تعیین حساسیت و ویژگی آزمایش پادتن درخشان با روش غیرمستقیم در تیلریوز بدخیم گوسفند

دکتر زهره خاکی[1] دکتر صادق رهبری[2] دکتر ایرج نوروزیان[1]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۳، شماره ۳ و ۴، ۳۰ ـ ۲۷، (۱۳۷۷)

در این بررسی بالغ بر هزار رأس گوسفند در منطقه قرنطینه کشتارگاه فارس مورد مشاهده قرار گرفت که از این میان ۱۲۶ رأس دام واجد علائم بالینی تیلریوز بدخیم گوسفندی انتخاب شدند که پس از تهیه گسترش‌های خونی در ۹۲ رأس از آنها پارازیتمی مشاهده گردید. لذا به‌عنوان گروه آلوده به انگل نامگذاری شدند. به‌علاوه ۱۹ رأس گوسفند سالم به‌عنوان گروه شاهد انتخاب گردیدند. آزمایش پادتن درخشان با روش غیرمستقیم بر روی ۱۴۵ نمونه سرمی از سرم‌های آلوده به انگل و غیرآلوده به انگل جهت پادتن ضدتیلریا لستوکاردی (تیلریاهیرسی) انجام گرفت. نتایج شان می‌دهد که از ۱۰۲ نمونه سرمی مثبت ۸۵/۲۹ درصد در رؤیت میکروسکوپی واجد تیلریا لستوکاردی بوده در حالی که از ۴۳ نمونه سرمی منفی، ۱۱/۶۳ درصد آلودگی انگلی داشتند. حساسیت IFA در تشخیص تیلریوز بدخیم گوسفندی ۹۴/۵۷ درصد و ویژگی آن ۷۱/۷۰ درصد تعیین و اعلام می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: تیلریوز بدخیم گوسفند، تیلریا لستوکاردی، تیلریا هیرسی، آزمایش پادتن درخشان

تیلریوز بدخیم (Malignant theileriosis) گوسفند و بز یک بیماری کشنده با مرگ و میر بالا می‌باشد که به اشکال حاد، تحت حاد و مزمن مشاهده می‌گردد. عامل آن تیلریا لستوکاردی (Theileria lestoquardi) مترادف تیلریا هیرسی (Theileria hirci) می‌باشد و به‌وسیله کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم (Hyalomma anatolicum anatolicum) و در برخی مناطق ریپی سفالوس بورسا (Rhipicephalus bursa) انتقال می‌یابد (۶،۷،۸،۱۰،۱۱،۱۴ و ۱۵).

تیلریا لستوکاردی پیروپلاسمای داخل گویچه قرمز چند شکلی هستند که اشکال غالب آن کرد به قطر ۲ ـ ۰/۶ میکرون و بیضی به قطر ۱×۰/۵ میکرون می‌باشد. شیزونت‌های انگل یا اجسام آبی کخ (Koch's blue bodies) را در لنفوسیت‌های کبد، طحال و گره‌های لنفاوی سطحی بزرگ شده و یا برخی اوقات به‌صورت آزاد در خون جداری می‌توان دید. تیلریا لستوکاردی همچون تیلریاهای دیگر دارای میکروشیزونت، ماکرو شیزونت و سیر تکاملی مشابه می‌باشد (۱۲،۱۳ و ۱۴).

علائم بالینی تیلریوز بدخیم شامل: افسردگی، بی‌اشتهایی، افزایش درجه حرارت (۴۲ ـ ۴۰ درجه سانتیگراد)، ترشحات سروزی بینی و چشم، مخاط رنگ‌پریده و گاهی ایکتریک، افزایش ضربان قلب و تنفس و افزایش حجم ندول‌های لنفاوی سطحی می‌باشد، حیوان به‌علت تنگی نفس می‌میرد. علائم عصبی پیشرفته‌ای که در تیلریوز گاوی ممکن است مشاهده گردد تاکنون در تیلریوز بدخیم گوسفندان گزارش نشده است (۷،۱۳،۱۴ و ۱۵).

برخلاف گوسفندان بومی که ممکن است بهبودی خودبه‌خودی یابند، مرگ و میر شدیدی در گوسفندان دورگه مشاهده می‌گردد (۱۳). در سال ۱۹۹۲ در گزارشی از شیوع بیماری در سودان آمده است که حیواناتی که جهت فروش، شرایط حمل و نقل را متحمل می‌شوند واجد حساسیت بیشتری به بیماری هستند (۱۵).

هوشمند راد در سال ۱۹۸۹، پاراواکون (Paravaquon) را به میزان ۲ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن زنده در تیلریوز بدخیم گوسفند مورد استفاده قرار داد. به‌نظر می‌رسد که این ترکیب در مقایسه با هالوفوژینون (Halofuginone) کاربردی‌تر می‌باشد (۵).

مواد و روش کار

در این بررسی که در تیرماه ۱۳۷۲ در مجتمع صنعتی گوشت فارس به انجام رسید، بالغ بر هزار رأس بره زیر یکسال به‌طور انفرادی مورد مشاهده بالینی قرار گرفت که از این میان ۱۲۶ رأس دام واجد علائم بالینی تیلریوز انتخاب و بر اساس رؤیت انگل در گسترش‌های خونی آنها ۹۲ رأس به‌عنوان گروه آلوده به انگل انتخاب شد. به‌علاوه ۱۹ رأس دام نیز که فاقد علائم بالینی و آلودگی انگلی بودند نیز به‌عنوان گروه شاهد انتخاب گردید. ابتدا وضعیت مراجی کلیه دام‌های گروه بیمار و شاهد ثبت و سپس اقدام به خون‌گیری از ورید و داج آنها گردید.

از هر بره ۵ میلی‌لیتر خون توسط ونوجکت فاقد ماده ضد انعقاد و ۳ میلی‌لیتر خون توسط لوله ونوجکت حاوی اتیلن دی‌آمین تترااستات (EDTA) تهیه گردید. جهت آزمایش پادتن‌های درخشان با روش غیرمستقیم (Indirect fluorescent antibody) پس از لخته شدن خون فاقد ماده ضدانعقاد و دکله کردن آن، لوله‌های نمونه را با ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ نموده و سپس سرم آن را به‌وسیله پی‌پت پاستور جدا و در مجاورت یخ به تهران منتقل و در بخش انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تحت برودت ۲۰ ـ تا ۷۰ ـ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

از هر یک از خون‌های حاوی ماده ضد انعقاد دو گسترش نازک خونی تهیه شد که پس از ثبت مشخصات دام بر روی آن، با متانول ثابت و پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا از نظر وجود انگل مورد بررسی دقیق (مشاهده ۳۰ میدان میکروسکوپی) قرار گرفتند.

جهت آزمایش IFA و به‌منظور تهیه آنتی‌ژن از بخش تیلریوز گوسفندی مؤسسه رازی یک فلاکن واکسن تیلریا لستوکاردی تهیه گردید. این واکسن حاوی لنفوسیت‌های شیزونت‌داری است که بر اساس پاساژهای مکرر تخفیف حدت یافته‌اند. پس از انتقال واکسن به تانک ازت مایع، واکسن به دانشکده انتقال یافت. سپس فلانکن واکسن در آب ۳۷ درجه قرار گرفت و بلافاصله در ویال‌های کوچک تقسیم شد و کلیه ویال‌ها به‌جز دو ویال پس از رعایت اصول انجماد کند تحت برودت ۷۰ ـ درجه سانتیگراد قرار گرفت.

واکسن موجود در یکی از ویال‌ها پس از رقیق شدن با حلال استریل واکسن، به گوسفند سالم جهت تهیه سرم مثبت تزریق شد و از واکسن موجود در ویال دیگر جهت تهیه لکه‌های آنتی‌ژن بر روی لام استفاده گردید. بدین‌منظور یک میلی‌لیتر از واکسن با ۹ میلی‌لیتر از حلال مخصوص واکسن مخلوط و پس از ۵ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از دو بار شستشو با روش فوق‌الذکر و خارج کردن مایع رویی، مجدداً ۱ میلی‌لیتر حلال واکسن بر روی سلول‌ها ریخته شد و جهت اطمینان از وضعیت سلول‌ها، یک قطره از آنها با یک قطره از محلول تریپان‌بلو (Trypan blue) مخلوط و زیر میکروسکوپ درصد سلول‌های زنده تعیین گردید. با این روش سلول‌های مرده رنگ آبی به‌خود می‌گیرند، در صورتی که سلول‌های زنده فاقد رنگ می‌باشند پس از اطمینان از

۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران ـ ایران.
۲) گروه آموزشی انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران ـ ایران.

زنده بودن سوش واکسن، با استفاده از سمپلر ۱۰ لاندا، ۶ لکه آنتی‌ژنی بر روی لام میکروسکوپی تهیه و با مداد الماس محیط لکه آنتی‌ژنی نیز مشخص گردید. پس از خشک شدن لکه‌های آنتی‌ژنی در حرارت اطاق، آنها را در استن به مدت دو دقیقه ثابت کرده و پس از خشک شدن، اسلایدها را در کاغذ پیچانده و در کیسه پلاستیکی قرار داده، جهت نگهداری آنها از برودت ۷۰ـ یا ۲۰ـ درجه سانتیگراد استفاده گردید. به‌منظور قرار دادن لکه آنتی‌ژنی بر روی لام می‌توان از هموبیل استفاده نمود.

جهت اطمینان از روش کار در هر سری آزمایش از یک نمونه سرم مثبت و یک نمونه سرمی منفی می‌بایست استفاده گردد. برای تهیه نمونه سرم مثبت همانگونه که قبلاً نیز ذکر شد واکسن تیلریا لستوکاردی به گوسفند سالمی تزریق و پس از گذشت ۴ هفته از حیوان خون‌گیری و سرم آن جدا شد و به‌عنوان سرم مثبت در ۷۰ـ درجه سانتیگراد و در چندین ویال نگهداری گردید.

از کونژوگه اختصاصی ضدپادتن IgG شرکت مایلز (Miles scientific) استفاده شد که در موقع آزمایش پس از محاسبه میزان مورد نیاز، از ویال مربوطه با سرنگ انسولین کشیده و آنگاه از آنها رقت $\frac{1}{32}$ تهیه و در لوله‌های مجزا به میزان ۶۰۰ میکرولیتر تقسیم کرده و در فریزر ۲۰ـ یا ۷۰ـ درجه سانتیگراد تا موقع مصرف نگهداری گردید. از بافر نمکی فسفاته (Phosphate buffer salin) با pH=۷/۲ جهت شستشوهای مورد نیاز در طی مراحل مختلف آزمایش استفاده شد (۲).

سرم‌های موردنظر و لام‌های حاوی لکه‌های آنتی‌ژنی را از انجماد خارج کرده و در حرارت اطاق قرار می‌دهیم. سپس اطراف هر یک از لکه‌های آنتی‌ژنی را با ماژیک ضدآب مشخص کرده و با ماژیک نیزه پیکانی جهت‌دار در گوشه‌ای از لام می‌کشیم تا جهت ریختن نمونه‌ها مشخص گردد. محل ریختن سرم مثبت و منفی را با علامت (مثبت و منفی) مشخص می‌کنیم.

از هر یک از نمونه‌های سرمی رقت $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{20}$ را با PBS تهیه کرده و سپس ۲۰ میکرولیتر از هر رقت را بر روی هر یک از لکه‌ها به‌طور جداگانه ریخته و سپس لام‌های آماده شده را در داخل اطاقک مرطوب قرار داده و اطاقک مرطوب را در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت نیم ساعت می‌گذاریم پس از اتمام این مرحله، لام‌ها را از داخل انکوباتور و اطاقک مرطوب خارج کرده و جهت شستشو آنها را از سه حمام بافر نمکی فسفاته به مدت ۱۵ دقیقه عبور می‌دهیم. سپس لام‌ها را خارج نموده و بافر اضافی از لبه‌های اسلاید را با پارچه تمیز و خشکی گرفته، سپس یک میلی‌لیتر از غلظت $\frac{1}{32}$ کونژوگه اختصاصی ضدپادتن IgG گوسفندی را که حاوی فلوئورسئین ایزوتیوسیانات (Fluorescein isothiocyanate) است با یک قطره رنگ اوانس بلو (Evans blue) یک درصد مخلوط کرده و به میزان ۲۰ـ ۱۰ میکرولیتر بر روی هر یک از لکه‌های آنتی‌ژنی ریخته و لام‌ها را مجدداً در اطاقک مرطوب و در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت نیم ساعت قرار می‌دهیم. باید دقت کرد که در دو مرحله‌ای که لام‌ها در اطاقک مرطوب است نبایستی سطح لکه‌ها خشک گردد. سپس لام‌ها را از اطاقک مرطوب خارج کرده و در ۳ یا ۴ مرحله با بافر فسفاته نمکی به‌خوبی به‌مدت ۱۵ دقیقه شستشو می‌دهیم. سپس ۲ یا ۳ قطره گلیسیرین بافره بر روی لام افزوده و بعد لامل مناسبی را بر روی اسلاید قرار داده به شکلی که کلیه لکه‌های آنتی‌ژنی را بپوشاند. برای مشاهده میکروسکوپی از میکروسکوپ فلورسنت در شرایط تاریکی استفاده گردید.

در صورتی که لنفوسیت‌ها حاوی شیزونت باشند به‌صورت سبز درخشان مشاهده می‌گردند که حاکی از واکنش پادتن و پادگن و اتصال کونژوگه ضدایمونوگلوبولین گوسفندی فلوئورسینه به آن است (۲). نتایج آماری به‌دست آمده توسط این مطالعه با آزمون آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

۱۴۵ نمونه سرم (دام‌های شاهد، آلوده به انگل و غیرآلوده به انگل) با استفاده از روش غیرمستقیم پادتن درخشان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در جدول شماره ۱ خلاصه گردیده است. آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را در پاسخ سرمی گروه آلوده به انگل و غیرآلوده به انگل مشخص می‌سازد.

جدول ۱ـ نتایج آزمایشات سرمی IFA در حیوانات شاهد و بیمار

آزمایش IFA	شاهد	بیمار	
		آلوده به انگل	غیرآلوده به انگل
موارد مثبت	۱۰	۸۷	۵
موارد منفی	۹	۵	۲۹
جمع کل نمونه‌ها	۱۹	۹۲	۳۴

جدول ۲ـ مقایسه آزمایشات سرمی پادتن درخشان با روش غیرمستقیم با رؤیت میکروسکوپی انگل

آزمایشات سرمی پادتن درخشان‌باروش‌غیرمستقیم	آزمایشات میکروسکوپی		جمع کل	درصد مثبت
	آلوده به‌انگل	غیرآلوده به‌انگل		
موارد مثبت	۸۷	۱۵	۱۰۲	۸۵/۲۹
موارد منفی	۵	۳۸	۴۳	۱۱/۶۳
جمع کل	۹۲	۵۳	۱۴۵	

نتایج آزمایشات سرمی پادتن درخشان با رؤیت میکروسکوپی انگل در موارد سرمی که آلوده به انگل بوده‌اند نیز مورد مقایسه قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۲ ارائه گردیده است. آزمون آماری پاسخ سرمی را در دو گروه آلوده به انگل و غیرآلوده به انگل واجد اختلاف معنی‌داری می‌داند.

بحث

در ارتباط با درصد آلودگی گویچه‌های قرمز به انگل گزارشات متفاوتی وجود دارد. سیسودیا (Sisodia) و گاتام (Gautam) درصد آلودگی را ۱۵ـ ۲ درصد در گوسفندانی که به‌طور تجربی به‌وسیله کنه آلوده شدند، گزارش کردند. حداکثر پارازیتمی در تحقیقات هوشمند راد و هاوا ۱۵ درصد می‌باشد. در بررسی حاضر حداکثر آلودگی گویچه‌های قرمز به میزان ۲ درصد مشاهده شده است که نزدیک به مشاهدات سیسودیا و گاتام می‌باشد.

جهت تأیید شیزونت در نمونه‌های واجد فرم پیروپلاسمی انگل به سه رأس دام که به منظور کشتار اضطراری مورد ذبح قرار گرفته بودند، بسنده شد که پس از تهیه گسترش تماسی در کبد و رنگ‌آمیزی باگیمسا مورد بررسی دقیق میکروسکوپی قرار گرفت. در سه مورد فوق به‌ترتیب ۴، ۳ و ۱ شیزونت در هر میدان میکروسکوپی مشاهده گردید. به‌علاوه هر سه مورد نیز واجد تیتر سرمی در آزمایش پادتن درخشان بوده‌اند.

بنابراین با عنایت به خصوصیات بالینی و مشخصات ریخت‌شناسی فرم پیروپلاسمی، رؤیت شیزونت‌ها و همچنین نتایج مثبت سرمی بر علیه آنتی‌ژن کشت سلولی تیلریا لستوکاردی به‌طور یقین کلیه موارد موردنظر می‌تواند مربوط به تیلریالستوکاردی باشد.

آزمایش پادتن درخشان توسط محققین مختلف بر روی تیلریا آنولاتا و تیلریا پاروا قبلاً انجام گرفته بود (۳ و ۴) و طی سال‌های اخیر جهت تشخیص و کارهای تحقیقاتی نیز بر روی تیلریالستوکاردی به‌کار گرفته شد (۹ و ۱۵).

در بررسی حاضر پس از آزمایش پادتن درخشان با روش غیرمستقیم ۱۴۵

نمونه سرمی مشخص گردید که ۸۷ نمونه سرمی از نظر پادتن درخشان مثبت و ۵ نمونه منفی است که موارد منفی می‌تواند ناشی از پاسخ ایمنی بدن به تیلریا هیرسی باشد بدین‌معنی که پاسخ ایمنی هنوز به اندازه‌ای نیست که در آزمایش بتوان آن را اندازه گرفت، چنانچه در موارد دیگری همچون پاراتوبرکولوزیس نیز چنین است (۱). همچنین در بررسی ۳۴ نمونه سرمی دام‌های فاقد پارازیتمی مشخص گردید که ۵ مورد مثبت و ۲۹ مورد منفی می‌باشد. در دام‌های شاهد به‌ظاهر سالم ممکن است ناشی از تماس قبلی این دام‌ها با تیلریا لستوکاردی و بهبودی خودبخودی آنها باشد (۱۲). لیمن و همکاران ۱۹۹۷ در تجربیات خود نشان دادند که اولین شواهد حضور آنتی‌بادی ۱۵ روز بعد از آلودگی و تا ۱۹۰ روز بعد از آلودگی قابل پیگیری سرولوژیک می‌باشد (۹).

مقایسه نتایج آزمایشات سرمی پادتن درخشان با رؤیت میکروسکوپی انگل نشان داد که از مجموع ۱۰۲ نمونه سرمی که در آزمایش پادتن درخشان مثبت بوده‌اند، ۸۵/۲۹ درصد آنها در رؤیت میکروسکوپی واجد انگل نیز بوده‌اند و حال آنکه از ۴۳ نمونه سرمی که در آزمایش فوق منفی قلمداد شده‌اند فقط ۱۱/۶۳ درصد آنها در رؤیت میکروسکوپی واجد انگل بوده که از نظر آماری معنی‌دار است.

حساسیت و ویژگی آزمایش پادتن درخشان نیز مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان می‌دهد که حساسیت آزمایش IFA برای تشخیص تیلریوز بدخیم گوسفندی ۹۴/۵۷ درصد و ویژگی آن ۷۱/۷۰ درصد می‌باشد.

با نگاهی دقیقتر به نتایج فوق چنین به‌نظر می‌رسد که از آزمایش پادتن درخشان در بررسی‌های سرواپیدمیولوژی می‌توان استفاده نمود.

منابع

۱. بخشش، م. بررسی روش‌های پیش‌گیری و کنترل پاراتوبرکولوزیس. پایان‌نامه شماره ۲۱۸۴ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران؛ (۷۲ - ۱۳۷۱).

۲. رزمی، غ. بررسی سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموزیس و اهمیت آن در سقطجنین و مرده‌زدایی در گوسفندان استان مازندارن و مقایسه سرولوژی آگلوتیناسیون (D.A) با روش‌های سرولوژی ایمینوفلورسنت غیرمستقیم (I.F.A.T) و تست رنگی (D.T). پایان‌نامه شماره ۱۸ تخصصی انگل‌شناسی دانشگاه تهران، (۷۴ - ۱۳۷۳).

3 . Emery, D.L. Kinetics of infection with Theileria parva (East Coast Fever) in the central lymph of cattle. Vet. Parasitology, 9, 1-16, (1981).

4 . Goddeeris, B.M. et al Indirect fluorescent antibody test for experimental and epizootiological studies on East Coast Fever (Theileria parva infection in cattle.) Evaluation of cell culture Schizont antigen fixed and stored in suspension. Research in Vet. Science, 33(3), 360-365, (1982).

5 . Hooshmand Rad, P. Chemotherapy of ovine malignant Theileriosis. Arch Inst. Razi, 40, 1-8, (1989).

6 . Hooshmand Rad, P. and Hawa, H.J. Malignant theilleriosis in sheep and goats. Tropp. Anim. Hlth. Prod. 5, 97-102, (1973).

7 . Hooshmand Rad, P., Hawa, H.J. Transmission of Theileria hirci in sheep by Hyalomma anatolicum anatolicum. Trop. Anim. Hlth. Prod. 5, 103-109, (1973).

8 . Khanna, B.M. et al Pathogenesis of lesions in bovine cerebral theileriosis. In haemoprotozoan diseases of domestic animals (Proc. Seminar CWVA Asian / Australian regions.) Haryana Agric, Univ. Hissar, India 27 Oct. to 1 Nov. (1980). Vet. Bulletin 55(6) 437 Abst. 3597, (1985).

9 . Leemans, I., Hooshmand Rad, P. and Uggla, A. The indirect fluorescent antibody and antibody test based on Schizont antigen for study of the sheep parasite theileria lestoquardi, Vet. Para. 69(1-2), 9-18, (1997).

10 . Lewis, D. and Purnell, R.E. The piroplasm Theileria ovis detected in sheep in southth wales. Vet Record 108(3), 56-57, (1981).

11 . Mazlum, Z. Vectors of Theileria hirci in south and southeast of Iran. Annales de Parasitologie (Paris) 4(45), 523-526, (1970).

12 . Prunell, R.E. Blood protozoa, Parasites, pests and predatorts Bz. ed. by: Gaafar, S.M., Elsevier, Amesterdam, (1985).

13 . Sisodia, R.S. and Gautam, O.P. Experimental cases of Theileria hirci infection in sheep and goats. Indian, J. Anim. Sci., 53(2): 162-166, (1983).

14 . Soulsby, E.J.L. Helmints, Arthropods and protozoa of domesticated animals. PP: 733, 736, 737. ed: 7, Bailliere tindall, London, (1986).

15 . Tageldin, M.H. et al. An outbreak of theileriosis in sheep in Sudan. Trop. Anim. Hlth. Prod. 24, 15-16, (1992).

Determination of sensitivity and specificity of indirect fluorescent antibody test in ovine malignant theileriosis

Khaki, Z.[1] , Rahbari, S.[2], Nowrouzian, I.[1]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.* [2]*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.*

A survey was conducted on one thousand sheep in quarantine of Fars slaughter house. From this population, a group of 126 sheep with symptom of ovine malignant theileriosis were selected. the prepeared Blood smears showed that 92 sheep had

parasitemie fluorescent antibody. The results showed that among 102 positive sera, 85.29% had theileria hirci with in their blood smears while out of 43 negative IFA'S sera, 11.93% had addition, 19 healthy sheep were taken out as the control group.

A total of 145 sera from infected aand noninfected sheep were tested for antibody against theileria lestoquardi (T. hirci) by indirect In wich considered as the infected group.

parasitemia. Sensitivity and specificity of IFA in the diagnosis of malignant theileriosis in sheep was determined 94.57% and 71.70% respectively.

Key words: Ovine malignant theileriosis, Theileria lestoquardi, Theileria hirci, Indirect fluorescent antibody test.