لها القابلية على النفاذ من خلال جدار الكيس إلى داخل تجويفه بواسطة آلية النفوذ البسيطة Simple diffusion mechanism ومن ثم فان هذه الأجسام تقتل الرؤيسات الأولية وتؤدي إلى تنكس الطبقة الانتاشية.

وقد توافقت نتائج الفحص المناعي لهذه الدراسة مع نتائج الفحص المرضي اذ بينت الدراسة ان الحيوانات الممنعة بلقاح الـ BCG بعد إعطاء جرعة التحدي بالرؤيسات الأولية الحية قد حفز مناعة غير نوعية ضد الخمج.وقد لوحظ عدم وجود تغيرات مرضية مهمة في الأعضاء الداخلية التي فحصت في الحيوانات الممنعة بلقاح الـ BCG مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة باستثناء وجود تكفف خلوي وخيم حول الأوعية الدموية وفي متن الأعضاء إضافة إلى فرط تنسج اللب الأبيض للطحال مما يشير إلى نمو الاستجابة المناعية في هذه الحيوانات.لقد سجل فرط تنسج النسيج اللمفي في الأعضاءالداخلية للحيوانات الممنعة من قبل كثير من الباحثين Alwan (1996) وسعيد (1999) وفالح (2002) والنعماني (2002) وزغير (2003). ان عدم وجود الأكياس العدرية في الأعضاء الداخلية للفئران الممنعة بلقاح الـ BCG مع وجود تجمعات لمفية خلوية في متن الاعضاء وخاصة الكبد يشير إلى نشوء المقاومة المكتسبة نتيجة التمنيع بهذه المستضد ضد جرعة التحدي التي أعطيت بعد شهر من التمنيع وتوافقت هذه الدراسة مع ما ذكره Baron and Tanner (1976) وفالح (2002) بان مستضدات الكيس العدري تحفز الخلايا اللمفية التائية التي تحفز هي الأخرى الخلايا البلعمية وتصبح فعالة.

إن الورم الحبيبي الذي لوحظ في الحيوانات الممنعة يشير إلى نمو الاستجابة المناعية الخلوية إذ تؤدي الخلايا البلعمية دوراً مهماً في تحفيزها وتنظيمها، كما أن ظهور التجمعات اللمفية بعد الإصابة التجريبية في الفئران الممنعة تتوافق مع الاستجابة المناعية وربما تكون أحد مصادر الأجسام المضادة (Ali Khan, 1978a) .كما بينت الدراسة وجود أكياس عدرية متنكسة ومتكلسة في أعضاء الحيوانات الممنعة بلقاح الـ BCG وهذا يشير إلى أن اللقاح ولد مناعة ضد تكوين الأكياس العدرية وهذا مطابق لتفسير نتائج فالح (2002)، إذ أن لقاح الـ BCG له القدرة على تحفيز مناعي نوعي وغير نوعي عن طريق إنتاج الأجسام المضادة أو تنشيط الأنسجة الشبكية البطانية(Ruben and Tanner, 1983) .

إن ظهور الأكياس العدرية في مجاميع الفئران الملقحة بالـ BCG غير واضحة ومحاطة بمحفظة نسجية واسعة مع ارتشاح أعداد كبيرة من البلعمات والعدلات والحمضات يتوافق مع ما ذكره Pollaco *et al* ., (1978) وفالح (2002).

إن نمو الأكياس العدرية يكون تحت سيطرة المناعة الخلوية والأجسام المضادة التي ترتبط بالخلايا الالتهابية المرتشحة في أماكن الإصابة وأيضا إلى عمل Fc-receptor وتعمل على تحطيم الكيس العدري بآلية القتل الخلوي المعتمد على الأجسام المضادة Antibody dependent cellular cytotoxicity (Ali khan and Sibbo, 1980).

أوضحت دراسة التغيرات المرضية للأعضاء المصابة في حيوانات السيطرة الموجبة إن تراكيب الأكياس كانت واضحة وطبيعية مع وجود الطبقة المولد واحتواء الكيس السائل العدري والرؤيسات الأولية وهذا يشير إلى تغلب الطفيلي على الوسائل الدفاعية للمضيف وإفرازه للمستضدات والمعقدات المناعية التي تؤدي إلى تثبيط الآلية المناعية للمضيف. (Ali khan and Sibbo, 1980)

المصادر

- فالح، أنعام بدر (2002). دراسات طفيلية ومرضية ومناعية للإصابة بالأكياس العددية المحدثة تجريبياً في الفئران والماعز باستخدام الحرارة في معالجة آفات المرض الطبيعي في الحيوان والإنسان. أطروحة دكتوراه، الأمراض والدواجن – كلية البيطري- جامعة بغداد.

- النعماني، علي هادي (2002). التغيرات المرضية والاستجابة المناعية في خنازير غينيا الملقحة بمستضدات الأكياس العددية والمصابة بعصيات السل البقري. رسالة ماجستير، الأمراض المشتركة- كلية الطب البيطري- جامعة بغداد.
- سعيد، ماجدة عبد الله (1999). دراسة بعض أوجه امراضية جرثومتي Listeria monocytogenes و Rhodococcus equi . وتأثير التمنيع المتبادل بينهما. رسالة ماجستير، علم الأمراض- كلية الطب البيطري- جامعة بغداد.
- خليل، إيمان غضبان (1993). تأثير الإصابة التجريبية بالأكياس العددية على الاستجابة المناعية الطبيعية للفئران. رسالة ماجستير، علم الطفيليات- كلية الطب البيطري- جامعة بغداد.

- Ali Khan, Z. and Siboo, R. (1980). Pathogenesis and host response in subcutaneous alveolar hydatidosis. I. Histogenesis of alveolar cyst and qualitative analysis of the inflammatory infiltrates. Z. Parasitenkd., 62: 241-254.
- Ali-Khan,Z. (1978). Echinococcus multilocularis: Cell mediated immune response in early and chronic alveolar murine hydatidosis. Exp. Parasitol., 46: 157-165.
- Alwan, M.J. (1996). Study of some aspects of Nocardiosis in animals in Iraq. Ph. D. Thesis Vet. Coll. Uni. Baghdad.
- Baron, R. W. and tanner, C. E. (1976). The effect of immunosuppression on secondary Echinococcus multilocularis infections in micEchinococcus Int. J. Parasitol., 6: 37-42.
- Baz, A.; Richieri, A. ; Puglia, A. ; Nieto, A. and Dematties, S. (1999). Anibody response in CD4- depleted mice after immunization or during early infection with Echinococcus granulosus. Parasite Immunol., 21: 141-150.
- Collins, F.M.; Lamb, J.; Rand young, D.B. (1988). Biological activity of protein antigen isolated from Mycobacterium tuberculosis culture filtrate. Inf. And Imm., 56: 1260-1266.
- Haralabidis, S.; Karagouni, E.; Frydas, S. and Dotsika, E. (1995). Immunog lobulin and cytokine profile in murine secondary hydatidosis. Paras. Immunol. 17: 625-630.
- Kalinna, B. and McManus, D.P. (1993). An IgG (FC-X) binding protein of Taenia crassiceps (cestoda) exhibits sequence homology and antigenic similarity with Schistosome paramyosin. Parasitology.,106: 289.
- Lightowlers, M.W,; Lawrence, S.B.; Gauci, C.G; Young, J.; Ralston, M.J., Maos, D. and Heath, D.D. (1996). Vaccination against hydatidosis using adefined recombinant antigen. Parasite Immunol., 18: 457-462.
- Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3rd. Ed. Mc graw-Hill, New York.
- Miguez, M.; Baz, A. and Nieto, A. (1996). Carbohydrate on the surface of Echinococcus granulosus protoscoleces are immuno-dominant in mic Echinococcus parasite immunol., 18: 559-569.
- Pollaco, S.; Nicholas, W.L.; Mitchell, G. F. and Stewart, A.C. (1978). T-cell dependent collagenous encapsulating response in the mouse liver to Mesocestoides corti. Int. J. Parasitol., 8 : 457-467.

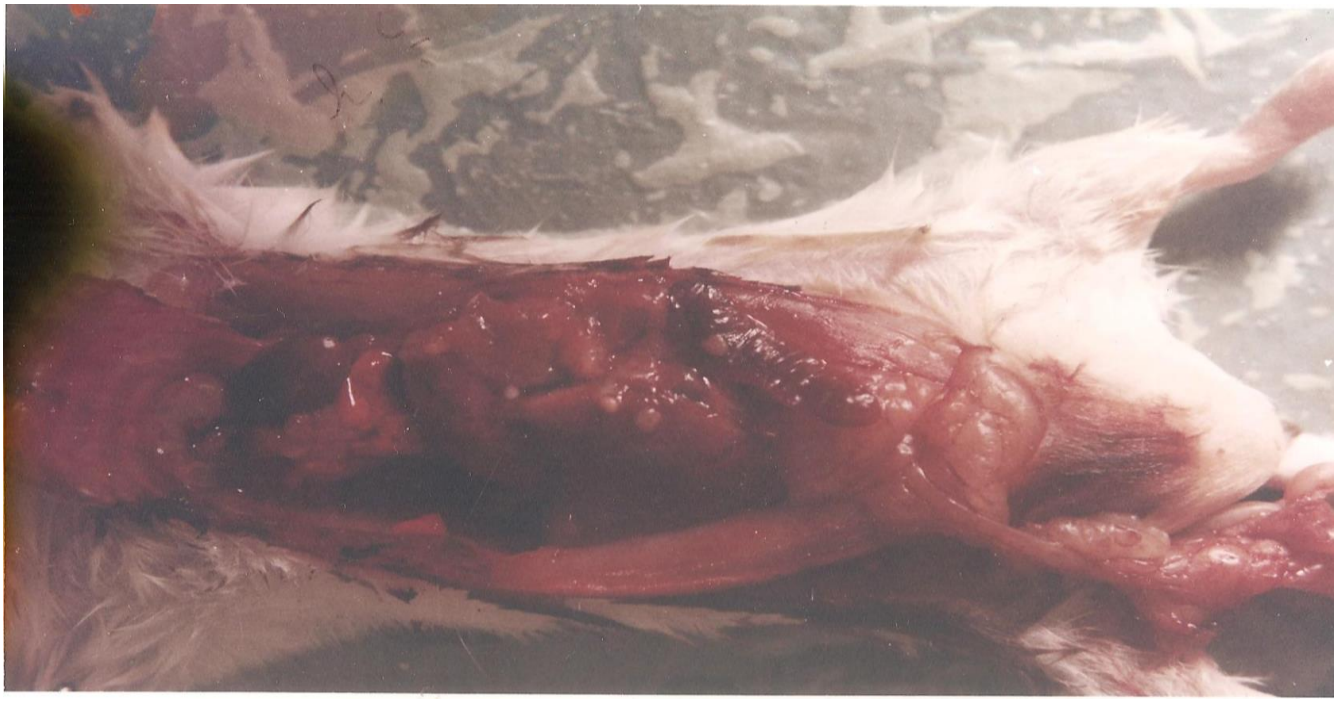
- Ruben, J. M. and Tanner, C.E. (1983). Protection against experimental echinococcosis by non specifically stimulated peritoneal cells. Parasit Immunol., 5: 61-66.
- Schantz, P.M. (1990). Parasitic zoonosis in Perspective. Int. J. Parasitol., 21(2): 165- 166.
- Siracusano, A.; Ortona, E. and Rigano, R. (2002). Molecular and cellular tools in Human cystic Echinococcosis. Immune, Endocrine and Metabolic disorder. 2: 235-245.
- Thompson, R.C.A. (1976). Inhibitory effect of BCG on development of secondary hydatid cysts of Echinococcus granulosus . Vet. Rec. 99: 273.
- Thompson, C. R. A. and McManus, D. P.(2001). Aetiology Parasites and life- Cycles. In " WHOI / OIE " manual on echinovoccosis in humans and animals : A public health Problem of global concern". (Eckert, J.; Gemmell, M. A.; Meslin, F. X. and Pawlowski), World Organization of Animals Health, Paris, France. P:1-19.
- Turner, J.; Corrah, T.; Sabbally, S.; Whittle, H. and Dockrell, H.M. (2000). A longitudinal study of in vitro IFN- γ production and cytolytic T cell responses of tuberculosis Patients in the Gambia. Tubercle and lung Dis. 80 (3): 161-169.

Summary

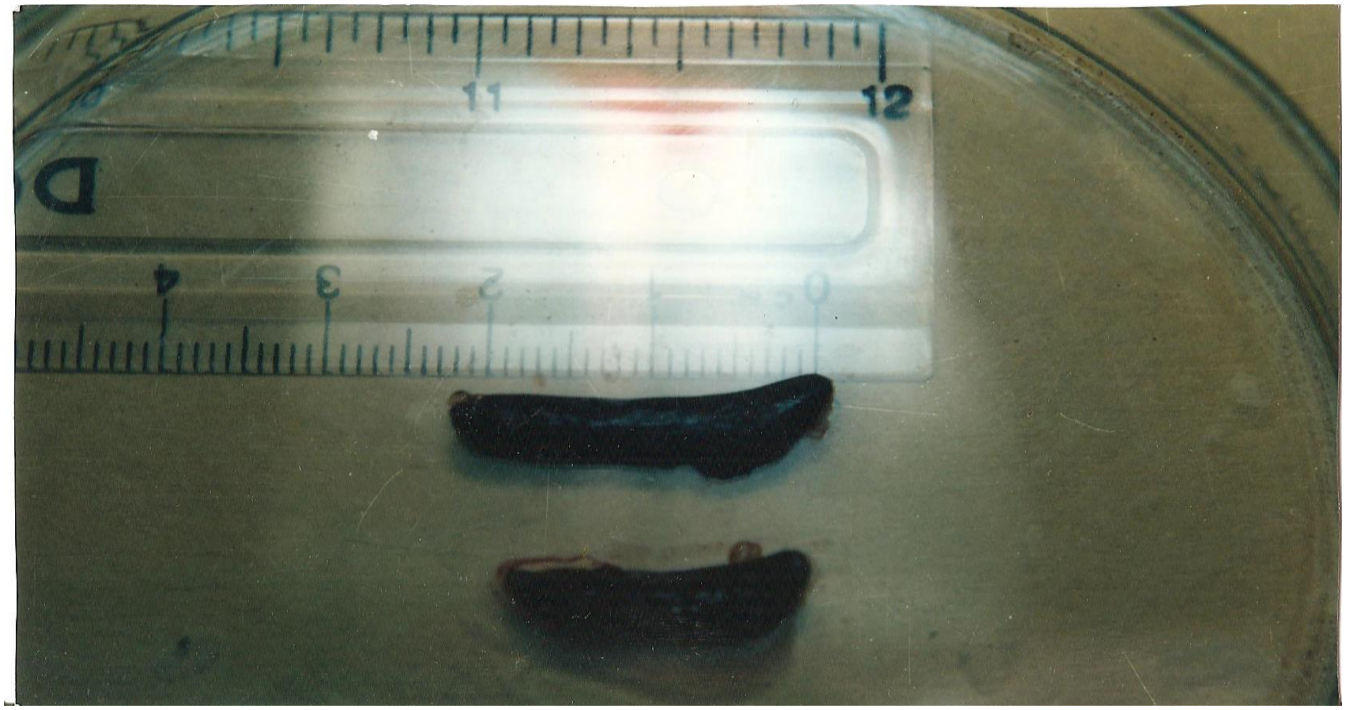
The aim of the present study was to evaluate the effect of immunization with BCG vaccine on the infection of protoscolex in the mice. Forty white mice of both sexes were divided randomly into three equal groups. The first group was immunized with the BCG vaccine at a dose 0.1 ml intradermally for each animal, the second group was inoculate with the sterile PBS served as a control negative after a week from the immunization the 1st group were inoculated with a booster dose .After 27 days of immunization the delayed type hypersensitivity and the indirect heamagglutination tests were tested, by using protoscolex antigen, and after 30 days from the immunization, the experimental groups gave a challenge dose by using 2000 live protoscolex intrapertonial ,the positive control (3rdgroup) was inoculated at a same time, after 60 days from the inoculation, the cellular & humoral immunity was measured, after 3 months from the inoculation the animals are killed and the histopathological changes were examined.

The result shown that the vaccine which we used in this study has been produce a cellular and humeral immune response before the inoculation ,while after the inoculation, delayed type hypersensitivity for the BCG vaccine were increased in statically significant value in comparison with the control positive group. The immunized animals with BCG recorder best immune response by which lead to decrease in size and number of the cysts which appeared degenerative calcified in comparison with animals inoculated with protoscolex .Also result showed that there is across immune protection between the hydated cyst and BCG vaccine, in vitro.

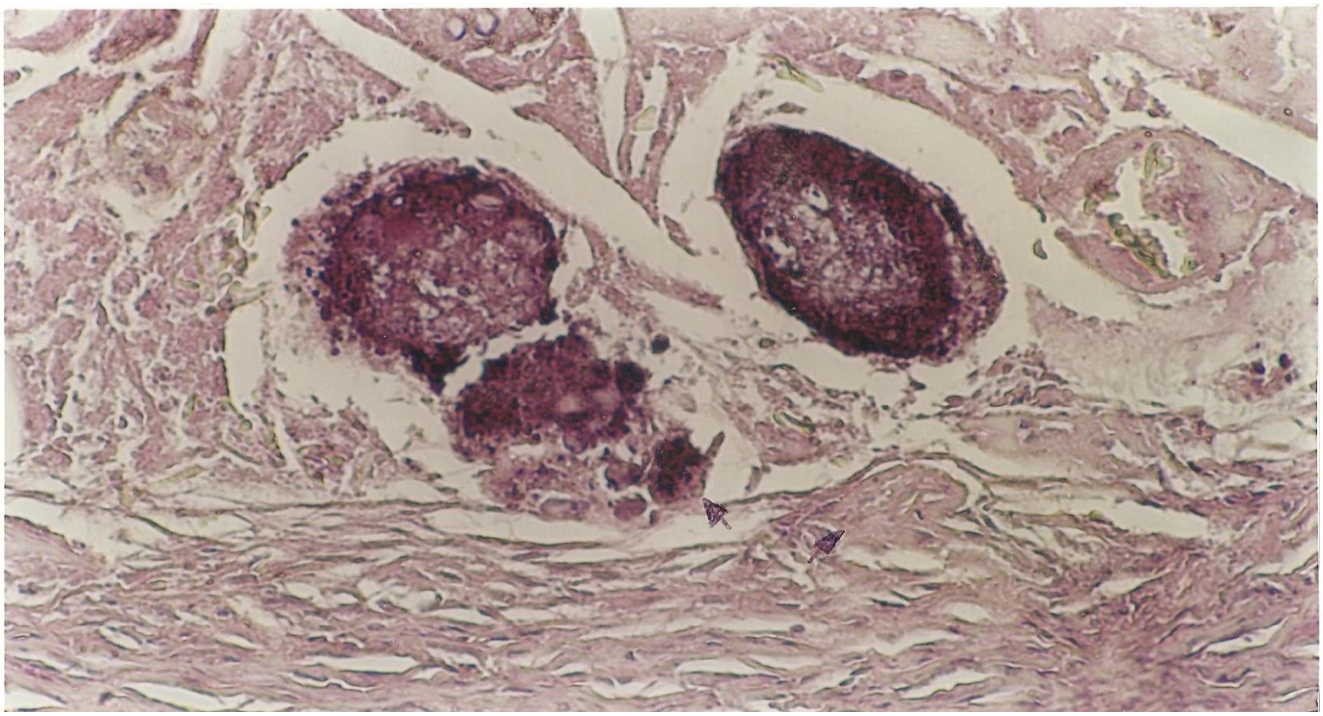
شكل (1) يبين احد فئران مجموعة الحيوانات الممنعة بلقاح BCG لاحظ الاكياس العدرية الثانوية الضامرة في التجويف البطني بعد 3اشهر من الاصابة بالرؤيسات الأولية



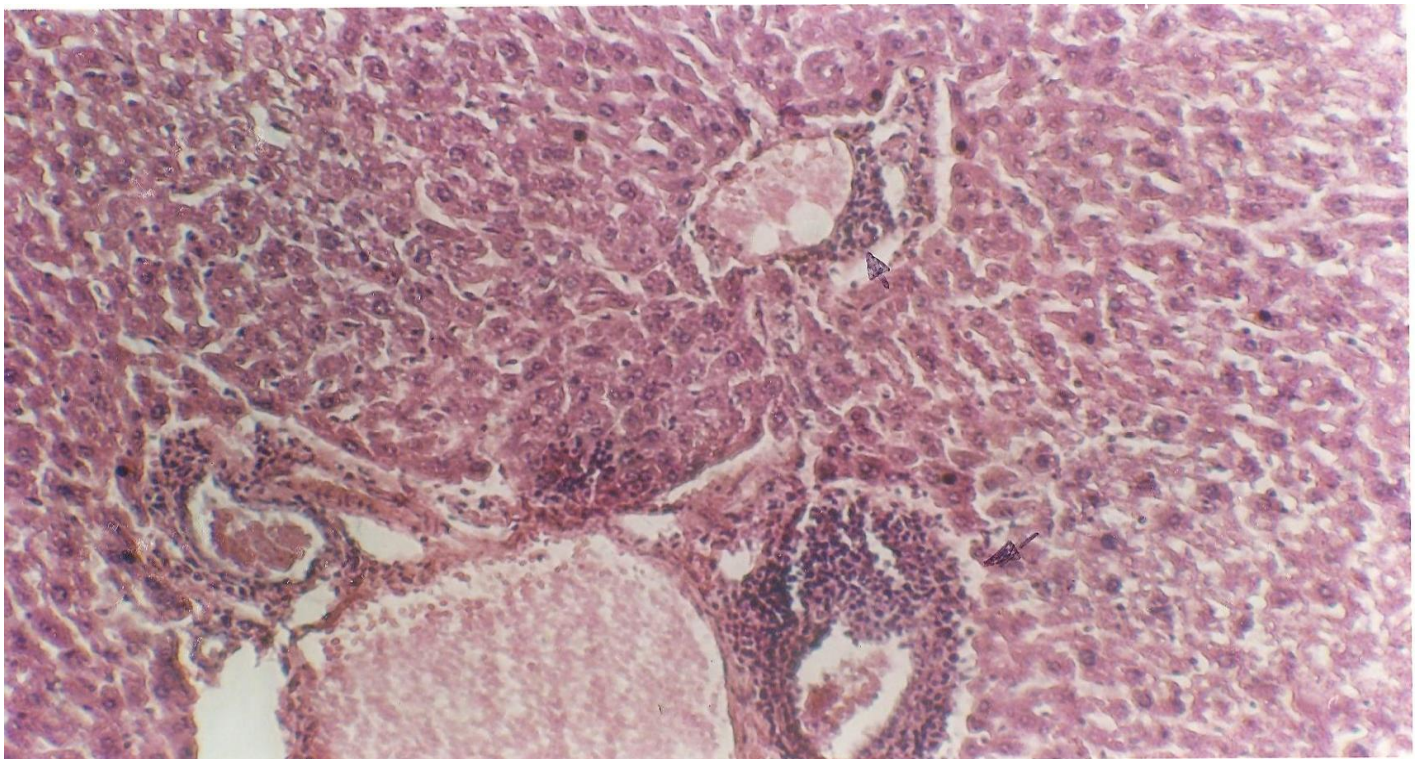
شكل (2) يبين احد فئران مجموعة السيطرة الموجبة لاحظ نمو الاكياس العدرية الثانوية في الكبد والطحال بعد مرور3 اشهر من الاصابة بالرؤيسات الأولية



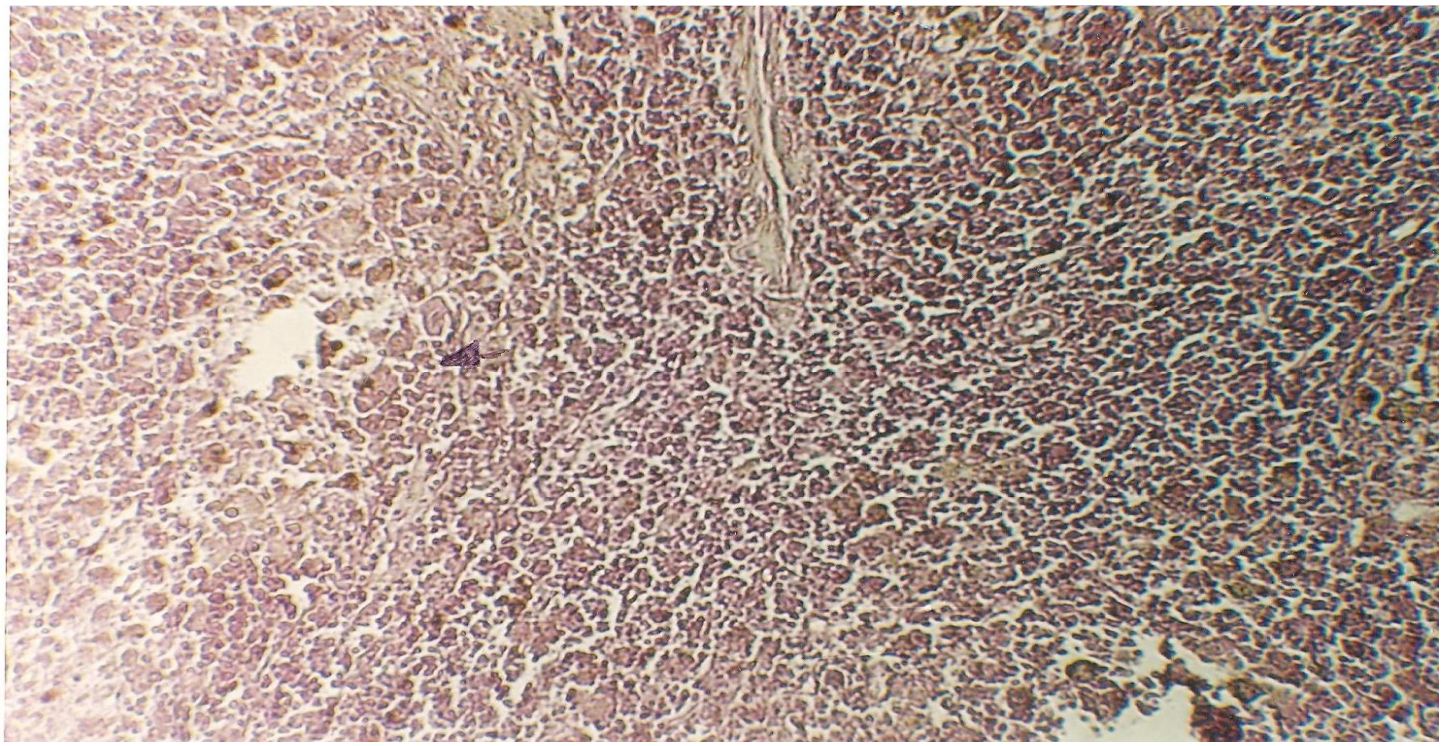
شكل(3) يوضح كبر حجم الطحال في احد حيوانات مجموعة السيطرة الموجبة مقارنة مع طحال احد الحيوانات الممنعة بعد 3اشهر من الإصابة بالرؤيسات الأولية



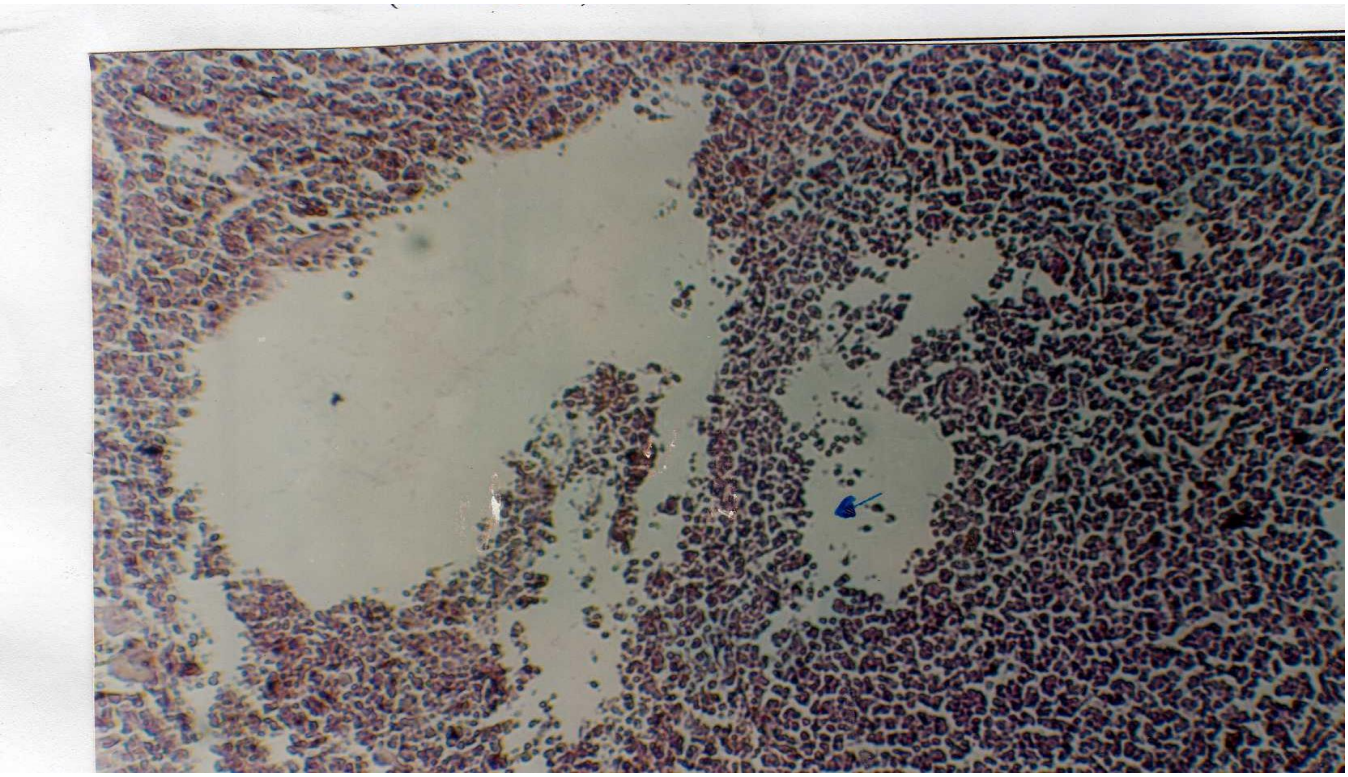
شكل(4) مقطع نسجي في كبد احد الفئران الممنعة بلقاح BCG يبين طبقات الكيس العدري المتنسكة وزيادة سمك الطبقات و ارتشاح شديد الخلايا الالتهابية مع تكلس الرؤيسات الاولية المعزولة من الاغنام .صبغة (H&E)X40



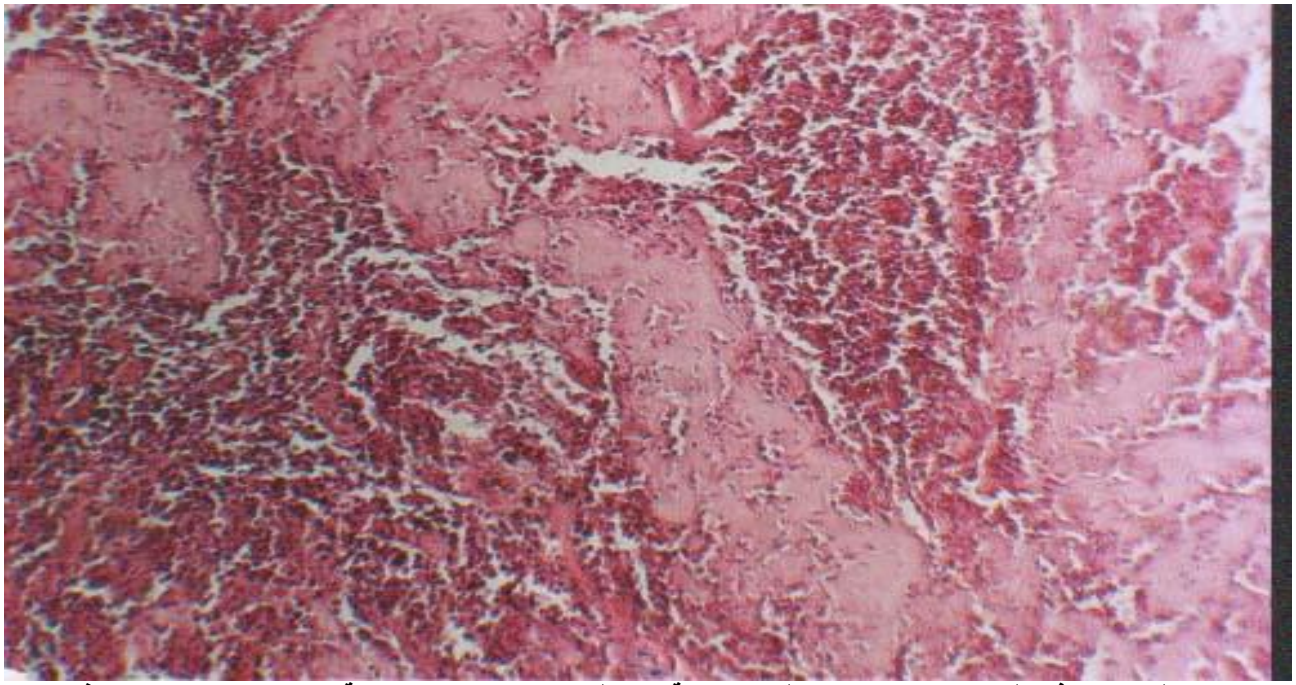
شكل(5) مقطع نسجي في كبد احد الفئران الممنعة بلقاح BCG يبين تجمعات متعددة من الخلايا ألمفاوية حول الاوعية الدموية وبين الخلايا الكبدية بعد مرور ثلاثة اشهر من الاصابة الرؤيسات الاولية.صبغة (H&E)4



شكل(6) مقطع نسجي في طحال احد الفئران الممنعة بلقاح BCG يبين فرط التنسج في اللب الأبيض وتوسع المركز الانتاشي بعد 3 اشهر من الاصابة بالرؤيسات الاولية المعزولة من الاغنام .صبغة (H&E)X40



شكل(7) مقطع نسجي في طحال احد الفئران السيطرة الموجبة , لاحظ نفاذ و تنخر اللب الأبيض مع ارتشاح الخلايا الالتهابية وذلك بعد مرور 3 أشهر من الإصابة بالرؤيسات الأولية المعزولة من الاغنام .صبغة X40(H&E)



شكل(8) مقطع نسجي في طحال احد الفئران السيطرة الموجبة , لاحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية وانتشار مادة النشوان وذلك بعد مرور 3 أشهر من الإصابة بالرؤيسات الاولية المعزولة من الأغنام .صبغة X40(H&E)