

**Original Research Paper****Evaluation of blood of dogs suspected of having heartworm in clinics northwest of Tehran using rapid and kite diagnostic kits and comparison of results with echocardiography****Seyed Reza Hosseini ^{*1}, Ramin Zarnaghi ²**¹ Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran² Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran**Key Words**Rapid testing
Dirofilaria immitis
Echocardiography
Referral dogs
Tehran
Knott method**Abstract**

Introduction: *Dirofilaria immitis* (heartworm) is a worldwide zoonotic parasite. Domestic dogs and some wild dogs are the ultimate host of the parasite and therefore a reservoir of infection. Iran is one of the native regions of dirofilariasis infection. This disease is a common human-animal infection and in areas with severe infection, it is important to diagnose it in dogs.

Materials & Methods: In order to diagnose *Dirofilaria*, various methods such as serology, hematology and molecular methods are used to find an adult worm antigen or to observe a microfilaria in the blood or to detect antibodies against the symbiotic bacterium of this parasite. Dirofilariosis is one of the most important infections transmitted by more than 60 species of mosquitoes. In the present study, 400 blood samples suspected of having blood microfillers were collected from veterinary clinics in the northwest of Tehran.

Results: Statistical analysis was collected and classified by Excel 2010 software and then performed by SPSS software using Chi-square test. In the obtained results, 3% of the samples were positive in Knott method and 7% in fast test method. According to the obtained results, no significant relationship was found between infection rate and sex as well as age in different experimental methods

Conclusion: According to reports, there is a relative agreement between serological methods and Knott test, but it should be noted that Knott method is less clinically important in identifying *Dirofilaria immitis*. So far, no study has been performed using a quick kit and comparing the results with echocardiography in Tehran province. Therefore, the present study is the first comprehensive study in the region. To determine the exact status of pollution, more sampling is needed. It seems that dirofilariasis needs to be comprehensively considered as a potential joint infection of humans and animals in other provinces of the country.

* Corresponding Author's email: dr.s.reza@gmail.com

Received: 25 September 2021; Reviewed: 30 October 2021; Revised: 1 January 2022; Accepted: 1 February 2022

(DOI): [10.22034/AEJ.2022.321460.2716](https://doi.org/10.22034/AEJ.2022.321460.2716)

مقاله پژوهشی

بررسی خون سگ های مشکوک به کرم قلب در کلینیک های شمال غرب تهران با استفاده از کیت های تشخیص سریع و نات و مقایسه نتایج با اکوکاردیو گرافی

سیدرضا حسینی^{۱*}، رامین زرنقی^۲^۱ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران^۲ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

کلمات کلیدی

چکیده

تست سریع

دیروفلاریا ایمیتیس

کاردیوگرافی

سگ های ارجاعی

تهران

روش نات

مقدمه: دیروفلاریا ایمیتیس (کرم قلب)، انگلی زئونوز با انتشار جهانی است. سگ های اهلی و بعضی سگ سانان وحشی میزبان نهایی انگل و بنابراین به عنوان مخزن آلودگی می باشند. دیروفلاریوزیس یکی از مهم ترین آلودگی های منتقله به وسیله بیش از ۶۰ گونه پشه می باشد. ایران یکی از مناطق بومی آلودگی به دیروفلاریوز است. این بیماری از آلودگی های مشترک انسان و حیوان به شمار می آید و در مناطق با آلودگی شدید، تشخیص آن در سگ حائز اهمیت می باشد.

مواد و روش ها: به منظور تشخیص دیروفلاریا از روش های مختلف مثل سرم شناسی، خون شناسی و مولکولی برای یافتن پادگن کرم بالغ یا مشاهده میکروفیلر در خون و یا تشخیص آنتی بادی علیه باکتری هم زیست این انگل، استفاده می شود. در پژوهش حاضر تعداد ۴۰۰ نمونه خون مشکوک به میکروفیلر خونی از درمانگاه های دامپزشکی شمال غرب تهران جمع آوری شد و از روش تست سریع و برای تشخیص آلودگی به دیروفلاریا ایمیتیس و اکوکاردیوگرافی جهت تایید استفاده شد.

نتایج: تجزیه و تحلیل آماری به وسیله نرم افزار Excel2010 جمع آوری و طبقه بندی شد و سپس با نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون آماری مربع کای انجام پذیرفت. در نتایج به دست آمده سه درصد نمونه ها در روش نات، هفت درصد در روش تست سریع مثبت بودند. با توجه به نتایج به دست آمده رابطه معنی داری در روش های مختلف آزمایشی بین میزان آلودگی و جنسیت و هم چنین سن پیدا نشد.

بحث و نتیجه گیری: براساس گزارشات توافق نسبی میان روش های سرولوژی و آزمایش نات وجود دارد اما باید خاطر نشان کرد که روش نات در شناسایی انگل دیروفلاریا ایمیتیس از اهمیت بالینی کمتری برخوردار است. تاکنون مطالعه ای با استفاده از کیت سریع و مقایسه نتایج با اکوکاردیوگرافی در استان تهران انجام نگرفته است. لذا تحقیق حاضر اولین بررسی جامع در منطقه می باشد برای مشخص شدن وضعیت دقیق آلودگی نیاز به نمونه گیری بیش تر است. به نظر می رسد لازم است دیروفلاریوز به طور جامع به عنوان یک عفونت بالقوه مشترک انسان و حیوان در سایر استان های کشور نیز مورد بررسی قرار گیرد.

مقدمه

در هر شاخه جانوری زندگی انگلی مستقلاً تکوین یافته است. در معاینه یک حیوان اهلی و یا وحشی تقریباً غیرممکن است که در روی بدن و یا اندام‌های داخلی آن، گونه‌ای از انگل وجود نداشته باشد. حتی حیواناتی که در شرایط آزمایشگاهی پرورش داده می‌شوند معمولاً به آلودگی‌های انگلی مبتلا می‌شوند. هنگامی که مشخص شد انگل‌ها مشکل آفرین هستند، برای رفع آلودگی و از بین بردن آن‌ها مبارزه صورت گرفت. هدف از مبارزه با انگل‌ها نه تنها به خاطر ضرر اقتصادی آن‌ها، بلکه به خاطر انتقال آلودگی‌های انگلی به انسان می‌باشد (۱).

دیروفیلاریا ایمیتیس (کرم قلب)، انگلی زئونوز با انتشار جهانی است. سگ‌های اهلی و بعضی سگ‌سانان وحشی میزبان نهایی انگل و بنابراین به عنوان مخزن آلودگی می‌باشند. کرم قلب برای اولین بار بیش از ۱۶۰ سال پیش (۱۸۴۷) در آمریکا شناخته شد و اولین گزارش در آمریکای جنوبی تقریباً ۳۰ سال بعد (۱۸۷۵) چاپ شد. اولین مورد انسانی در سال ۱۸۸۷ گزارش شد (۲). هرچند عفونت فیلاریایی در سراسر جهان با عوامل مختلفی از جنس‌ها و گونه‌های مختلف نماتودها دیده شده است اما دیروفیلاریا ایمیتیس اهمیت بیش‌تری نسبت به سایر گونه‌ها در سگ دارد. دلیل اهمیت آن، بیماری شدید و کشنده‌ای به نام بیماری کرم قلب و هم‌چنین نقش آن به عنوان بیماری مشترک می‌باشد (۳). با توجه به اهمیت این بیماری در آمریکا، انجمن بیماری کرم قلب در سال ۱۹۷۴ تأسیس شد (۴). علاوه بر این، بسیار مهم است بتوان گفت که سیکل بیماری در سگ‌های هر ناحیه چگونه بوده و در مورد تکامل چرخه اطلاعات ما کامل شود (۵).

عامل این بیماری مرحله بالغ دیروفیلاریا ایمیتیس است. این آلودگی بیش‌تر در نواحی گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و معتدل شایع است (۶). دیروفیلاریوزیس یکی از مهم‌ترین آلودگی‌های منتقله به وسیله بیش از ۶۰ گونه پشه می‌باشد. با وجود این ناقلین مهم این بیماری احتمالاً کم‌تر از ۱۲ گونه پشه از جمله کولکس، آئدس، کولیکوئیدس می‌باشد. دیروفیلاریا ایمیتیس در انسان باعث مشکلات

ریوی می‌شود. این مشکلات باعث به وجود آمدن ندول‌های ریوی و زیرجلدی در انسان می‌شود. به طور کلی، تاکنون گزارشات متعددی در سراسر جهان از جمله برزیل، ایتالیا، فرانسه، یونان، اسپانیا، اوکراین، روسیه، آمریکا، استرالیا، ژاپن و تایلند از ابتلا قلب و ریه انسان به دیروفیلاریا وجود دارد (۷). در ایران، نخستین بار آلودگی به دیروفیلاریا ایمیتیس در سال ۱۳۴۸ از یک مورد سگ گزارش گردید. در بررسی که در نواحی مختلف ایران صورت گرفته، آلودگی به این انگل در اکثر نقاط ایران با استفاده از روش‌های انگل‌شناسی و سرولوژی تشخیص داده شده است (۱).

مواد و روش‌ها

مواد و لوازم مورد نیاز: مواد و وسایل مورد نیاز عبارتند از: نوار تست ریپید، لوله حاوی مواد ضد انعقاد EDTA، لوله آزمایشگاهی درب‌دار به حجم ۱۰ سانتی‌مترمکعب، سرنگ ۵ سی‌سی، پنبه الک، تورنیکت، بلو دو متیلن ۲٪، سانتریفوژ، میکروسکوپ، لام و لامل، دستکش، دستگاه اکوکاردیوگرافی به همراه پراب میکرو کانوکس

روش کار: برای تهیه نمونه خون از سگ‌های مشکوک ابتدا هر قلاده سگ مقید شده و با استفاده از تورنیکت اندام حرکتی قدامی بسته شد تا این که ورید سفالیک از خون پر شود. بعد از آن با پنبه الک منطقه مورد نظر را ضد عفونی کرده و با استفاده از سرنگ ۵ سی‌سی اقدام به اخذ نمونه از ورید سفالیک اندام حرکتی قدامی یا موارد خاص از ورید سافن اندام حرکتی خلفی می‌گردد. اطلاعات ضروری شامل اسم حیوان و صاحب آن، جنسیت، سن، نژاد و وضعیت نگه‌داری سگ‌ها در جداول از پیش تهیه شده ثبت گردید و نمونه‌های اخذ شده به لوله‌های حاوی EDTA منتقل شدند.

بررسی انگل شناسی

روش آزمایش سریع: برای انجام این آزمایش ابتدا ریپید تست را از بسته خارج کرده به وسیله سرنگ یا قطره چکان یک قطره خون تام یا سرم یا پلاسما را در چاهک مخصوص می‌چکانیم. به مدت سه تا پنج ثانیه صبر کرده سپس دو قطره بافر را داخل چاهک می‌ریزیم



شکل ۱: انجام آزمایش سریع مربوط به دیروفیلاریا ایمیتیس

تشخیص تفریقی میکروفیلرهای موجود در خون سگ:

دیروفیلاریا ایمیتیس و دیپتالونما رکوندیتوم دو فیلری هستند که میکروفیلرشان در خون سگ دیده می شود و با توجه به اهمیت بیماری زایی دیروفیلاریا ایمیتیس، تفریق این دو میکروفیلر ضروری می باشد (جدول ۱).

جدول ۱: روش تشخیص تفریقی میکروفیلرهای موجود در خون سگ

ویژگی های ریخت شناختی	عرض (میکرون)	طول (میکرون)	شکل انتهایی	شکل انتهایی
دیپتالونما رکوندیتوم	۴/۳-۴/۹	۲۲۷-۲۵۳	خار راسی	خمیده
دیروفیلاریا ایمیتیس	۵/۱-۸/۹	۲۹۰-۳۱۰	به تدریج باریک شده	مستقیم

اکوکاردیوگرافی: چون میکروفیلر فرم غیربالغ انگل بوده نیاز

است با استفاده از روش های دیگر وجود انگل بالغ در اندام های هدف را بررسی کنیم. بهترین روش برای این کار استفاده از اولتراسونوگرافی می باشد قبل از انجام سونوگرافی استفاده از هرگونه داروی ضد انگل ممنوع می باشد. جهت انجام اولتراسونوگرافی در صورت نیاز ابتدا ناحیه سینه ای حیوان حدفاصل دنده های ۶ تا ۱۲ با استفاده از ماشین مخصوص از مو پاک شده پس ژل اولتراسونوگرافی در ناحیه ریخته شده و از

در ظرف ۱۰ دقیقه باید تست را بخوانیم. اگر هر دو خط پدیدار شد یعنی جواب مثبت است. اگر خط C پدیدار شد یعنی تست درست است ولی جواب منفی است و اگر هیچ خطی نمایان نشد یعنی تست باطل است و اگر خط T هم به تنهایی نمایان شود باز هم جواب تست غلط می باشد (شکل ۱).

تست نات اصلاح شده: به منظور بررسی دقیق تر انگل شناسی

نمونه ها، در رابطه با هر کدام از نمونه ها، یک میلی لیتر خون را به ۹ میلی لیتر فرمالین ۲٪ اضافه کرده، (۲ میلی لیتر از فرمالدئید ۳۷٪ در ۹۸ میلی لیتر آب مقطر) و لوله به آرامی حرکت داده شد تا خون کاملاً در محلول حل شده و به مدت ۵ دقیقه در محیط آزمایشگاه قرار گرفت تا گلبول های قرمز لیز شوند. لوله محتوی نمونه با دور ۱۵۰۰ و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی را تخلیه کرده و یک تا دو قطره رنگ بلو دو متیلن به رسوب ته لوله اضافه کرده و یک قطره از رسوب را روی لام گذاشته و لامل روی آن قرار داده شد. لام جهت بررسی میکروفیلر با بزرگنمایی X۱۰ میکروسکوپ آزمایش شد. با دیدن میکروفیلر در لام می توان با استفاده از لنز X۴۰ و یا X۱۰۰ و با توجه به خصوصیات ریخت شناسی و اندازه، میکروفیلر دیروفیلاریا ایمیتیس را از میکروفیلر دیپتالونما رکوندیتوم تفریق نمود. روش نات اصلاح شده، روش نسبتاً سریعی است. در این روش میکروفیلرهای موجود در یک میلی لیتر خون متراکم می شوند و با انهدام گلبول های قرمز به صورت واضح دیده می وند. با استفاده از این روش می توان میکروفیلر دیروفیلاریا ایمیتیس را از میکروفیلر دیپتالونما رکوندیتوم تفکیک نمود. در این روش برخی خصوصیات مانند طول بدن، پهنای قسمت میانی بدن و شکل انتهایی قدامی بدن مورد توجه است.

جدول ۲: تفکیک نمونه‌های مورد آزمایش بر اساس سن

ردیف	سن	تعداد	نر	ماده
۱	زیر یک سال	۱۶	۸	۸
۲	۳ تا ۲ سال	۴۴	۱۶	۲۸
۳	۴ تا ۳ سال	۵۶	۲۰	۲۸
۴	۵ تا ۴ سال	۶۰	۱۲	۴۸
۵	۶ تا ۵ سال	۴۸	۲۵	۲۳
۶	۷ تا ۶ سال	۵۷	۲۱	۳۶
۷	۷ تا ۹ سال	۵۹	۱۷	۴۲
۸	بالای ده سال	۶۰	۲۴	۳۶
۹	مجموع	۴۰۰	۱۴۰	۲۶۰

جدول ۳: نتایج نمونه‌های مثبت در آزمایش کیت سریع

ردیف	سن	درصد نر و ماده آلوده	درصد نر آلوده	درصد ماده آلوده
۱	زیر یک سال	۰	۰	۰
۲	۳ تا ۲ سال	۱۸	۵۰	۰
۳	۴ تا ۳ سال	۱۴	۰	۲۸
۴	۵ تا ۴ سال	۰	۰	۰
۵	۶ تا ۵ سال	۰	۰	۰
۶	۷ تا ۶ سال	۰	۰	۰
۷	۷ تا ۹ سال	۰	۰	۰
۸	بالای ده سال	۲۰	۱۶	۲۲
۹	مجموع	۷	۸/۵	۶/۱

جدول ۴: نتایج نمونه‌های مثبت در آزمایش براساس نات پیشرفته

به تفکیک جنسیت

ردیف	سن	درصد نر و ماده آلوده	درصد نر آلوده	درصد ماده آلوده
۱	زیر یک سال	۰	۰	۰
۲	۳ تا ۲ سال	۰	۰	۰
۳	۴ تا ۳ سال	۰	۰	۰
۴	۵ تا ۴ سال	۰	۰	۰
۵	۶ تا ۵ سال	۰	۰	۰
۶	۷ تا ۶ سال	۰	۰	۰
۷	۷ تا ۹ سال	۰	۰	۰
۸	بالای ده سال	۲۰	۱۶	۲۲
۹	مجموع	۳	۲/۸	۳/۱

نماهای مختلف بررسی قلب به‌خصوص بطن‌ها از نظر احتمال وجود انگل داخل آن‌ها صورت می‌گیرد. این بررسی بر اساس میزان آرام بودن یا ناآرام بودن حیوان می‌تواند با مقید کردن فیزیکی یا شیمیایی صورت پذیرد. در این بررسی از پراب میکروکانوکس با فرکانس ۷/۵ مگاهرتز استفاده می‌گردد.

نتایج

بررسی به‌وسیله کیت تشخیص سریع: براساس بررسی نمونه‌های

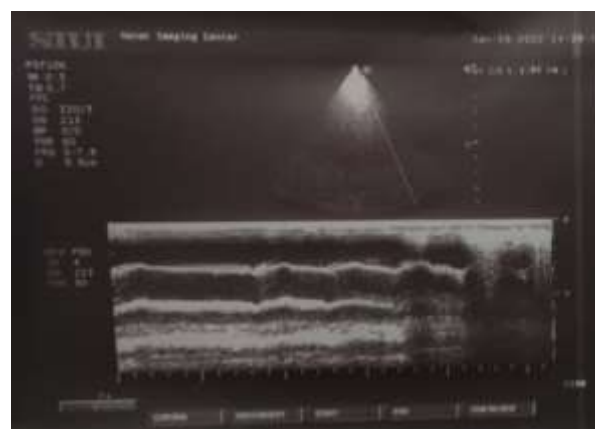
مشکوک از یکصد نمونه اخذ شده هفت نمونه در روش کیت سریع مثبت ارزیابی گردید.

بررسی به‌وسیله تست نات و تهیه لام مستقیم: هفت نمونه

مورد نظر برای تهیه لام مستقیم و تست نات استفاده گردید و سه نمونه حاوی میکروفیلر دیروفیلاریا تشخیص داده شد.

بررسی اکوکاردیوگرافی: از هفت نمونه‌ای که مثبت ارزیابی

گردیده بودند اکوکاردیوگرافی به‌عمل آمد (شکل ۲). در بررسی انجام شده در قلب و دقت بر روی بطن راست و بخش‌هایی از سرخرگ ششی که قابلیت بررسی با اکوکاردیوگرافی را دارند در هیچ‌کدام از نمونه‌ها کرم بالغ مشاهده و تشخیص داده نشد. نمونه‌های اخذ شده در فصل‌های مختلف و شامل ۱۴۰ نمونه از سگ‌های نر و ۲۶۰ نمونه از سگ‌های ماده بودند.



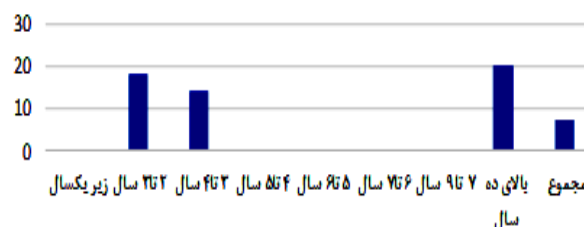
شکل ۲: نتیجه اکوکاردیوگرافی که در حد فاصل دیواره‌ها انگل وجود ندارد

به نتایج به دست آمده رابطه معنی داری در روش های مختلف آزمایشی بین میزان آلودگی و جنسیت و همچنین سن پیدا نشد.

در بسیاری از مطالعات رابطه معنی داری میان وجود انگل و سن و جنس سگ رابطه معنی داری دیده نشده است اما در برخی گزارشات اعلام شده که رابطه معنی داری میان سن و میزان آلودگی وجود دارد. با افزایش سن امکان گزش توسط پشه آلوده و آلوده شدن حیوانات افزایش می یابد و در سنین بالا به دلیل عدم کارایی سیستم ایمنی، احتمال آلوده شدن افزایش می یابد (۸). در این مطالعه اختلاف معنی داری میان آلودگی سگ های خانگی و سگ های ولگرد وجود داشت. در مطالعه Anvari و همکاران نیز بین آلودگی سگ های گله و سگ های ولگرد اختلاف آماری وجود داشت. این امر می تواند به این دلیل باشد که سگ های خانگی به دلیل زندگی در محیط سر بسته و همراه با انسان ها کمتر در معرض گزش پشه هستند. اما سگ های ولگرد به دلیل زندگی در محیط بیرون و جابجایی های متعدد برای پیدا کردن غذا یا جفت و نیز عادت به زباله گردی احتمال گزش آنها توسط پشه را افزایش می یابد و بیش تر به این انگل آلوده می شوند (۳). امکان واکنش های متقاطع ایمنی در بحث تشخیص به کمک سرم و کیت با سایر عوامل بیماری زای سگ نیز وجود دارد. همچنین در رابطه با تست سریع امکان این که نتایج در مواردی به صورت منفی یا مثبت کاذب به دست آید وجود دارد که همیشه آزمایشات با شاخص هایی نظیر حساسیت و ویژگی سنجیده می شوند. در مجموع روش سونوگرافی موارد مثبت کاذب کمتر و منفی کاذب بیش تری نسبت به سایر روش ها را داراست. نتایج به دست آمده در این مطالعه این گفته را تایید می کند (۹).

در مطالعات صورت گرفته در اهواز توسط Jafari Naeini، رابطه ای میان آلودگی و نژاد دیده نشد (۱۰) و این نتایج در سایر مطالعات نیز دیده شده است و این امر می تواند به این دلیل باشد که همه نژادهای سگ که در محیط آزاد و در مناطق اندمیک زندگی می کنند در صورت گزش توسط پشه ناقل می توانند آلوده شوند (۱۱، ۱۲). نتایج این

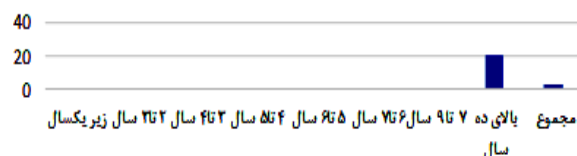
درصد نروماده آلوده



درصد نروماده آلوده

شکل ۳: نمودار درصد آلودگی به دیروفیلاریا ایمیتیس در گروه های سنی مختلف در روش آزمایش سریع

درصد نر و ماده آلوده



درصد نروماده آلوده

شکل ۴: نمودار درصد آلودگی به دیروفیلاریا ایمیتیس در گروه های سنی مختلف در روش آزمایش نات

بحث

به طور خلاصه باید گفت از چهارصد نمونه حاصل تست سریع هفت نمونه مثبت (۷ درصد) و از این هفت نمونه در آزمایش نات سه نمونه حاوی میکروفیلر بوده است (۳ درصد). در بررسی اکوکاردیوگرافی هیچ کدام از نمونه ها دارای کرم بالغ در محوطه بطنی و سرخرگ ششی نبوده است. با توجه به نتایج به دست آمده و با توجه به حساسیت و ویژگی بالاتر تست نات نسبت به روش آزمایش سریع احتمالاً میزان آلودگی در نمونه های گرفته شده مربوط به همان سه درصد سگ های بالای ده سال می باشد. تجزیه و تحلیل آماری به وسیله نرم افزار Excel 2010 جمع آوری و طبقه بندی شد و سپس با نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون آماری مربع کای انجام پذیرفت. با توجه

مطالعه نیز این فرضیه را تایید می‌کند که نگهداری سگ‌ها در فضای آزاد احتمال آلودگی را افزایش می‌دهد.

در بررسی مشابه که توسط Khan Mohammadi، در منطقه سراب با استفاده از روش الایزا و کیت ایمونوکروماتوگرافی به عمل آمد از بین ۳۸۴ قلاده سگ مورد آزمایش، ۱۳/۵ درصد (۵۲/۳۸۴) آلوده گزارش شده بود و بیش‌ترین شیوع در سگ‌های ۶-۴ سال ۲۱/۷ درصد (۳۷/۱۷۰) و کم‌ترین میزان در سگ‌های ۲-۰ سال ۵/۵ درصد {۷/۱۲۶} گزارش شده بود (۱۴).

مطالعه دیگری که در فاصله زمانی آذر ۸۳ تا خرداد ۸۴ در چهار ناحیه شهری شهرستان سفر از نظر آلودگی به کرم بالغ و نوزاد دیرو فیلاریا ایمیتیس به وسیله تهیه لام گسترش نازک و ضخیم و بافی کوت و روش اصلاح شده نات به عمل آمد. از میان ۷۴ قلاده سگ مورد آزمایش، میزان شیوع (۸/۱ درصد) بود. میزان آلودگی برای سگ‌های ولگرد (۴/۰۵ درصد)، نگهبان (۱/۳۵ درصد) گله، (۱/۳۵ درصد) و خانگی (۱/۳۵ درصد) بوده است و میزان آلودگی با بالا رفتن سن سگ‌ها افزایش را نشان می‌داد. در سگ‌های کم‌تر از یک سال صفر و ۴-۱ سال؛ ۱/۳۵ درصد، در سگ‌های بیش از چهار سال؛ ۶/۷۵ درصد، بوده است. آلودگی قلب‌راست و سرخرگ ششی به کرم بالغ به‌ترتیب؛ ۲/۷ درصد و ۱/۳۵ درصد بود. در تست‌نات اصلاح‌شده و در گسترش ضخیم و نازک میزان آلودگی مخفی؛ ۴/۰۵ درصد، میزان آلودگی در اواخر پاییز و زمستان؛ ۲/۷ درصد و در بهار؛ ۵/۴ درصد بوده است (۱۵).

مطالعه‌ای که توسط Eslami و Ranjbar برای بررسی فیلرهای خونی سگ در شهرستان تنکابن در بهار ۱۳۸۳ با استفاده از روش نات اصلاح شده بر روی هشتاد قلاده سگ ولگرد گله و خانگی به عمل آمد نشان داد ۱۴ نمونه حاوی میکرو فیلر بوده (۱۷/۵ درصد) که در دوازده نمونه میکرو فیلر دیروفیلاریا ایمیتیس (۱۵ درصد)، یک نمونه دیپتالونمارکوندیتوم (۱/۲۵ درصد) و یک نمونه دیروفیلاریا ایمیتیس (۱/۲۵ درصد) تشخیص داده شد. وقوع آلودگی با هیچ‌کدام از عوامل

مورد بررسی شامل جنسیت سن نژاد و حرکات تنفسی ارتباط معنی‌داری نداشت (۱۶).

در بررسی مشابه که توسط Malmasi و همکاران در تیر و مرداد ۸۸ در ۲۰۰ قلاده در استان‌های گیلان، مازندران و گرگان به عمل آمد، از روش تست سریع و نات توام استفاده گردید که ۲۵/۵ درصد حاوی میکرو فیلر بوده‌اند. بیش‌ترین آلودگی مربوط به استان گیلان به میزان ۵۱/۴۲ درصد و گلستان به میزان ۳۸/۱۵ درصد و مازندران به میزان ۹/۶۷ درصد بوده است. این تحقیق و موارد مشابه که ذکر شد نشان می‌دهد که بیماری به‌طور اندمیک در ایران وجود داشته و بسته به نوع آب و هوا می‌تواند گسترش قابل ملاحظه‌ای داشته باشد لذا از آن‌جاکه بیماری‌های انگلی علی‌رغم پیدایش روش‌های نوین تشخیصی و درمان در حال گسترش می‌باشد همواره پایش این روش‌ها لازم می‌باشد تا بهترین و اقتصادی‌ترین آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۱۷).

بر اساس گزارشات، توافق نسبی میان روش‌های سرولوژی و آزمایش نات وجود دارد اما باید خاطر نشان کرد که روش نات در شناسایی انگل دیروفیلاریا ایمیتیس از اهمیت بالینی کم‌تری برخوردار است. پایین بودن ارزش تشخیصی این روش به دو دلیل عمده است. دلیل اول مربوط به وجود میکرو فیلرهای غیر بیماری‌زا دیروفیلاریا رپنس می‌باشد که تفريق آن از میکرو فیلر دیروفیلاریا ایمیتیس در زیر میکروسکوپ بسیار مشکل است و دلیل دوم امکان وجود آلودگی با یک جنس و یا عدم وجود میکرو فیلر است. هر چند روش‌های سرولوژی به دلیل به وجود آمدن پاسخ سیستم ایمنی در برابر کرم و وجود آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های انگل از کارایی مناسب‌تری برخوردار است ولی روش ملکولی نسبت به روش‌های سرولوژیک کارایی بیش‌تری داشته و ارزش آن در تشخیص بیماری نسبت به سایر روش‌ها بیش‌تر است (۱۸).

چنان‌چه که ملاحظه گردید روش‌های متفاوت در تشخیص این بیماری لازم ولی کافی نمی‌باشد لذا ضروری است این موارد با توجه به گسترش نگهداری این حیوان خانگی مورد توجه قرار گیرد: افزایش

9. **Rezaei, S., Nadery, S. and Karami, P., 2017.** Spring and summer habitat suitability modeling of wild boar (*Sus scrofa*) in Jassb wildlife refuge of Arak using Maximum Entropy (MaxEnt) method. Journal of Animal Environment. 9(2): 25-36. (In Persian)
10. **Jafari Naeini, A.S., 2010.** Evaluation of circadian rotation of *Dirofilaria immitis* microfilar in adult worm-infected dogs in Ahvaz. Thesis for General Doctorate, Shahid Chamran University of Ahvaz, Faculty of Veterinary Medicine. (In Persian)
11. **Bohlooli Oskoi, S., Sadeghi, E., Hashemian, A. and Ghaffari Khaligh, S., 2013.** Study on shepherd dog dirofilariasis in Kermanshah province in 2011–2012. J Vet Lab Res. 5: 47-54. (In Persian)
12. **Ranjbar Bahadori, Sh., Mohtasham, R., Eslami, A. and Meshki, B., 2005.** To determine the prevalence and species of blood filarial of dog in Tonekabon. J Vet Res. 60: 353-356. (In Persian)
13. **Khan Mohammadi, M., 2012.** *Dirofilaria immitis* occult infection and seroprevalence in sheepdogs in Sarab (East Azerbaijan Province). Journal of Comparative Pathobiology. 35(8): 657-664. (In Persian)
14. **Hosseinzadeh Varjoy, M., Ashrafi Helan, J., Salehi, N., Bazmani, A., Nematollahi, A. and Imani Baran, A., 2016.** Molecular detection and epidemiological aspects of *Dirofilaria immitis* in dogs in Tabriz and Suburbs. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 26(135): 20-31. (In Persian)
15. **Salahi-Moghadam, A., Moobedi, A. and Bani Hashemi, S.J., 2000.** Case report of *Dirofilaria* in Hydrocoel of a child with 5 years old age. In 3 rd National Congress of Parasitology, Sari, Iran. Mazandaran medical sciences university Publication. 80 p. (In Persian)
16. **Ranjbar, B.S. and Eslami, A., 2007.** Prevalence of blood Filaria in dogs in Golestan Province (North of Iran) using Modified Knott Method and determination of its periodicity. (In Persian)
17. **Malmasi, A., Hosseini, S.H., Aramoon, M., Bamonar, A. and Seifi, H.A., 2011.** Survey of canine *Dirofilaria immitis* infection in Caspian provinces of Iran. Iranian Journal of Veterinary Research. 12(4): 340-344. (In Persian)

مطالعه در مورد شیوع و پراکندگی بیماری، برنامه ریزی در استفاده از روش های جدیدتر و پیشرفته تر، معاینه روتین در کلینیک های سطح کشور، توجه به روش های دیگر از جمله تصویربرداری تشخیصی جهت حصول اطمینان، توجه به روش های پیشگیری متداول در دنیا به عنوان یک امر همیشگی در کلینیک ها.

منابع

1. **Eslami, A., 1997.** Veterinary Helminthology, First Edition, University of Tehran Press. 3: 609-584. (In Persian)
2. **John, W., Genchi, L.H., Kramer, G. and Venco, L., 2008.** Heartworm disease in animals and humans. Elsevier Ltd. 195-197.
3. **Labarthe, N. and Guerrero, J., 2005.** Epidemiology of heartworm: what is happening. In south America and mexico? Veterinary parasitology. 133: 149-156.
4. **Copland, M.D., Callaghan, M.G., Haydac, P. and Donoghue, P.J., 1992.** The occurrence of *Dirofilaria immitis* in dogs in south Australia. Vet. j. 69(2): 31-32.
5. **Rajabi, F. and Javanbakh, H., 2019.** Study of blood parasites in marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) in north of Iran. Journal of Animal Environment. 11(1): 145-150. (In Persian)
6. **Fan, C.K., Lin, Y.H., Liao, C.W. and Chiou, H.Y., 2001.** Seroepidemiologic survey of *Dirofilaria immitis* infection among domestic dogs in Taipei city and mountain aboriginal districts in Taiwan. Veterinary parasitology. 102(1-2): 113-120.
7. **Nuchprayoon, S., Junpee, A., Poovorawan, Y. and Scott, A., 2005.** Detection and differentiation of filarial parasites by universal primers and polymerase chain-reaction fragment length polymorphism analysis. The American society of tropical medicine and hygiene. 73(5): 895-900.
8. **Anvari, D., Saadati, D., Siyadatpanah, A. and Gholami, S., 2019.** Prevalence of dirofilariasis in shepherd and stray dogs in Iranshahr, southeast of Iran. Journal of Parasitic Diseases. 43(2): 319-323.

18. **Khedri, J., Radfar, M.H., Borji, H., Azizzadeh, M. and Akhtardanesh, B., 2014.** Canine heartworm in southeastern of Iran with review of disease distribution. Iranian journal of parasitology. 9(4): 560. (In Persian)