بررسی ایجاد مقاومت علیه توکسو پلاسموزیس در مدل حیوانی با استفاده از آنتی ژنهای سطحی تاکی زوئیت توکسو پلاسما گوندیی

بهروز عزت پور[1]، بهزاد حق پناه[2] ، سید حسین حجازی[3]، زهرا غیور[4] ، علیرضاعندلیب[5]

1- مربی ، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
2- استادیار، گروه انگل و قارچ شناسی،دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
3- دانشیار ، گروه انگل و قارچ شناسی،دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
4- مربی، گروه انگل و قارچ شناسی،دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
5- دانشیار ، گروه انگل و قارچ شناسی،دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

یافته / دوره دهم / شماره 4 / زمستان 87 / مسلسل 38

دریافت مقاله: 87/8/17، **پذیرش مقاله**: 88/1/29

Ø مقدمه: توکسوپلاسما گوندی یک انگل بیماریزای منتقله از راه غذا است که از طریق مصرف گوشت و عمدتا" گوشت گوسفند و خوک آلوده- بوسیله اوسیست های دفع شده در مدفوع گربه، انسان را آلوده می سازد . آلودگی در انسان می تواند باعث ناهنجاریهای جنینی شدید،گرفتاریهای چشم ویا آنسفالیت گردد. ابتلا به توکسوپلاسموزیس در دوران حاملگی خصوصاً در دام اغلب منجر به سقط و لطمات اقتصادی قابل ملاحظه ای خواهد شد.هدف از این مطالعه بررسی این نکته است که آیا ایمونیزاسیون بوسیله آنتی ژنهای سطحی توکسوپلاسما گوندی می تواند باعث محافظت موش در برابر عفونت با این انگل شود؟

Ø مواد و روش‌ها: جهت انجام برنامه ایمن سازی از سویه بسیار بیماریزایRH در مطالعه استفاده شد. آنتی ژنهای سطحی تاکی زوئیت ها که در محیط کشت تکثیر یافته بودند با استفاده از MEGA-10- یک دترجنت غیر یونیک - جدا شدند.گروههای 17تایی موشهای نر به دو صورت داخل صفاقی و زیر جلدی به فواصل ده روز،دو بار این آنتی ژن را دریافت کردند. 21 روز پس از دریافت آخرین دوز ، نمونه خون نیمی از موشها جهت انجام آزمایش IFAT گرفته شد و باقیمانده موشها تعداد 2000 تاکی زوئیت زنده و فعال سوش کشنده RH را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

Ø یافته‌ها: نتایج حاکی از افزایش تیتر آنتی بادی بعد از برنامه ایمونیزاسیون بود($p<0/05$) . نتایج بقای موشها پس از انجام آزمایشات (challenge) نیز نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروههای آزمایش (IP،ID) با گروه شاهد بود ($p<0/05$).

Ø بحث و نتیجه‌گیری: ادجوانت ها نقش مهمی را در برنامه های ایمن سازی ایفا می کنند.در هر صورت استفاده از ادجوانت های مناسب از قبیل ISCOM مجموعه های محرک سیستم ایمنی(Immune Stimulating Complexes) و پروتئین های سطحی تاکی زوئیت توکسوپلاسما گوندی از قبیل P30 برای تحریک بهتر پاسخهای ایمنی سلولار و طبیعی پیشنهاد می گردد.

Ø کلید واژه‌ها: ایمونیزاسیون ،آنتی ژنهای سطحی، تاکی زوئیت، توکسو پلاسما گوندیی، MEGA-10

آدرس مکاتبه: مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
پست الکترونیک: ezatpourb@yahoo.com

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

مقدمه

توکسو پلاسما گوندیی از مدتها پیش به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب در موارد تضعیف سیستم ایمنی ناشی از ابتلا به ایدز یا پیوند اعضا و نیز به عنوان عامل تهدید کننده سلامت انسان و دام مطرح بوده است. افزایش روز افزون موارد ابتلا به ایدز و نیز بالارفتن توا نایی مراکز درمانی کشور در زمینه پیوند اعضاء، محدود کردن خطرابتلای این دسته از افراد و پیشگیری از این بیماری باز پدید را بیش از پیش خاطر نشان می سازد. همچنین برای جلوگیری از صدمات وارده این انگل به صنعت دامپروری، تحقیقات لازم در زمینه ایجاد ایمنی زایی ضروری به نظر می رسد. فازحاد بیماری، به واسطه فعالیت پاتولوژیک فرم فعال انگل یعنی تاکی زوئیت ها بروز می کند. پاسخ ایمنی هومورال شامل IgA، IgE، IgM وIgG باعث حذف پارازیتمی و تشکیل کیستهای نسجی و مزمن شدن عفونت می شوند. این آنتی بادیها کاربرد بالینی جهت تشخیص توکسو پلاسموز دارند. به نحوی که توکسوپلاسموز بطور رایج، پس از تشخیص کلینیکی توسط آزمایشهای IFAT [1] و ELISA تائید می شود(1).

پروتئینهای سطحی پاتوژنهای داخل سلولی، اولین محل برخورد با سیستم ایمنی میزبان می باشند بنابراین آنتی بادیهای ساخته شده علیه آنها اولین رخداد پس از عفونت هستند. این پروتئینها دارای چندین عملکرد مهم از جمله چسبیدن به غشا سلول میزبان و محافظت انگل از پاسخ کشنده ایمنی هستند(2).

درتوکسو پلاسما گوندیی سطح تاکی زوئیت ها بوسیله آنتی ژنهایی از جنس گیلکوزیل فسفاتیدیل اینوزتیول پوشیده شده که مهمترینشان تقریباً دارای اندازه هایی در محدوده 22تا 43 کیلودالتون می باشند(3).

تعدادی از این آنتی ژنهای توکسو پلاسماگوندیی پاسخ های آنتی بادی بالایی را در حیوانات آلوده و انسان ایجاد می نمایند، بنابر این در مصارف تشخیصی و یا در تهیه واکسن می توانند بکار روند (4). مطالعات بر روی موش (5) و بر روی انسان (6) همچنین مشخص ساخت که اولین پاسخ ایمنی پس از عفونت مستقیماً علیه یکی از پروتئینهای سطحی تاکی زوئیت بنامP21 آغاز می شود. در مطالعه حاضراز آنتی ژنهای سطحی تاکی زوئیت های توکسو پلاسما گوندیی که بوسیله MEGA-10 جداگردیده جهت ایمونیزاسیون استفاده می شود. Decanoyi-N-methylIucamide یا MEGA-10 یک دتر جنت غیر یونی است که جهت جدا سازی پروتئینهای سطحی میکروارگانیزمها مطرح شده و بکار می رود. هدف از این تحقیق بررسی اثر آنتی ژنهای سطحی تاکی زوئیت توکسو پلاسما گوندیی در تحریک سیستم ایمنی و ایجاد مقاومت در برابر چالش با سوش بسیار بیماریزای RH توکسو پلاسما گوندیی بود.

مواد و روشها

تاکی زوئیتهای سویه RH از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه و درمحیط کشت RPMI-1640 تکثیر گردیدند. تاکی زوئیت های حاصله قبل ازافزودن MEGA-10 با استفاده از لام نئوبار شمارش شدند.

جداسازی پروتئینهای دیواره تاکی زوئیت و تهیه آنتی ژن: رسوب حاصله از کشت، سه بار با PBS [2] استریل شستشو و سانتریفیوژ گردید و درمرحله آخر، رسوب با 10 سی سی PBS استریل مخلوط شد و یک سوسپانسیون 25% درصد MEGA-10 از آن تهیه شد.

سوسپانسون مورد نظربه مدت 30 دقیقه در دمای محیط، نگهداری شده، سپس به مدت 15دقیقه در دور 2000g سانتریفیوژ شد ومایع رویی جدا و با همان دورسانتریفیوژ محلول رویی مجدداً جدا گردید (7) و میزان پروتئین آن با روش اسید سولفو سالیسیلیک اندازه گیری شد.

به هر یک از موشها 85 میکرو گرم از آنتی ژن به اضافه120میکرو لیتر PBS استریل که با ادجوانت ناکامل فروند نسبت به (1:1) امولسیونه گردیده بود تزریق گردید.

شرایط انتخاب نمونه: جهت تحقیق حاضر موشهای نر BaIb/c با سن 25-15 هفته از لانه حیوانات دانشگاه اصفهان انتخاب گردیدند و از نظر آلودگی به توکسوپلاسما مورد آزمایش قرار گرفتند. 17 عدد جهت گروه زیر جلدی (ID)[3]،

1. Indirect Fluorescent Antibody Test
2. phosphate buffered saline
3. ID: Intradermal

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

17 عدد جهت گروه داخل صفاقی[1] (IP) و 5 عدد جهت گروه شاهد انتخاب شدند. تعداد نمونه، با توجه به تجربی بودن آزمایش و بررسی مطالعات قبلی انجام پذیرفت. در تمام طول تحقیق مسائل اخلاقی برای حیوانات رعایت گردید.

ایمو نیزاسیون: آنتی ژن تهیه شده به مقدار 200 میکرو لیتر حاوی پروتئین جدا شده از تاکی زوئیت محلول درPBS و ادجوانت غیرکامل فرونت به هرموش ازگروههای آزمایش تزریق گردید. 17عدد موش، آنتی ژن فوق را بصورت ID، 17 عدد دیگر آنتی ژن فوق را بصورت IP دریافت کردند. گروه شاهد منفی نیز مقدار 120میکرو لیتر PBS و ادجوانت غیر کامل فرونت دریافت نمود.

بعد از 10 روز از تزریق اولیه مجدد 200 میکرولیتر آنتی ژن به شیوه مرحله اول به عنوان یاد آور در موشهای IPبصورت داخل صفاقی و در موشهای ID به روش زیر جلدی تزریق شد و در قفس های جداگانه قرار داده و علامت گذاری شد.

نمونه گیری از موشهای گروه آزمایش: سه هفته پس از تزریق یاد آور و پس از تکمیل پاسخ ایمنی، از موشهای ایمن شده در گروههای آزمایش IP،ID به منظور بررسی میزان آنتی بادی تشکیل شده، بیهوش و خونگیری از قلب آنها جهت تهیه سرم انجام گرفت. سرم نمونه های فوق جمع آوری و در 20- درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

تشخیص تیتر آنتی بادی اختصاصی گروههای شاهد و آزمایش به روش IFAT : سرم های جمع آوری شده با استفاده از آنتی گلوبولین موش (DAKO.F 0479) به روش IFAT و با استفاده از تاکی زوئیت لیوفیلیزه (شرکت بهار افشان) از نظر تیتر اختصاصی علیه توکسوپلاسما گوندیی با بکارگیری میکروسکوپ ایمنوفلور سانس بررسی گردیدند.

بررسی مقاومت علیه آلودگی با سویه RH در موشهای ایمن شده و شاهد: گروههای ایمن شده (ID،IP) و شاهد بوسیله 2000 عدد تاکی زوئیت زنده و فعال سویه کشنده RH توکسوپلاسما گوندیی از طریق داخل صفاقی آلوده شدند (7). پس از این مرحله، گروههای ID،IP و شاهد در قفس های جداگانه ای قرار داده شدند و هر روز به آنها سرکشی می شد و از نظر وجود زخم و یا حالتهای غیر عادی بررسی می شدند و چنانچه هر کدام از موشها می مرد، به آزمایشگاه انتقال داده می شد و مایع صفاقی آنها را به روش استریل جمع آوری کرده و در زیر میکروسکوپ از نظر وجود تاکی زوئیت زنده، مورد بررسی قرار می گرفتند.

یافته ها

نتایج ایمنی و مقاومت ایجاد شده: جهت بررسی اینکه آیا برنامه ایمونیزاسیون منجر به ایجاد مقاومت در موشهای تحت بررسی شده یا خیر به آنها تعداد2000 تاکی زوئیت زنده و فعال سوش کشنده RH به صورت داخل صفاقی تزریق شد (8) و تا 10 روز از نظر زنده ماندن تحت کنترل قرار داده شدند. نتایج تحقیق توسط آزمونهای آماری Oneway ANOVA وPost Hoc Test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج IFAT: میانگین تیترآنتی بادی اختصاصی بر علیه توکسوپلاسما گوندی در گروه شاهد 1:80 بود این میزان برای گروه (ID) برابر با 1371: 1و برای گروه (IP) 1:1051 بود. این نتایج حاکی از اختلاف معنی دار بین گروههای آزمایش (ID،IP) با گروه شاهد می باشد ($p < 0/05$) . ولی بین گروههای آزمایش با یکدیگر (ID،IP) اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0/05$)

نتایج بقا: میانگین بقای موشهای گروه شاهد برابر 5 روز بود که این ایام برای موشهای گروه ID برابر با 8/6 روز و برای موشهای گروه IP 8 روز بود. این نتایج نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروههای آزمایش(IP،ID) با گروه شاهد می باشد ($p < 0/05$)، ولی بین گروههای آزمایشی با یکدیگر (IPبا ID) اختلاف معنی داری در مدت زنده ماندن پس از chaIIenge مشاهده نشد ($p > 0/05$).

بنابراین ایمنی زایی با آنتی ژنهای سطحی تاکی زوئیت منتج به مقاومت نسبی در برابر مرگ ناشی از عفونت با تاکی زوئیت های توکسوپلاسما گوندیی در موشهای هر دو گروه آزمایش (IP،ID) شد.

در حالی که در روز پنجم تمامی موشهای گروه شاهد مردند ولی در این روز تمامی موشهای ایمن شده زنده بودند و

1 . IP: Intrapretoneal

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

75% موشهای گروه زیر جلدی و 43% موشهای گروه داخل صفاقی تا روز نهم پس از عفونت زنده ماندند (جدول شماره2).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر آنتی ژن های سطحی توکسوپلاسما گوندیی در تحریک سیستم ایمنی و ایجاد مصونیت محافظت کننده با استفاده ازMEGA-10 در برابر چالش با یک سویه بسیار بیماریزای توکسوپلاسما گوندیی بود. از آنجایی که برای مقابله با این عفونت یا باید میزبان نهایی (گربه) را واکسینه نمود، که به علت فقدان واکسن موثر و نیز تعداد بسیار زیاد گربه ها، فراوانی گربه های ولگرد و عدم دسترسی به همه آنها این اقدام عملی نیست و یا ایمن سازی بر روی میزبانان واسط متمرکز شود که انجام این اقدام عملی است. به همین خاطر بیشتر تحقیقات در زمینه مصون سازی میزبانان واسط صورت گرفته است. راه ورود آنتی ژن به بدن می تواند تعیین کننده مسیر فعالیت سیستم ایمنی باشد(9). به طوری که مثلا تزریق داخل وریدی یک آنتی ژن القاء تولرانس آن را ایجاد نمی نماید. در صورتی که تزریق زیر جلدی ویا داخل صفاقی آن فرصت دخالت کافی را به سلول های عرضه کننده آنتی ژن (APC) جهت ایجاد ایمنی می دهد (10).

مقایسه بین تیترآنتی بادی اختصاصی در گروههای IP،ID و مشاهده افزایش کمتر تیتر آنتی بادی در گروه ID می تواند به این دلیل باشد که در روش زیر جلدی آنتی ژن بهترو بیشتر در معرض سیستم ایمنی قرار گرفته وزمان روبرو شدن سلولهای دستگاه ایمنی با آنتی ژن در این روش بیشتر از روش داخل صفاقی بوده است و در شرایط یکسان گمان می رود که آزادسازی آنتی ژن در روش زیر جلدی از روش داخل صفاقی آهسته تر باشد.

با آنکه در این تحقیق افزایش تیتر، در گروههای آزمایش نسبت به گروههای شاهد مشاهده شد، ولی این افزایش قابل توجه نبود زیرا در شرایط عادی در موجودات مبتلا به توکسوپلاسموزیس تیتر تا 1/12800 هم می رسد. دلیل آن می تواند به این علت باشد که ادجوانت غیر کامل فروند امکان آزاد سازی آنتی ژنهای تاکی زوئیت را برای مدت طولانی نداشته است.

در آلودگی به توکسوپلاسموزیس، پاسخ ایمنی غالباً سلولی است و ادجوانت غیر کامل فروند در تحریک ایمنی سلولی تعیین کننده نیست و نتوانسته است کمک شایانی در بالا بردن سطح ایمنی در برابر این تک یاخته نماید. در مطالعه حاضر تیتر گروه شاهد 1/80 بود که می توان علت این امر را قرابت آنتی ژنیک توکسوپلاسماگوندی با سویه موشی توکسوپلاسما و یا سایر کوکسیدیاهای موجود دربدن موشها دانست (12،11،2).

مرگ ومیر موشهای ایمن شده را می توان به دلایلی چون عدم فعال شدن ایمنی سلولی و مرگ موجودات آلوده به سویه RH در اثر ترشح توکسین توسط انگل دانست. احتمال دارد MEGA-10 نتوانسته باشد توکسین های فوق را به مقدار کافی از تاکی زوئیتها جمع آوری نماید و باعث ایمنی زایی کافی در هنگام chaIIenge شود.

لوندن و همکاران در تحقیق مشابهی، البته با استفاده از ISCOM (Immune Stimulating Complexes) مقاومت موشها را در برابر سویه RH بررسی کردند و مشاهده نمودند که با اینکه موشهای گروه کنترل در بین روزهای نهم تا دوازدهم پس از عفونت مردند ولی موشهای گروه آزمایش، مرگ میر آنها در روزهای دوازدهم تا بیست و پنجم اتفاق افتاد (13).البته در تحقیق آنها، ایمونیزاسیون تنها از طریق زیر جلدی و در سه نوبت شش هفته ای صورت گرفته بود. درکار آنان همانند ما، تمامی موشها پس از challege ، بیمار شدند و کیست های نسجی در مغز آنها مشاهده شد. کورنزوهمکاران (14) و اوگلا و همکاران (15) نیز به نتایج مشابهی، البته با ISCOM دست یافتند. تحقیقات در این زمینه و بر روی گوسفند و با به کار گیری ISCOM نیز به نتایج مشابهی ختم شد(7).

برخلاف سایر جوندگان از قبیل موش و هامستر، رت ها مقاوم به توکسوپلاسماگوندی هستند (16). در این میان رت های فاقد تیموس (nude;nu.nu) در مواجه با تعداد 1000عدد تاکی زوئیت سویه RH توکسوپلاسماگوندی زنده نمی مانند، ولی همین رت های فاقد تیموس چنانچه لنفوسیت های موجود در غدد لنفاوی را دریافت کنند، نسبت به عفونت توکسوپلاسمایی مقاوم خواهند شد. علت این مقاومت را سطح

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

بالای آنتی بادیهای اختصاصی توکسوپلاسما دانسته اند (17). این امر نقش مهم سلولهای T را در مقابل رت های فاقد تیموس نسبت به عفونت توکسوپلاسما را خاطر نشان میسازد و اینکه این سلول باعث القای تولید آنتی بادی هایی می شوند که در محافظت جانور مشارکت دارند (18).

درانسان سالم، عفونت به توکسوپلاسما باعث ایجاد یک ایمنی مادام العمر برعلیه عفونت مجدد می شود (19) که دلالت بر تحریک موثر پاسخ ایمنی در طول اولین عفونت دارد. در این مطالعه، بر همین اساس، کوشش شد تا با استفاده از آنتی ژنهای سطحی، سیستم ایمنی موشها وادار به تحریک شود.

سه مطالعه (20, 21،22) نقش قابل ملاحظه آنتی ژنهای سطحی و سیتوپلاسمی را در تولید ایمنی تشریح نموده اند.همچنین Darcy و همکارانش در مطالعه خود از یک ساختمان پپتیدی مشتق شده از آنتی ژن P30 توکسوپلاسما- که دارای ایمونوژنسیته بالایی می باشد- استفاده کردند و محافظت نسبی را در رت ها و موشهای دریافت کننده پپتید P30 48-67MAP مشاهده کردند. آنها در تحقیق خود جهت chaIIenge، سویه نسبتاً ویرولان 76K را بصورت oraI بکار برده بودند و مشخص شد که 40 درصد موشها، دو برابرگروه کنترل، بعد از عفونت زنده ماندند (23).

شیوع سرمی بالای آنتی ژن P30 در سرم افراد مبتلا به توکسوپلاسموزیس، آنتی ژن P30را بعنوان یک کاندید مناسب جهت آزمونهای سرولوژیک توکسوپلاسماگوندی مطرح ساخته است (24).

خان و همکارانش با بکاربردن P30 به همراه ادجوانت ساپونین کویل A به محافظت بسیار بالای موشهای تحت مطالعه در مقابل عفونت توکسوپلاسمایی دست یافتند، بدون اینکه در مغز موشها مدرکی دال بر حضور انگل بیابند. البته اهمیت ادجوانت مناسب را نبایستی نادیده گرفت، چرا که P30 به تنهایی اثر محافظتی را در موشهای out bred CDI و یا موشهای inbred نژاد های A/J یا C57BL/6 نشان نداد. همینطور در ترکیب با ادجوانت کامل فروند، اثر محافظت کننده ای در موشهای baIb/c ندارد (25).

در تحقیقاتی که در رمینه ایمونیزاسیون توکسوپلاسما گوندیی بعمل می آید، چنانچه بتوان به واکسنی (آنتی ژنی) دست یافت که قادر به جلوگیری از پارازیتمی و مانع از تجمع انگل در بافت ها شود، می توان امیدوار بودکه توکسوپلاسموزیس مهار شده و یا باعث کاهش انتقال این بیماری از طریق فرآورده های حیوانات شود.این امید می رود که با تحقیقات بیشتر بر روی آنتی ژنهای سطحی تاکی زوئیت های توکسوپلاسما گوندیی و با آزمودن مقادیر مختلف پروتئین (آنتی ژن) و به کار گیری ادجوانت های مناسب به این مهم دست یافت.

در نهایت آنچه را که نویسندگان به محققین بعدی پیشنهاد می نمایند، بالا بردن سطح محافظت با استفاده از سایر ادجوانت ها و به کار گیری مقادیر متفاوت از آنتی ژنها می باشد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی میگردد.همچنین از زحمات سرکار خانم لیلا کولیوند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

References

1. Lioyd H; Kasper. Toxoplasma infection; In: Fauci, Branwald, Mortin; Text book of Harrison's Principle of Internal Medicine; From: McGrawhill company; Newyork.1998; pp. 1197-1202
2. How OK,Crawford A.C,Lindsay D,Sibley LD. The p29 and p35 Immunodominant Antigenes of Neospora caninum Tachyzoites Are Homologous to the family of surface Antigens of Toxoplasma gondii; Infect Immun. 1998; 66(11): 5322-5328
3. Boothroyd JC,Hehl A,Knoll LJ,Manager ID. The surface of Toxoplasma More and less .Int. j.Parasito.1998;28: 3- 9
4. Bullow R Boothroyd J. Protection of mice from latal Toxoplasma gondii infection by immunization witn P30 antigen in liposome. J. Immunol.1991;147, 3496-3500
5. Chardes T, Bourguin I, Mevelec MN, Duberme JF, and Bout D. Antibody responses to Toxoplasma gondii in sera, Intestinal secretions, and milk from orally infected mice and characterization of trarget antigen. Infect. Immun.1990; 58(5)1240- 1246.
6. Decoster A, Darcy F, and Capron A. Recognition of Toxoplasma gondii excreted and secreted by human sera from acquired and congenital toxoplasmosis: Identification of markers of acute and chronic infection. Clin. Exp.Immunol. 1988; 73:376-382
7. Lunden A. Immune responses in sheep after immunization with Toxoplasma gondii antigens incorporation in to iscoms. Veterinary parasitology. 1994; 56, 23- 35
8. Yap G,Kerten TS,ferguson OJP,Howe D,Suzuki Y, and Shera. partially protection permits the development of latency in anormally virulent strain of Toxoplasma gondii, Infect. Immunity.1998; 66(9): 4382- 4388
9. Glenn GM, Scharton-Kersten T, Alving CR. Advances in vaccine delivery transcutaneous immunization. Exp.Opin.Invest.Drugs. 1999;8:797-805
10. Nossal G.J.V ,vaccines. In: william. E. Paul; Fundamental immunology; from: Lippincohh-Raven publishers ,Philadelphia. 1999 ;1378-1425
11. Uggla A, Buxton D. Immune responses against Toxoplasma and sarcocystis infections in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination. Revue Scientifique et Technique de l' Office International des Epizooties. 1990;9:441-462
12. Uggla A, Hilali M,Lovgren K. Serological responses in Sarcocystis cruzi infected calves challenged with Toxoplasma gondii. Res. Vet.Sci. 1987;43:127- 129
13. Lunden A, Lovgren K, Uggla, A and Araujo, F.G. Immune responses and resistance to Toxoplasma gondii in mice immunized with antigens of the parasite incorporated into immuno stimuIating

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

complex. Infect.Immun. 1993; 61(6): 2639-2643

14. Overnes G, Nesse LL, Waldeland H, Lövgren K, Gudding R. Immune response after immunization with an experimental Toxoplasma gondii iscom. Vaccine.1991; Vaccine 9:25- 28
15. Uggla A, Araujo FG, Lunden A, Lövgren K, Remington JS, Morein B. immunizing effects in mice of two T . gondii iscom preparations. Zentralbl Veterinarmed B. 1988;.35:311- 314
16. Chinchilla M. Guerrero OM,Solano E. Lack of multiplication of Toxoplasma in macrophages of rats in vitro. J.Parasitol. 1982;68:952- 955
17. Santoro F, Auriault C, Leite.P, Darcy F. Infection du rat athymique par Toxoplasma gondii .C.R.Acad.Sci.III Sci.Vie. 1987 ; 304:297- 300
18. Duquesn V, Auriault C, Darcy F. Protection of nude rats against Toxoplasma infection by excreted- secreted antigen-apecific helper Tcells. Infect. Immun.1990; 58(7):2120- 2126
19. Ferenkel JK. Pathophysiology of Toxoplasmosis.Parasitol Today. 1988;10:273- 278
20. Johnson AM, McdonaId PJ and Neoh SH. Monoclonal antibodies to Toxoplasma cell membrance surface antigens Protect mice from toxoplasmosis. J . Parasitol. 1983; 30:351- 356
21. Sharma SD, Araujo FG and Remington JS. Toxoplasma antigen isolated by affinity chromatography with monoclonal antibody protects mice against lethal infection with Toxoplasma gondii, J. Immunol.1984; 133:2818- 2820
22. Sibley LD, Sharma SD. Ultrastructural localization of an Intracellular Toxoplasma protein that induces Protection in mice. Infect. Immune. 1987;55:2137- 2141
23. Darcy F, Meas M, Gras- Masse H, Auriault C, Bossus MD, Codard I, Cesbron MF,Tartar A and Capron A. Protection of mice and nude rats against toxoplasmosis by a multiple antigenic peptide construction derived from Toxoplasma gondii P30 antigen. J.Immunl. 1992; 149(11): 3636- 3641
24. Huskinson J, Thulliez P,Remington JS . Toxoplasma antigens recognized by human Immunoglobulin IgA antigens.J . Clin. .Microbiol. 1990; 28:2632
25. Kasper LH, Currie KM, Bradly MS. An unexpected response to vaccination with a purified major membrane tachyzoite antigen(P30) of toxoplasma gondii. J.Immunol. 1985;134:3426

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:21 +0330 on Saturday November 17th 2018

جدول شماره 1 :نتایج آزمایش IFAT در سرم موشهای گروههای IP،ID و شاهد

تیترآنتی بادی / سرم موشها	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/1600	1/2560
گروه IP	100	100	100	85/7	71/4	0	0
گروه ID	100	100	100	100	71/4	28/6	0
گروه شاهد	100	0	0	0	0	0	0

اعداد ذکر شده در جدول بیانگر درصد هرگروه می باشد ($p < 0/05$)

جدول شماره2 : نتایج مربوط به درصد بقا برای هرگروه بر حسب روز در موشهای ایمن شده و شاهد

روزهای پس از عفونت	درصد بقای گروهها		
	Intra PeritoneaL (IP)	Intra DermeL (ID)	گروه شاهد
1	100	100	100
2	100	100	100
3	100	100	100
4	100	100	100
5	100	100	100
6	85/7	100	0
7	71/4	87/5	0
8	42/8	75	0
9	0	0	0

*** اعداد ذکر شده در جدول بیانگر درصد هرگروه می باشد**

جدول شماره3 : نتایج مربوط به درصد فراوانی تجمعی مرگ و برای هرگروه بر حسب روز در موشهای ایمن شده و شاهد

روزهای پس از عفونت	درصد فراوانی تجمعی مرگ و میر گروهها		
	Intra Peritoneal (IP)	Intra Dermel (ID)	گروه شاهد
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	100
6	14/3	0	
7	28/6	12/5	
8	57/2	25	
9	100	100	

*** اعداد ذکر شده در جدول بیانگر درصد هرگروه می باشد**