

AKCİĞER KİST HİDATİK OLGULARINDA HÜCRESEL VE HUMORAL İMMÜNİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nurşen Düzgün* Güner Tokgöz** Erdoğan Yalav*** Gülnur Oktay****

Hidatik kist deyimi çok eskiden tanımlanmış olup, bugün halen geçerliliğini yitirmemiştir. Bilindiği gibi Echinococcus granulosus'un meydana getirdiği hastalık için 'Hydatidosis' ve larya şekli için 'Haydatik Kist' deyimi kullanılmaktadır.

İlk olarak Hypocrates İ.Ö. (460-477) sığır ve domuzlarda hydatik kistin varlığını bildirmiştir. İnsan karaciğerinde saptadığı hydatik kisti 'su kesesi' veya 'su dolu kese' olarak tanımlamıştır.

Hidatik kist, içi sıvı ile dolu kapalı bir kese biçiminde olup, büyüdükçe çevre doku üzerine basınç yapar. Bu durum akciğerde en iyi şekilde değerlendirilmiştir. Kistin çevresi üzerine yaptığı basınç sonucu sıkışan akciğer dokusunda oluşan yabancı proteinlerin antijenik uyarılarına bağlı olarak kistin çevresinde, akciğer dokusu tarafından oluşturulan bir tabakanın ortaya çıktığı kabul edilmektedir. (27)

Delitala, kistin çevresini saran membranın üç tabakadan oluştuğunu belirtmiştir. Bunları içden dışa doğru şöyle sıralamıştır; fibröz tabaka, orta tabaka ve en dıştaki akciğer parankim tabakası. En içde bulunan fibröz tabakanın yapısı fibroblastik liflerden ibarettir orta tabaka ozinofilik hücrelerden zengin olan kısımdır, en dıştaki parankim tabakası ise sıkışmış alveollerden oluşan ve akciğer dokusu ile devam eden tabakadır. (27)

Tavernier de kistin çevresinde akciğerlerin sıkışmasından oluşan yoğun bir tabakanın meydana geldiğini bildirmiştir. (27)

Fontana ise daha ayrı bir görüşle perikistik dokuyu aktif iltihabi granülasyon safhası olarak tanımlamıştır.

Kistin yapısı çeşitli yöntemlerle araştırılmıştır. Elektroforetik çalışmalarla kist sıvısında polisakkarit, lipit, protein v.b. maddelerin bulunduğu gösterilmiştir. Kist zarının semipermeabl olduğu, kist kökenli bazı maddelerin vücuda geçebildiği ve bazı maddelerin de vücuttan kist içine geçebildiği gösterilmiştir. Buna dayanılarak kistlerde ilk immünolojik çalışmalar Kagan ve ark. (1964) tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar hidatik kist sıvısını tavşanlara enjekte ederek, elde

* A.Ü.T.F. İç Hastalıkları Kliniği Uzmanı

** A.Ü.T.F. İç Hastalıkları Kliniği Profesörü

*** A.Ü.T.F. Göğüs ve Kalb Şirürjisi Kliniği Profesörü

**** A.Ü.T.F. İç Hastalıkları Kliniği Kimya Mühendisi

ettikleri antiserumları immünoelektroforezde analiz ile ayırtmışlar ve antijen-antikor birleşmesi ile meydana çıkan 23 bant bulunduğunu göstermişlerdir. (10,11) Kist sıvısı antijenleri ile ilgili çalışmalar bugünde devam etmektedir. Bu antijenlerden en çok «Antijen 5» ve «Antijen B» üzerindeki çalışmalar yoğunlaşmış ve saf olarak elde edilebilmiştir. Bu antijenlerin insanda *Echinococcus granulosus*'un spesifik serolojik tanısında yararlı olduğu kabul edilmiştir. (4) Gereğ bu antijenlerin gerekse bunlara karşı oluşan spesifik antikorların protoskoleks ve kist membranında lokalize olduğunu göstermek indirek immünfloresan tetkiklerle mümkün olabilmıştır. Antijen 5'in germinatif membranda ve parankimde lokalize olduğu, protoskolekslerde sentez edildiği ve osmo regülatör sistemle kist boşluğuna geçtiği görüşü benimsenmiştir. (19,29,30)

Bu görüş'er göz önüne alınarak bu çalışmamızda yurdumuzda oldukça sık görülen hidatik kistli olgularda vücutta oluşan immünolojik değişiklikleri araştırmayı amaçladık. Bunun için insan organizmasındaki hücrel ve humoral immü-nite üzerinde çalışıldı. Olguların cilt dokusu ve perikistik dokuları immünfloresan teknik ile incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma akciğer kist hidatiği tanısı konan ve operasyona alınan 31 hasta ve 20 sağlıklı insanı içermektedir. Hastalarımız Göğüs ve Kalp Cerrahisi Kliniğinde yatarak operasyona alınmışlardır.

Hasta ve normal şahısların kol veninden sabah aç karnına alınan, oda ısısında santrifüj edilen kan örneklerinin serumu -20 °C'de muhafaza edildi.

Serum immünooglobulin, Kompleman (C₃,C₄) tayinleri agarda radyal immü-nodiffüzyon tekniği ile kantitatif olarak yapıldı. Gerekli olan "Tripartigen immü-nodiffüzyon" plakları ve standart serumlar Behringwerke firmasından temin edilmiştir.

Operasyon sırasında elde edilen perikistik doku ve cilde ait parçalar CO₂ ile dondurulup cryostat ile 4 mikron kalınlığında kesildi. Behringwerke firmasından temin edilen floresein ile işaretli IgG, IgM, IgA serumları kullanılarak direk immünofloresan teknik ile boyanmış olan preparatlar immünfloresan mikroskopda değerlendirildi.

Cilt testinde antijen olarak PPD tatbik edildi. Antijenin intrakütan enjeksiyonundan 72 saat sonra ciltde meydana gelen endurasyon mm olarak ölçüldü. Endurasyon 5 mm'den az ise sonuç menfi, 5-10 mm ise (+), 10-15 mm ise (+ +), 15 mm'den fazla ise (+ + +) kabul edildi.

T lenfosit sayısı E— rozet testi ile değerlendirildi. Hastaların lökosit sayısı, lökosit formülü, eritrosit sedimantasyon hızı, protein elektroforezi ASO,CRP, röntgenografik tetkikleri rutin olarak yapılmıştır.

BULGULAR

Bu çalışma yaşları 5-59 arasında, yaş ortalaması 30.4 olan, 18 E,13 K, toplam 31 hasta üzerinde yapılmıştır. Sadece bir olgu karaciğer kist hidatiği olup, diğer olguların tamamı akciğer kist hidatiği idi.

Tablo I de 16 olguya ait cilt testi, E—rozet testi, serum immünoglobulin ve kompleman düzeyleri, perikistik dokunun ve cilt dokusunun immünofloresan özellikleri gösterilmiştir.

31 olgunun geç aşım duyarlık bulguları :

5 olguda PPD menfi, 17 olguda (+), 6 olguda, (++) 3 olguda, (+++) olarak değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiği önemi olmadığı saptandı. ($P < 0.05$)

E—rozet değerleri olguların büyük bir kısmında normal değerlerin altında bulunmuştur. (31 olgunun sadece 5'inde normal sınırlarda) Değişme sınırları % 5 - % 70 idi. E—rozet ortalama değerleri : % 33.96 \pm 14,82, kontrol grubu ile karşılaştırılmasında ortalamalar arası fark ($P < 0.001$) ile önemli idi. PPD menfi olan 5 olguda E—rozet değerlerinin önemli derecede düşük olduğu dikkati çekti.

Serum immünoglobulin düzeyleri :

Kontrol grubunda

IgA : 344.895 \pm 84.621
IgM : 130.421 \pm 43.275
IgG : 1471 \pm 317.582

Hasta grubunda

IgA : 289.065 \pm 100.02
IgM : 205.323 \pm 62.452
IgG : 1824.387 \pm 495.393

Olguların yaklaşık yarısına yakın kısmında düşük IgA değerleri gözlemlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırmada ortalamalar arası fark ($P < 0.05$) ile anlamlı bulundu. IgM düzeyleri olguların çoğunda (31 olgunun 18'inde) normal değerlerin üstünde olup, kontrol grubu ile ortalamalar arası fark istatistiki olarak önemli derecede anlamlı idi. IgG düzeyleri ise, olguların yarısında yüksek değerlerde bulundu. Normaller ile ortalamalar arası fark ($P < 0.01$) ile anlamlı idi.

Serum kompleman düzeyleri 15 olguda çalışılmıştır, ortalamaları :

Hasta grubunda C_3 ortalama değeri : 101 \pm 19.996

C_4 ortalama değeri : 46.179 \pm 20.726

Kontrol grubunda C_3 ortalama değeri : 105.818 \pm 17.022

C_4 ortalama değeri : 37.818 \pm 8.140

Hasta ve kontrol grubunun kompleman değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiki bir fark gözlenmemiştir.

TABLO : I

Olgu No.	Soyadı Adı	Yaş/Cins PPD	E—Rozet %	IgG Serum	IgM immünglobulinleri	IgA % mg
1	N.D	16 E	+	50	1700	224 390
2	Ş.S	31 K	+++	30	1680	224 330
3	M.B	19 E	+	10	1520	274 320
4	A.K	49 E	++	25	2520	134 408
5	H.G	55 K	+	45	1500	274 220
6	K.Ü	13 E	+	5	760	212 458
7	E.G	48 K	—	19	3000	396 450
8	N.D	27 E	++	45	1720	242 288
9	N.T	27 K	+	38	1260	150 188
10	M.A	38 K	—	25	2520	228 472
11	İ.K	50 E	+++	25	1520	162 266
12	A.V	19 E	+	70	2100	172 408
13	S.Ö	21 K	++	43	1450	210 192
14	Z.K	47 K	+	39	2240	254 174
15	M.Ş	37 E	+	39	1560	154 266
16	H.A	40 K	—	13	2500	155 250

TABLO : II

Olgu No.	Adı Soyadı	Yaş/Cins PPD	E—Rozet %	Serum immünglobulin			Serum Kompleman		depolanması İmmünglobulln		
				IgG	IgM	IgA	C ₃	C _t	Perikistik doku	Cilt	
				% mg			% mg				
17	T.L	22 E	++	35	2100	150	225	124	33.5	IgM + IgG	
18	M.E	35 K	+	58	2520	228	472	105	92	IgM + IgG	IgG
19	A.B	11 K	++	38	1260	150	188	108	37.5	IgM	
20	Y.Y	9 E	+	18	1680	248	328	125	45	IgM	
21	A.G	25 E	+	50	1180	150	324	55	89	—	IgG
22	R.Y	30 E	+	25	1400	225	250	96	35	IgM + IgG	
23	M.Ç	25 E	+	35	1760	136	302	102	42.5	IgM + IgG	
24	H.Y	30 E	—	10	2100	326	280	96	45	IgM + IgG	
25	H.G	59 E	+	32	1560	220	184	92	45	IgM + IgG	
26	G.Ç	21 K	+	30	1820	154	86	82	42.5	—	IgG
27	A.K	50 E	+++	51	2100	216	192	96	21.5	IgM + IgG	
28	S.A	17 K	+	42	1680	275	350	125	35	IgM + IgG	IgG + IgM
29	S.C	17 K	+	39	2366	216	198	124	58	IgM	
30	H.İ	30 E	—	26	1380	100	192	96	33.5	IgM	
31	M.K	25 E	++	43	2100	146	282	84	36.5	IgM + IgG	

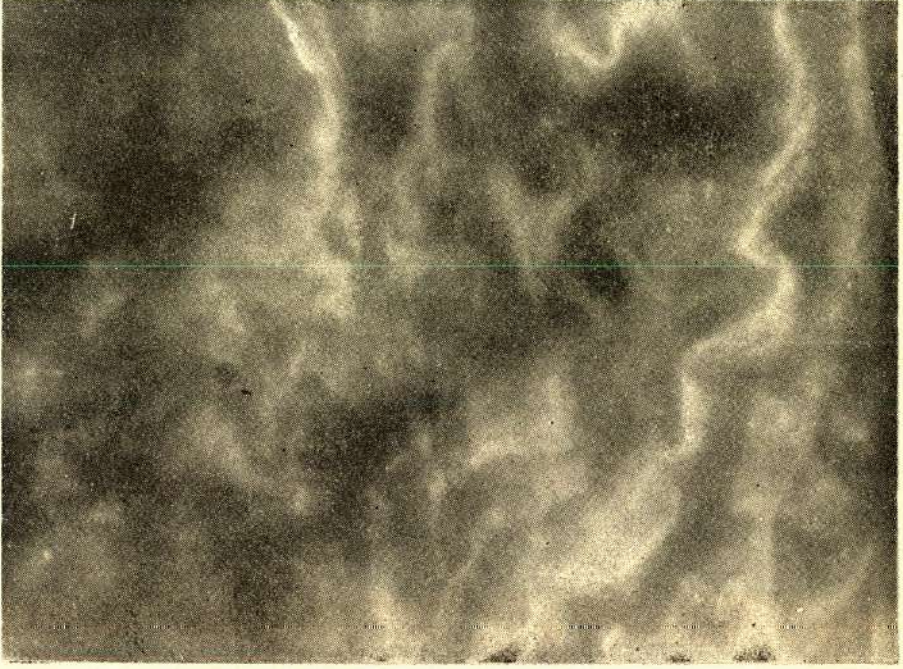


Resim - 1



Resim - 2

Floresin ile işaretli IgG antiserumu ile boyanmış perikistik doku kesitinin immünfloresan mikroskopda görünümü.



Resim - 3

Floreselin ile işaretli IgM antiserumu ile boyanmış olan perikistik doku kesitinin immünfloresan mikroskopta görünümü.

Perikistik dokunun direk immünfloresan teknik ile incelenmesi 13 olguda yapılmıştır. Cilt dokusunun aynı yöntem ile incelenmesi ise ancak 4 olguda mümkün olabilmektedir. 13 olgunun 9'unda bronşial çevresinde, elastifilerde IgG ve IgM cinsi immünglobulin birikimi, 4'ünde ise sadece IgM birikimi saptanmıştır. 4 olgunun cilt dokusu incelenmesinde, dermada, kollagen ve elastik liflerde, arteriol çevresinde IgG ve bir olguda IgM ile birlikte birikim gözlenmiştir. Perikistik ve cilt dokularında kompeksa ait bir birikim saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Hidatik kist ogularında literatür çalışmaları genellikle invitro hayvan deneylerine dayanmaktadır.

Ali Khan fareler üzerinde yaptığı hümorale ve hücresele immünolojik kontrollerde, invivo olarak bu hayvanlarda hücresele immün cevabın azaldığını, kist hidatikli farelerde periferik T hücre sayısında azalma ve lenfopeni bulunduğunu bildirmiştir. Bu hayvanların lenfoide dokularında (dalak ve lenf bezleri) yaptığı his-

topatolojik çalışmalarda da dokularda T hücrelerinde azalma yanında plazma hücreleri ve histiositlerde artma olduğunu kaydetmiştir. Humoral cevaplarında ise antihidatik antikor titresinin yükseldiğini belirtmiştir.

Baron ve Tanner de (1976) akciğer kist hidatigi bulunan farelerde T hücre depresyonu bulunduğunu saptamışlardır. Bulunan T hücre depresyonu, diğer kronik enfeksiyonlarda benimsenen aynı mekanizma ile oluşabileceği; yani T hücrelerinin hidatik antijene duyarlılığına kronik antijenik stimülasyon ve antijenik yüke bağlı olarak meydana gelebileceği ileri sürüldü (Nath 1974, Rook 1975).

Biz literatürde insan kist hidatigine hücresel immünite değişikliklerini inceleyen bir çalışmaya rastlıyamadık. Bizim çalışmamızda T hücre sayısı kist enfekte olgularda düşük değerlerde bulunmuş ve kontroller ile karşılaştırılmasında aradaki farkın anlamlı olduğu görülmüştür. ($P < 0,001$) Ancak cilt testi cevabı ile bir korelasyon kurulamamıştır., fakat bulgularda da belirtildiği gibi PPD reaksiyonu menfi olan 5 olguda E—rozet değerlerinin önemli derecede düşük olduğu dikkati çekti.

Hidatik kistli hastaların serumlarından yapılan immünoglobulin tayinlerinde literatürde değişik sonuçlar bildirilmiştir.

Matossian ve arkadaşları 1972 çalışmalarında IgM ve IgA antihidatik antikorların varlığını gösterdiler. Pinon ve Dropsy 1977. Antihidatik antikor olarak IgM grubu immün globulinlerin ve rüptüre kist vakalarında IgA düzeylerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda serum IgA düzeylerinde belirgin düşüklük görüldü. Vekontroller ile karşılaştırıldığında $P < 0,05$ ile anlamlı kaydedildi. IgG ve IgM düzeyleri normal değerlerden yüksek saptandı. IgM düzeyleri kontroller ile karşılaştırıldığında $P < 0,001$. IgG düzeylerinin normaller ile karşılaştırılmasında $P < 0,01$ idi.

Richard ve ark. (197) E. Granulosus protoskolekslerinin normal serum ile lizisini, protoskoleks yüzeyinde bulunan PAS pozitif reaksiyon veren substanslar ile komplemanın aktivasyonu şeklinde izah etmişlerdir.

Kassis ve Tanner (1976) kist mayiinde antikomplemanter aktiviteyi göstermişlerdir.

Bizim olgularımızda serum C_3 ve C_4 düzeylerinde önemli bir değişiklik saptanmamıştır. Cilt ve perikistik dokuların immünfloresan teknik ile incelenmelerinde kompleman depolanması izlenmemiştir.

Hidatik kist mayinin immün reaksiyon veren protein, karbonhidrat fraksiyonları içerdiği birçok çalışmalarla gösterilmiştir. Semipermeabl olan kist zarından bu antijenik özellik taşıyan maddelerin diğer dokulara geçtiği bilinmektedir. (4,9,10, 26). Membran permeabilitesi konakçılarda farklılık gösterir. Kist sıvısının antijenik özellikleride taşıyıcıya göre farklıdır. Bu farkın kistin gelişimi ve fertilitesi ilgili olduğu ileri sürülmüştür (9,10).

Fichman (1965) insanda kist sıvısının sığır ve koyununkinden daha antijenik olduğunu göstermiştir (1).

ÖZET

Akciğer kist hidatiği olgularında hücrel ve humoral immünite düzeyini araştırmak gayesi ile 31 hasta üzerinde cilt testi, T lenfosit sayısı, serum immünglobulin, kompleman değerleri ve perikistik doku ile cilt dokusunda immünfloresan tetkik yapılmıştır. T lenfosit sayısı, olguların büyük bir kısmında normal değerlerin altında saptanmıştır. $P < 0.001$ Cilt testi cevabı ile karşılaştırılmasında bir korelasyon kurulamamıştır. Serum immünglobulinlerinden IgA değerlerinde düşme, $P < 0.001$ ile anlamlı idi. IgM düzeyleri normal değerlerin üstünde olup $P < 0.001$ ile önemli derecede anlamlı olduğu gözlemlendi. IgG düzeyleri ise olguların yarısında yüksek değerlerde idi. $P < 0.01$ Serum kompleman düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir fark kaydedilmemiştir. 13 akciğer kist hidatik olgusunun 9'unda perikistik dokuda direk immünfloresan metod ile elastik liflerde, bronşiol çevresinde IgG ve IgM birikimi, 4 olguda yalnız IgM birikimi izlendi. Cilt dokusunda immünfloresan çalışma 4 olguda yapılabildi. Olgu sayısı az olduğundan değerlendirme güç oldu. 4 olguda da dermada elastik, kollajen lifler ve arteriol çevresinde IgG, 1 olguda IgG ve IgM birikimi saptanmıştır. Perikistik dokuda antijen antikor kompleksi oluşumu antijenin kist duvarına sızması ile izah edilebilir, ancak olguların hepsinde görülmemesi antijenik farklılık, konakçının immün cevabı ile yanıtlanabilir düşüncesindedir.

KAYNAKLAR

- 1) Akkaynak, S., Tanbuğa, G. Hidatik kisti hastalığının teşhisinde kist sıvısı skoleks-membran ve Dennis antijenleri ile yapılan kompleman birleşme reaksiyonunun değeri. *Tüberküloz ve Toraks* 20. 183. 1972.
- 2) Ardehalı, D., Kohnteb, J., Gerami, S., Behfourouz, H., Rezai, H.R. and Vaez-Zadeh, K. Evlution of counter immunoelectrophoresis crossed electroimmunodiffusion and agar gel diffusion for immunodiagnosis of human hydatid disease. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Fygiene*. 71. 6. 1977.
- 3) Baron R.W. and Tanner, C.E. The effect of immunosuppression on secondary *Echinococcus multilocularis* infections in mice. *J. Parasitol.* 6. 37-42, 1976.
- 4) Gapron, A., Yarzabal, L., Vernes, A and Fruit, G. Le diagnostic immunologie de l'echinococcose humains. *Pathologie et biologie*. 18. 357-365. 1970.
- 5) Dessaint, J.P., Bout, D., Wattre, P and Capron, A. Quantitative determination of specific IgE antibodies to *Echinococcus granulosus* and IgE levels in sera from patients with hydatid disease. *Immunology*. 29. 813. 1975.

- 6) Fontana, P.V. Le traitement chirurgical du kyste hydatique du poumon par la methode Uruguayenne ou extirpation du perikyste. *J de Chirurgie*. 69. 618. 1973
- 7) Huldt, G., Johansson, S. and Lantto, S. Echinococcosis in Northern Scandinavia. Immune reactions to echinococcus granulosus in Kautoksino Lapps. *Arch. Environ. Health*. 26. 36-40, 1973.
- 8) Hinz, E., Kirsten, Ch. Der indirekte immunfluoreszentest mit paraffineingebet teten histologischen schnitten als antigen bei der experimentellen echinococose. *Tropenmed. Parasit.* 29. 278-280, 1978.
- 9) Kagan, G.I. Echinococcus antigens. *Bull. WHO*. 39. 13-24. 1968 (lit. l'den ref.)
- 10) Kagan, G.I., Maddison, E.S., Norman, L. Reactivity of human immunoglobulins in echinococcus and trisinosis. *Trop. Med. and Hyg.* 17. 1. 1968.
- 11) Kagan, G.I., and Norman, L. The isolation and charecterisation of two host antigens in hydatid fluid of echinococcus granulosus. *American journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 12. 3. 346-357, 1963.
- 12) Kassis, A.I. and Tanner, T.C. The role of complement in hydatid disease : Invitro studies. *International Journal for Parasitology*. 6. 25-35. 1976.
- 13) Khan, A.Z. Host parasite relationship in echinococcosis I. Parasite bionass and antibody response in the strains of inbred mice against graded doses o of echinococcus multilocularis oysts. *Journal of Parasitology*. 60. 231-235. 1974 a.
- 14) Khan, A.Z. Host-parasite relationship in echinococcus. II Cyst weight, hematologic alterations, gross changes in the spleen and lymph nodes of C 571, mice against graded dosse of echinococcus multilocularis cysts. *Journal of Parasitology*. 60. 236-242. 1974 b.
- 15) Gemignani, M.C. Calculus and statistics. 1970.
- 16) Mancini, G., Carbonara, A.K. and Heremans, T.G. Immunochemical quintatior of antigens by single immunodiffusion. *Immunochemistry*. 2. 235. 1965.
- 17) Merdivenci, A. Türkiyede hidatik kist hastalığı 1976. İstanbul. İst. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. yayınları. No. : 2145.
- 18) Nath, I., Curtis, J., Bhutani, L.K. and Talwar, G.P. Reduction of a suppopulation of T lymphocytes in lepramatous leprosy. *Clinical and Axperimental Immunology*, 18. 81-87. 19746.
- 19) Oriol, C. and Oriol, R. Physicochemical properties of lipoprotein antigens of echinococcus granulosus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 24. 96-100. 1975.
- 20) Pinon, J.M., Dropsy, G. Immunological study of hydatidosis I. Evaluation of test of immunoelectrodifffusion in the humoral study of human hydatidosis. *Biomedicine*, 25. 341-344. 1976. Lit. 23'den ref.
- 21) Pinon, Ü.M., Dropsy, G. Enzyme linked immunoelectrodifffusion assay application of a combined immunoelectordifffusion and immuno enzyme method to the study of immün response in parasitic infections. *Journal of Immunological Methods*. 16. 15-22. 1977.

- 22) Rickard, M.D., Davies, C., Bout, D.T. and Symyh, J.D. Immunological localisation of two hydatid antigens (antigen 5 and antigen B) in the cyst wall, brood capsules and protoscoleces of echinococcus granulosus and E. multilocularis using immunoperoxidase methods. *J. Helminthology*. 51. 359-364. 1977.
- 23) Rickard, M.D., et al. Human hydatidosis : Evaluation of three serodiagnostic methods, the principal subclass of specific immunoglobulin and the detection of circulating immun complexes. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 72. 6. 1977.
- 24) Matossian, R.M., Kane, G.J., Chantler, S.M., Batty, I and Sarhadian, H. The specific immunoglobulin hydatic disease. *Immunology*. 22 423-430, 1972.
- 25) Rook, G.A.W. The immunological consequences of antigen overload in experimental mycobacteriel infections of mice. *Clin. and. Exp. Immunol.* 19. 167-177, 1975.
- 26 - Varela-Diaz, V.M., Dopez-Lemes, M.H. et al. Evaluation of four variants of the indirect hae maroglutination test for human hyddatidosis. *American journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 24. 304-311. 1975.
- 27) Yalav, E., Ökten, İ. Akciğer kist hidatiklerinin cerrahi tedavi yöntemleri. *A.Ü.T.F. yayını*. Sayı 336. 15-23. 1977.
- 28) Yarzabal, L.A., Dupas, H., Bout, D and Capron, A.E. granulosus. *Exp. Parasitol.* 40. 391-396. 1976.
- 29) Yarzabal, L.A. etzal. Further observations on the specficity of antigen 5 of E. granulosus. *J. Parasitol.* 63. 495-499. 1977 a.
- 30) Yarzabal, L.A. et al. E. grahulosus. *Exp. Parasitol.* 42, 115-120. 1977 b.