

ارزیابی آزمایش آگلوتیناسیون لاتکس (LAT) و هماگلوتیناسیون غیرمستقیم (IHA) جهت تشخیص دیکروسلیوز گوسفند

محمد حسین راضی جلالی^۱ مسعود قربانپور^۱ فروزان جهانگیری نصر^۲

(۱) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(دریافت مقاله: ۳۰ تیر ماه ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۱ شهریور ماه ۱۳۹۶)

چکیده

زمینه مطالعه: ترماند دیژن دیکروسلیوم دندریتیوکوم انگل کبد، مجاری صفراوی و کیسه‌ی صفراوی پستانداران خصوصاً نشخوارکنندگان است که با استفاده از روش‌های ایمنی‌شناسی می‌توان به تشخیص زود هنگام آلودگی اقدام نمود. هدف: مقایسه آگلوتیناسیون لاتکس و هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در تشخیص آنتی‌بادی ضد دیکروسلیوم دندریتیوکوم در سرم گوسفندان آلوده بود. روش کار: پس از جداسازی انگل‌های زنده از کبد گوسفندان آلوده، بخشی از انگل‌ها به منظور تهیه آنتی‌ژن پیکری با استفاده از سونیکاتور هموزن شدند و بخشی دیگر در شرایط استریل به محیط کشت انتقال یافتند تا از مواد ترشح شده از انگل به عنوان آنتی‌ژن دفعی ترشحی استفاده شود. از گوسفندان آلوده و بره‌های غیر آلوده به دیکروسلیوم دندریتیوکوم به منظور تهیه سرم‌های مثبت و منفی خونگیری به عمل آمد. جهت تست آگلوتیناسیون لاتکس روی ذرات لاتکس، آنتی‌ژن‌ها جداگانه اضافه و مخلوط شدند تا اتصال آنتی‌ژن به ذرات لاتکس برقرار شود. نمونه‌های سرم مثبت و منفی به لاتکس فوق اضافه و از نظر واکنش لاتکس آگلوتیناسیون مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمایش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم پس از رقت‌سازی سرم‌ها، به گلول قرمز حساس شده، آنتی‌ژن اضافه و مخلوط گردید و از نظر ظهور واکنش هماگلوتیناسیون مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج: حساسیت و ویژگی روش لاتکس آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی‌ژن دفعی ترشحی به ترتیب ۸۴٪ و ۹۷/۶٪ و در استفاده از آنتی‌ژن پیکری ۹۶٪ و ۹۷/۶٪ محاسبه شد. حساسیت و ویژگی روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم با استفاده از آنتی‌ژن دفعی ترشحی به ترتیب ۶۰٪ و ۹۲/۹٪ و در استفاده از آنتی‌ژن پیکری ۹۲٪ و ۶۶/۷٪ محاسبه شد. نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به بررسی حاضر روش لاتکس آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی‌ژن دفعی ترشحی و سوماتیک از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردار است و روشی سریع و بدون نیاز به ابزار خاص در تشخیص دیکروسلیوزیس می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: دیکروسلیوم دندریتیوکوم، لاتکس آگلوتیناسیون، هماگلوتیناسیون غیرمستقیم، گوسفند

مقدمه

(های) شناورسازی مورد استفاده، سن و مدت زمان بعد از آلودگی نیز تأثیرگذار هستند (۳، ۴، ۱۷). بنابر نظر Campo و همکاران در سال ۲۰۰۰ و Senlik و همکاران در سال ۲۰۰۶ تعداد تخم دفع شده در یک دام نه تنها از یک روز به روز دیگر، بلکه در ساعات مختلف روز هم تغییر می‌کند (۲، ۱۹). در ۳۰ سال گذشته روش‌های ایمنی‌شناسی پیشرفت قابل توجهی در تشخیص دیکروسلیوزیس داشته‌اند (۱۴). در این ارتباط روش‌های مختلفی نظیر رسوبی، هماگلوتیناسیون، ثبوت کمپلمان و الیزا مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۸). با توجه به طولانی بودن فاصله‌ی آلودگی و دفع تخم، این روش‌ها در تشخیص زود هنگام آلودگی ارزش زیادی دارند (۴). این ترمانود زمینه‌ساز سایر بیماری‌های عفونی کلسترییدیایی در میزبان‌های آلوده و بیمار است و همچنین باعث خسارت اقتصادی بالایی می‌شود. کاهش تولیدات دام‌ها در آلودگی شدید دیده می‌شود (۸). تشخیص آلودگی در مراحل ابتدایی بیماری می‌تواند در کاهش خسارت نیز مؤثر باشد (۹). تاکنون روش‌های به کار برده شده برای کنترل آلودگی موفق نبوده است، بنابراین تشخیص دقیق اولیه اهمیت زیادی دارد (۴). با توجه به اهمیت اقتصادی و بهداشتی انگل و با توجه به نقاط ضعف آزمایش مدفوع در شناسایی آلودگی، دستیابی به روش‌های تشخیصی که از کارایی لازم برخوردار هستند، در خور توجه و

دیکروسلیوزیس بیماری انگلی کرمی ناشی از دیکروسلیوم دندریتیوکوم از انواع ترمانودهای دیژنه‌آست که بنا بر عقیده‌ی ولف، از دو منظر بهداشتی و اقتصادی از اهمیت ویژه‌ای در دام‌های نشخوارکننده برخوردار است (۱۵). این انگل گسترش جهانی داشته و کرم بالغ در کیسه صفرا و مجاری صفراوی کبد پستانداران و بویژه نشخوارکنندگان زندگی می‌کند ولی انسان هم تصادفاً به آن مبتلا می‌شود (۱۶). در این مورد در سال‌های اخیر آلودگی انسان در عربستان، ترکیه، قرقیزستان و ایران گزارش شده است (۶، ۸، ۱۱، ۲۳). به دلیل وقوع شکل تحت درمانگاهی دیکروسلیوزیس، در اغلب موارد بیماری به صورت بالینی و صرفاً از روی علائم تشخیص داده نشده و به همین دلیل است که تشخیص اساساً در ضمن بررسی‌های کشتارگاهی یا کالبدگشایی و جداسازی ترمانود بالغ از مجاری صفراوی و یا توسط آزمایش مدفوع با دیدن و شناسایی تخم کرم در دام زنده صورت می‌گیرد، اگرچه براساس گزارش Ambrosi در سال ۱۹۸۰، آزمایش مدفوع گوسفندان با کمتر از ۱۰۰ عدد کرم بالغ منفی خواهد بود (۱، ۱۹). از طرفی در آزمون‌های مدفوعی نوع روش به کار گرفته شده، نوع محلول



۴ mM محیط کشت، حداقل ۴۰۰ انگل در نظر گرفته شد. محیط کشت حاوی انگل به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور 37°C قرار گرفت. پس از ۴۸ ساعت محیط کشت حاوی مواد دفعی ترشحاتی انگل‌ها جداسازی شده و ۲ دقیقه با دور ۲۵۰۰ گردان در 4°C سانتریفوژ گردید. مایع رویی را برداشته که پس از عبور از فیلتر $0.2\ \mu\text{m}$ ، استریل شد (۱۸).

اندازه گیری پروتئین به روش برادفورد: جهت تعیین میزان پروتئین آنتی ژن پیکری و دفعی - ترشحاتی از روش برادفورد استفاده شد و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج $595\ \text{nm}$ قرائت گردید (۱۴، ۱۲).

روش انجام آزمون لاتکس آگلوتیناسیون: استانداردسازی روش لاتکس آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی ژن‌های دفعی ترشحاتی و پیکری مطابق روش Javier و همکاران در سال ۱۹۹۱ صورت گرفت.

روی صفحه لاتکس، تمام نمونه‌های مثبت و منفی دیکروسلیوم دندریتی‌کوم هر کدام جداگانه یک بار به لاتکس حاوی آنتی ژن دفعی - ترشحاتی اضافه گردید و بار دیگر تمام نمونه‌های مثبت و منفی دیکروسلیوم دندریتی‌کوم نیز جداگانه به لاتکس حاوی آنتی ژن پیکری اضافه و وقوع آگلوتیناسیون زیر نور چراغ مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

استاندارد سازی روش هم‌آگلوتیناسیون غیر مستقیم با استفاده از آنتی ژن‌های دفعی - ترشحاتی و پیکری: بر اساس روش بکار رفته در مطالعه Jithendran و Bhat در سال ۱۹۹۶ صورت گرفت. رقت‌های ۱+، ۲+، ۳+، ۴+ به عنوان مثبت تلقی می‌شدند. به منظور ارزیابی واکنش‌های متقاطع دو سرم از گوسفندان آلوده به کیست هیداتیک و دو سرم از گوسفندان آلوده به فاسیولا ژیگانیتیکا که آلودگی آن‌ها پس از کشتار محرز شده بود، مورد آزمایش قرار گرفتند. حساسیت و ویژگی تست‌های آگلوتیناسیون لاتکس و هم‌آگلوتیناسیون غیر مستقیم محاسبه شدند (۲۰).

نتایج

غلظت پروتئین آنتی ژن پیکری با استفاده از روش برادفورد $1512\ \mu\text{g/ml}$ و آنتی ژن دفعی - ترشحاتی $450\ \mu\text{g/ml}$ بود.

نتایج لاتکس آگلوتیناسیون و هم‌آگلوتیناسیون غیر مستقیم: در آزمایش لاتکس آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی ژن دفعی ترشحاتی، در مقایسه با یافته‌های پس از کشتار، از ۵۰ نمونه سرم گوسفندان آلوده به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم تعداد ۴۲ نمونه واکنش مثبت نشان دادند (حساسیت ۸۴٪). طی آزمایش مذکور از ۴۲ نمونه سرم گوسفندان غیر آلوده به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم تعداد ۴۱ نمونه واکنش منفی نشان دادند (ویژگی ۹۷/۶٪).

طی آزمایش لاتکس آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی ژن پیکری، در مقایسه با یافته‌های پس از کشتار، از ۵۰ نمونه سرم گوسفندان آلوده به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم تعداد ۴۸ نمونه واکنش مثبت نشان دادند (حساسیت ۹۶٪). طی آزمایش مذکور از ۴۲ نمونه سرم گوسفندان غیر

اهمیت می‌باشند. تست‌های سرولوژیک باتوجه به دوره‌ی طولانی آلودگی دام‌ها به دیکروسلیوز، که گاهی سال‌ها طول می‌کشد، در تشخیص به موقع و درمان بیماری، به‌منظور کاهش زیان‌های اقتصادی مفید می‌باشند (۱۳). Jithendran و همکاران در سال ۱۹۹۶ از روش‌های ژل دیفوزیون، کانترایمونوالکتروفورز و هم‌آگلوتیناسیون در تشخیص دیکروسلیوز گوسفند و بز استفاده نمودند (۱۰). Meshgi و Khodaveisi در سال ۲۰۱۴ آنتی ژن‌های پیکری و دفعی - ترشحاتی دیکروسلیوم دندریتی‌کوم را مورد مطالعه قرار داده و استفاده از آن‌ها یا قطعات ۲۷-۲۵ کیلو دالتونی آن‌ها را برای آزمایش‌های سرولوژیک مناسب دانسته‌اند (۱۳). هدف از انجام این مطالعه ارزیابی قابلیت روش‌های سرم‌شناسی لاتکس آگلوتیناسیون و هم‌آگلوتیناسیون غیر مستقیم در تشخیص آلودگی گوسفندان به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم بود.

مواد و روش کار

تهیه نمونه‌های سرم گوسفندان آلوده به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم: برای این منظور طی مراجعه تدریجی به کشتارگاه خرم‌آباد از ۵۰ گوسفند آلوده به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم که آلودگی آن‌ها در بازرسی پس از کشتار تأیید شده بود، خونگیری و در آزمایشگاه، سرم جدا و تا زمان آزمایش (۲ تا ۴ ماه بعد) در دمای 20°C - نگهداری شدند.

تهیه نمونه‌های سرم بره‌های غیر آلوده به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم: ۴۲ نمونه خون منفی، از بره‌های با سن ۱ هفته تا ۱ ماهه که احتمال آلودگی کمی داشتند در روستای دارتی شهرستان خرم‌آباد تهیه و در آزمایشگاه، سرم نمونه خون جدا و در دمای 20°C - نگهداری شد. برای اطمینان بیشتر از عدم آلودگی نمونه‌ها به روش سرم‌شناسی کانترایمونوالکتروفورز پس تأیید گردیدند (۱۴).

تهیه آنتی ژن‌های پیکری: کبد گوسفندان آلوده به دیکروسلیوم دندریتی‌کوم از کشتارگاه شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه انگل‌های زنده جداسازی شده و جهت تهیه آنتی ژن مورد استفاده قرار گرفتند. انگل‌های بالغ زنده در چند مرحله با PBS (۷/۴) شستشو داده شدند تا مواد زائد آن‌ها کاملاً خارج شود. انگل‌ها ۱۰ بار توسط دستگاه سونیکاتور (۸۰ پالس در دقیقه) در کنار یخ سونیکه شدند تا پروتئین‌های سوماتیک به حالت محلول درآمده و با دور ۷۰۰۰ گردان به مدت ۵ دقیقه در 4°C سانتریفوژ گردید. مایع رویی برداشته و پس از عبور از فیلتر $0.2\ \mu\text{m}$ در فریزر 20°C - تا زمان آزمایش نگهداری شد (۱۸).

تهیه آنتی ژن‌های دفعی - ترشحاتی: انگل‌های جمع‌آوری شده از کبدهای آلوده، چندین بار با PBS (pH=۷/۴) چندبار شستشو داده شدند تا مواد زائد آن‌ها جدا شود و در پایان با PBS حاوی جنتامایسین نیز شستشو شدند. پس از اطمینان از زنده بودن انگل‌ها، به محیط کشت RPMI غنی شده با Glutamax-HEPES - و حاوی جنتامایسین منتقل گردید. به ازای

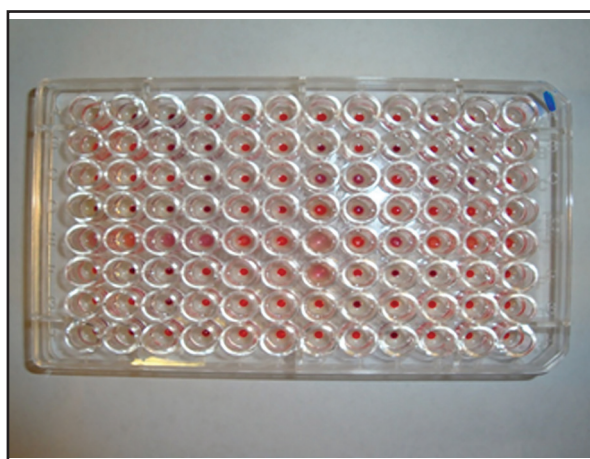


جدول ۱. حساسیت و ویژگی روش لاتکس آگلوتیناسیون در تشخیص دیکروسلیوز گوسفند.

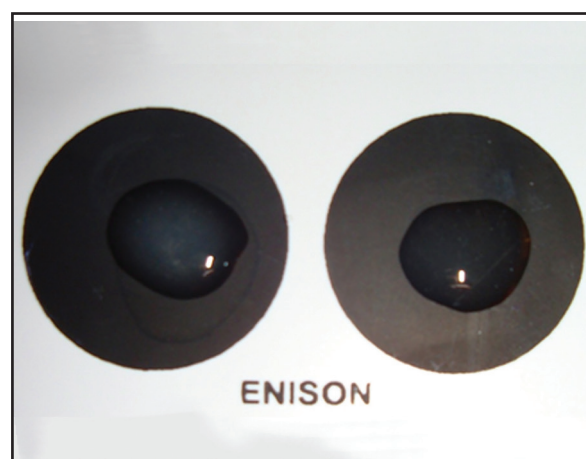
نمونه منفی		نمونه مثبت		نمونه سرم	نوع آنتی ژن
درصد ویژگی	واکنش منفی	درصد حساسیت	واکنش مثبت		
۹۷/۶	۴۱	۹۶	۴۸		آنتی ژن پیکری
۹۷/۶	۴۱	۸۴	۴۲		آنتی ژن دفعی- ترشچی
	۴۲		۵۰		جمع کل

جدول ۲. حساسیت و ویژگی روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در تشخیص دیکروسلیوز گوسفند.

نمونه منفی		نمونه مثبت		نمونه سرم	آنتی ژن
درصد ویژگی	واکنش منفی	درصد حساسیت	واکنش مثبت		
۶۶/۷	۲۸	۹۲	۴۶		آنتی ژن پیکری
۹۲/۹	۳۹	۶۰	۳۰		آنتی ژن دفعی- ترشچی
	۴۲		۵۰		جمع کل



تصویر ۲. قرائت تست آگلوتیناسیون لاتکس جهت تشخیص دیکروسلیوز گوسفند.



تصویر ۱. قرائت تست آگلوتیناسیون لاتکس جهت تشخیص دیکروسلیوز گوسفند.

آلوده به دیکروسلیوم دندریتیکوم تعداد ۴۱ نمونه واکنش منفی نشان دادند (ویژگی ۹۷/۶٪) (جدول ۱).

در آزمایش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم با استفاده از آنتی ژن دفعی ترشچی از ۵۰ نمونه سرم گوسفندان آلوده به دیکروسلیوم دندریتیکوم تعداد ۳۰ نمونه واکنش مثبت نشان دادند (حساسیت ۶۰٪). در این روش از ۴۲ نمونه سرم گوسفندان غیر آلوده به دیکروسلیوم دندریتیکوم تعداد ۳۹ نمونه واکنش منفی نشان دادند (ویژگی ۹۲/۹٪).

در آزمایش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم با استفاده از آنتی ژن پیکری از ۵۰ نمونه سرم گوسفندان آلوده به دیکروسلیوم دندریتیکوم تعداد ۴۶ نمونه واکنش مثبت نشان دادند (حساسیت ۹۲٪). از ۴۲ نمونه سرم گوسفندان غیر آلوده به دیکروسلیوم دندریتیکوم تعداد ۲۸ نمونه واکنش منفی داشتند (ویژگی ۶۶/۷٪) (جدول ۲).

هیچ یک از نمونه‌های سرم گوسفندان آلوده به فاسیولازیکانتیکا و کیست هیداتیک در مقایسه با یافته‌های پس از کشتار، با آنتی ژن‌های دیکروسلیوم دندریتیکوم در تست‌های مذکور واکنش مثبت نشان ندادند.

بحث

در سال‌های اخیر روش‌های ایمنی‌شناسی پیشرفت قابل ملاحظه‌ای در تشخیص دیکروسلیوزیس داشته‌اند (۱۴). با توجه به طولانی بودن فاصله‌ی آلودگی تا دفع تخم، استفاده از روش‌های ایمنی‌شناسی می‌تواند به تشخیص زودهنگام آلودگی کمک کند. البته ایجاد واکنش‌های متقاطع با سایر انگل‌ها نظیر فاسیولا و پارامفیسوموم می‌تواند در کسب نتایج اختلال ایجاد کند (۲). از روش‌های تشخیص سرمی مورد استفاده جهت تشخیص دیکروسلیوزیس می‌توان به آزمایش ثبوت کمپلمان، هماگلوتیناسیون، الایزا، رسوبی، کانترایمونوالکتروفورزیس، ایمونوفلورسانس و لاتکس آگلوتیناسیون اشاره کرد (۹، ۱۲). Wedrychowicz و همکاران در سال ۱۹۹۶ پاسخ آنتی بادی مخاطی علیه آنتی ژن‌های بدنی و دفعی ترشچی گاوهای آلوده دیکروسلیوم دندریتیکوم را مورد مطالعه قرار دادند (۲۲). Gonzalez-Lanza و همکاران در سال ۲۰۰۰ با مطالعه‌ای روی بره‌های



تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل تأمین هزینه‌های این پژوهش در قالب گرنت تشکر و قدردانی بعمل می‌آورند.

References

- Ambrosi, M., Baldelli, B., PiergiliFioretti, D., Polidori, G.A. Girelloni, V., Moretti, A., Principato, M. (1980) Dicrocoeliosiovina: insorgenza e decorsodellainfezione da *Dicrocoelium dendriticum* studiati conmetodi parassitologic ieserologici (ELISA) in quattrogruppi di ovinitraccia. Riv Parassitol. 3: 299-307.
- Campo, R., Mang-Gonzalez, M.Y., Gonzalez-Lanza, C. (2000) Relationship between egg output and parasitic burden in lambs experimentally infected with different doses of *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea). Vet Parastiol. 87: 139-149.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., Scala, A. (2004) The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of Mc Master technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strangles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. Vet Parastiol. 123: 121-131.
- Gonzalez-Lanza, C., Mang-Gonzalez, M.Y., Campo, R., Del-Pozo, P, Sandoval, H., Oleaga, A., Ramajo, V. (2000) IgG antibody response to ES or somatic antigens of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) in experimentally infected sheep. Parasitol Res. 86: 472-479.
- Gonzalez-Lanza, C., Mang-Gonzalez, M.Y., Del-Pozo- Carnero, P. (1993) Coprological study of the *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea) egg elimination by cattle in highland areas in Leon Province, Northwest Spain. Parasitol Res. 79: 488-491.
- Helmy, M., Al-Mathal, E. (2003) Human infection with *Dicrocoelium dendriticum* in Riyadh district (Saudi Arabia). J Egyp Soc Parasitol. 33: 139.
- Javier Gella, F., Serra, J., Gener, J. (1991) Latex agglutination procedures in Immunodiagnosis.

آلوده به دیکروسلیوم دندریتیوکوم نشان دادند روش الایزا ۲۰ روز زودتر از آزمایش مدفوع قادر به تشخیص آلودگی است (۴). با توجه به ظهور آنتی بادی ضد دیکروسلیوم دندریتیوکوم در ۳۰ روز پس از آلودگی، به منظور جلوگیری از افزایش خسارات اقتصادی می‌توان از روش‌های سرمی جهت تشخیص زود هنگام بیماری استفاده نمود. Thrusfield در سال ۱۹۹۷ طی ارزیابی روش الایزای غیرمستقیم در تشخیص دیکروسلیوزیس در گوسفندان نشان داد که حساسیت و ویژگی این آزمون به ترتیب ۸۶٪ و ۹۳٪ می‌باشد (۲۱).

در مطالعه حاضر هم‌اگلوتیناسیون غیر مستقیم با استفاده از آنتی‌ژن پیکری در مقایسه با مطالعات انجام شده توسط Jithendran در سال ۱۹۹۶ و Somvanshi در سال ۱۹۹۳ از حساسیت بالاتری برخوردار بود (۹،۲۰).

Jithendran و همکاران در سال ۱۹۹۶ در ارزیابی مقایسه‌ای، تست‌های آگار ژل پرسی‌پیتاسیون، کانترایمونوالکتروفورزیس و هم‌اگلوتیناسیون غیر مستقیم با به کارگیری آنتی‌ژن بدنی جهت تشخیص دیکروسلیوم دندریتیوکوم در گوسفند و بز نشان دادند که حساسیت تست‌های مذکور به ترتیب ۲۳/۸٪، ۶۹/۸٪ و ۵۰٪ و ویژگی ۹۳/۳٪، ۸۴٪ و ۹۳/۳٪ می‌باشد (۱۲). در این بررسی هم‌اگلوتیناسیون غیر مستقیم حساسیت بیشتری نسبت به تست آگار ژل پرسی‌پیتاسیون داشت. مطالعه مذکور نشان داد که تست کانترایمونوالکتروفورزیس با حساسیت و ویژگی قابل قبولی می‌تواند در تشخیص دیکروسلیوزیس گوسفند و بز مورد توجه باشد. Somvanshi و همکاران در سال ۱۹۹۳ با استفاده از تست‌های کانترایمونوالکتروفورزیس و هم‌اگلوتیناسیون غیرمستقیم جهت تشخیص دیکروسلیوم دندریتیوکوم در بز نشان دادند که تست کانترایمونوالکتروفورزیس حساسیت بالاتری نسبت به تست هم‌اگلوتیناسیون غیر مستقیم داشته که با نتایج به دست آمده توسط Jithendran و همکاران در سال ۱۹۹۶ هم خوانی نشان داد (۹،۲۰).

Manas Almendros و همکاران در سال ۱۹۸۰ با استفاده از تست لاتکس آگلوتیناسیون با به کارگیری آنتی‌ژن بدنی جهت تشخیص آلودگی به دیکروسلیوم دندریتیوکوم در گوسفند نشان دادند که حساسیت و ویژگی تست لاتکس آگلوتیناسیون به ترتیب ۹۲/۱۵٪ و ۷۵/۴٪ می‌باشد که با مطالعه حاضر از لحاظ حساسیت هم خوانی نسبی دارد (۸).

نتایج این مطالعه نشان داد که حساسیت و ویژگی آزمون آگلوتیناسیون لاتکس با استفاده از آنتی‌ژن‌های دفعی-ترشچی و پیکری در تشخیص دیکروسلیوزیس بیشتر از آزمون هم‌اگلوتیناسیون غیرمستقیم می‌باشد. روش لاتکس آگلوتیناسیون روشی سریع و قابل اعتماد جهت تشخیص دیکروسلیوزیس گوسفندان می‌باشد. ولی پیشنهاد این روش در تشخیص دیکروسلیوزیس گوسفند نیازمند مطالعات میدانی است.



- Pure & App Chem. 63: 1131-1134.
8. Jeandron, A., Rinaldi, L., Abdylidaieva, G., Usubalieva, J., Steinmann, P., Cringoli, G., Utzinger, J. (2011) Human infections with *Dicrocoelium dendriticum* in Kyrgyzstan: the tip of the iceberg. 97: 1170-1172.
 9. Jithendran, K., Bhat, T. (1996) Prevalence of dicrocoeliosis in sheep and goats in Himachal Pradesh, India. Vet Parasitol. 61: 265-271.
 10. Jithendran, K., Vaid, J., Krishna, L. (1996) Comparative evaluation of agar gel precipitation, counterimmunoelectrophoresis and passive haemagglutination tests for the diagnosis of *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep and goats. Vet Parasitol. 61: 151-156.
 11. Karadag, B., Bilici, A., Doventas, A., Kantarci, F., Selcuk, D., Dincer, N., Oner, Y.A., Erdinciler, D.S. (2005) An unusual case of biliary obstruction caused by *Dicrocoelium dendriticum*. Scand J Infect Dis. 37: 385-388.
 12. Manas Almendros, I., Gomez Garcia, V., Campos Bueno, M., Lozano Maldonado, J., Rodriguez Osorio, M. (1980) Diagnosis of *Dicrocoelium* Infection in sheep by the latex agglutination test (In spanish). Rev Iber Parasitol. 40: 437-441.
 13. Meshgi, B., Khodaveisi, M. (2014) Determination of Immunodominant Antigens of *Dicrocoelium dendriticum* by Hyperimmune Sera. Immunol And Infect Dis. 2: 4-8.
 14. Otranto, D., Traversa, D. (2002) A review of dicrocoeliosis of ruminants including recent advances in the diagnosis and treatment. Vet Parasitol. 107: 317-335.
 15. Otranto, D., Traversa, D. (2003) Dicrocoeliosis of ruminants: a little known fluke disease. Trends Parasitol. 19: 12-15.
 16. Rack, J., Adusu, E., Jelinek, T. (2004) Human infection with *Dicrocoelium dendriticum*. (Article in Germany) Dtsch Med Wochenschr. 129: 2538-40.
 17. Rehbein, S., Kokott, S., Lindner, T. (1999) Evaluation of techniques for the enumeration of *Dicrocoelium* eggs in sheep faeces. J Vet Med. 46: 133-139.
 18. Revilla-Nuin, B., Mang-Gonzalez, M.Y., Minambers, B., Gonzalez-Lanza, C. (2005) Partial characterization and isolation of 130kDa antigenic protein of *Dicrocoelium dendriticum* adults. Vet Parasitol. 134: 229-240.
 19. Senlik, B., Cirak, V., Muz, M., Tinar, R. (2006) Changes in faecal egg counts at different hours of the day and relationship between faecal egg count and parasite burden in sheep naturally infection with *Dicrocoelium dendriticum*. Turk J Vet Anim Sic. 30: 107-111.
 20. Somvanshi, R., Vaid, J., Biswas, J.C., Jithendran, K.P. (1993) Clinicopathological observations on dicrocoeliasis in goats. Indian J Vet Pathol. 16: 112-114.
 21. Jithendran, K., Vaid, J., Krishna, L. (1996) Comparative evaluation of agar gel precipitation, counterimmunoelectrophoresis and passive haemagglutination tests for the diagnosis of *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep and goats. Vet Parasitol. 61: 151-156.
 22. Thrusfield, M. (1995) Veterinary Epidemiology, (2nd ed.). Black well, London, UK.
 23. Wedrychowicz, H., Ducommun, D., Klockiewicz, M., Pfister, K. (1996) Surface and ES antigens of adult *Dicrocoelium dendriticum* inducing bile antibody responses in naturally infected cattle. Order. Vet Parasitol. 53: 111-132.
 24. Zali, M.R., Mehr, A.J., Rezaian, M., Meamar, A.R., Vaziri, S., Mohraz, M. (2004) Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV-positive individuals in Iran. Jpn J Infect Dis. 57: 268-270.



Latex agglutination (LAT) and indirect haemagglutination (IHA) evaluation techniques to detect sheep dicrocoeliosis

Razi jalali, M.H.^{1*}, Ghorbanpoor, M.¹, Jahangiri nasr, F.²

¹Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

²Graduated of Veterinary Parasitology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(Received 21 July 2017, Accepted 12 September 2017)

Abstract:

BACKGROUND: Dicrocoeliosis is caused by the small liver fluke *Dicrocoelium dendriticum* which lives in bile ducts and gall bladder of wild and domestic ruminant. Immunodiagnostic methods are useful for early diagnosis. **OBJECTIVES:** The purpose of this study was to evaluate agglutination latex (LAT) and indirect haemagglutination (IHA) tests for diagnosis of *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep. **METHODS:** Adult helminths were collected from infected livers of slaughtered sheep at Khoramabad abattoir. The excretory-secretory and somatic antigens were provided using homogenization and sonication techniques. To provide positive and negative sera, blood was taken from infected and non-infected sheep with *Dicrocoelium dendriticum*. Somatic and excretory-secretory antigens were added and blended to latex particles. All sera were added to latex and used for agglutination test. Sensitive RBC and somatic and ES antigens were added to IHA and blended to evaluate haemagglutination response. **RESULTS:** The sensitivity and specificity of LAT using excretory secretory and somatic antigens were 84%, 97/6%, 96% and 97/6% respectively. While the sensitivity and specificity in IHA using excretory secretory and somatic antigens were respectively 60%, 92/9%, 92% and 66/7%. **CONCLUSIONS:** From the results of the present study, the LAT had the highest sensitivity and specificity, which recommends it being considered as a rapid diagnostic technique for sheep dicrocoeliosis.

Keyword: *Dicrocoelium dendriticum*, Latex agglutination, Indirect haemagglutination, Sheep

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Sensitivity and specificity of LAT method in sheep dicrocoeliosis diagnosis.

Table 2. Sensitivity and specificity of IHA method in sheep dicrocoeliosis diagnosis.

Figure 1. Reading of LAT method for diagnosis of sheep dicrocoeliosis.

Figure 2. Reading of IHA method for diagnosis of sheep dicrocoeliosis.

*Corresponding author's email: mh.jalali@scu.ac.ir, Tel: 061-33330073, Fax: 061-33360807

