University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Original Article

J Vet Res, Volume 79, Number 4, 2024, 193-200

Investigation of Dog Filariasis in Ilam Province, Iran

Fatemeh Sanaei[1]✉, Fateme Jalousian[2]✉, Seyed Hossein Hosseini[2]✉, Parviz Shayan[2]✉, Fatemeh Manshori Ghaishghorshag[1]✉

[1] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[2] *Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

***Received:** 2 July 2024, **Accepted:** 7 September 2024*

10.22059/jvr.2024.359257.3346

Abstract

BACKGROUND: Blood filaria is an important arthropod-borne parasite concerning public health and causing disease in the host. Until now, no study has been conducted on the infection of dogs with blood filariasis in Ilam Province, Iran. This province has three different climates and is home to *Culex* species, which are the most prevalent vectors of the parasites reported in this province.

OBJECTIVES: The present study investigated the infection of dogs with *Dirofilaria immitis* and *Acanthocheilonema reconditum* (*Dipetalonema reconditum*) in Ilam Province, Iran.

METHODS: In this study, blood samples were collected from 139 dogs from Ilam Province. Blood samples were examined using the modified Knott method, and the polymerase chain reaction (PCR) was performed using two pairs of specific primers of the internal transcribed spacer 1 (*ITS1*) gene.

RESULTS: In a blood specimen from Sirvan City, microfilaria of *Dirofilaria immitis* (34 microfilariae in 1 mL of blood) was observed by the modified Knott test. The mean length and width of the microfilaria were 240 ± 8.72 and 5.4 ± 0.33 µ, with the straight end of the tail. A blood sample from Dehloran City and two samples of Sirvan were positive, and PCR results revealed a specific band at 155 bp in length. Two samples of Ilam City and one sample of Sarablah City were positive for *Acanthocheilonema reconditum*, and an amplicon with a length of 155 bp was observed.

CONCLUSIONS: The frequencies of infection with *Dirofilaria immitis* and *Acanthocheilonema reconditum* in Ilam Province were 2.6% and 3%, respectively. In the present study, infected dogs were reported from the cities of Sirvan, Sarablah, and Ilam, whose regions experience moderate winters without serious cold temperatures.

Keywords: *Acanthocheilonema reconditum*, *Dirofilaria immitis*, Dirofilariasis, Polymerase chain reaction (PCR), *ITS* gene locus

Copyright © Journal of Veterinary Research: Open Access; Copying, distribution and publication are free for full use with attribution. ©The Author(s).
Publisher: University of Tehran Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Fateme Jalousian, Tel/Fax: +9821-61117161 / +9821-66933222

How to cite this article:

Sanaei F, Jalousian F, Hosseini SH, Shayan P, Manshori Ghaishghorshag F. Investigation of Dog Filariasis in Ilam Province, Iran. J Vet Res, 2024; 79(4): 193-200. doi: 10.22059/jvr.2024.359257.3346

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Sequences of primers used in the present study.
Figure 1. Polymerase chain reaction products of β-actin gene (300 bp) of a dog blood on 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide.
Figure 2. Polymerase chain reaction products of *Dirofilaria immitis ITS1* (155 bp) of a dog blood in sirvan region and DNA marker with a length of 100 bp (Sinaclon, Iran) on 1.5 % agarose gel stained with ethidium bromide.
Figure 3. Polymerase chain reaction products of *Dirofilaria immitis ITS1* (155 bp) of a dog blood in dehloran region and DNA marker with a length of 100 bp (Sinaclon, Iran) on 1.5 % agarose gel stained with ethidium bromide.
Figure 4. Polymerase chain reaction products of *Acanthocheilonema reconditum* ITS1 (155 bp) of a dog blood in sarableh region and DNA marker with a length of 100 bp (Sinaclon, Iran) on 1.5 % agarose gel stained with ethidium bromide.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

دوره ۷۹، شماره ۴، ۱۴۰۳، ۲۰۰-۱۹۳

بررسی فیلاریوزیس در سگ‌های گله، نگهبان و بی‌صاحب استان ایلام، ایران

فاطمه سنائی[۱]، فاطمه جالوسیان[۲]، سیدحسین حسینی[۲]، پرویز شایان[۲]، فاطمه منشوری قایشقورشاق[۱]

[۱] *دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران*
[۲] *گروه انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران*

تاریخ دریافت: ۱۲ تیرماه ۱۴۰۳ ، **تاریخ پذیرش:** ۱۷ شهریور ماه ۱۴۰۳

10.22059/jvr.2024.359257.3346

چکیده

زمینه مطالعه: فیلرهای خونی از انگل‌های منتقله توسط بندپایان می‌باشند، درحالی‌که حضور گونه‌های *کولکس* که از ناقلین انگل می‌باشند در استان ایلام گزارش شده است، اما تاکنون مطالعه‌ای درمورد آلودگی سگ به فیلرهای خونی در این استان انجام نشده است.

هدف: مطالعه حاضر به‌منظور بررسی سگ‌های استان ازنظر آلودگی به *دیروفیلاریا ایمیتیس* و *آکانتوکیلونما رکوندیتوم (دیپتالونما رکوندیتوم)* انجام شد.

روش‌کار: نمونه‌های خون از ۱۳۹ سگ شامل سگ‌های گله (۱۶ نمونه)، سگ‌های نگهبان (۲۰ نمونه) و سگ‌های بی‌صاحب (۱۰۳ نمونه) در شهرستان‌های دهلران، دره‌شهر، ایوان، بدره، سیروان، ایلام، سرابله و چوار از استان ایلام جمع‌آوری شدند و با روش‌های نات اصلاح‌شده و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (با استفاده از ۲ جفت پرایمر اختصاصی) به‌ترتیب ازنظر حضور میکروفیلر و دنای انگل‌ها بررسی شدند.

نتایج: در یک نمونه خون از شهرستان سیروان، میکروفیلرهای *دیروفیلاریا ایمیتیس* (۳۴ میکروفیلر در ۱ میلی‌لیتر خون) با روش نات اصلاح‌شده تشخیص داده شدند، اما میکروفیلرهای *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* در هیچ‌یک از نمونه‌ها مشاهده نشد. نتایج آزمایش مولکولی، ۳ نمونه خون آلوده به *دیروفیلاریا ایمیتیس* را نشان داد. در ۱ مورد از نمونه خون‌های دهلران و ۲ مورد از نمونه‌های سیروان با تکثیر قطعه‌ای از لکوس ژنی ITS1 به طول ۱۵۵ جفت‌باز، حضور دنای *دیروفیلاریا ایمیتیس* تأیید شد. علاوه‌براین، ۳ نمونه خون از شهرستان‌های ایلام (۲ نمونه) و سرابله (۱ نمونه) ازنظر آلودگی به *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* مثبت شدند و قطعه‌ای از دنای انگل به طول۱۵۵ جفت‌باز تکثیر شد.

نتیجه‌گیری نهایی: فراوانی آلودگی به *دیروفیلاریا ایمیتیس* و *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* در استان ایلام به‌ترتیب ۲/۶ و ۳ درصد گزارش شد. شهرستان‌های دهلران، سیروان و سرابله در مطالعه حاضر ازنظر آلودگی مثبت بودند. این مناطق از زمستان‌های معتدل برخوردار می‌باشند. مطالعات بیشتر برای بررسی شیوع و شناسایی عوامل خطر مرتبط با *دیروفیلاریا ایمیتیس* در تمام مناطق ایران ضروری به نظر می‌رسد. این مطالعات می‌تواند در توسعه راهکارهای پیشگیری و کنترل در برابر آلودگی به انگل‌های فیلریایی نقش مؤثری داشته باشند.

کلمات کلیدی: *آکانتوکیلونما رکوندیتوم*، *دیروفیلاریا ایمیتیس*، دیروفیلاریازیس، لکوس ژنی ITS1، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

کپی‌رایت © مجله تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: فاطمه جالوسیان، گروه انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

فیلرها انگل‌هایی می‌باشند که ازنظر دامپزشکی و بهداشتی اهمیت فراوان دارند. کرم‌های بالغ در خون، رگ‌های لنفاوی، بافت‌های همبند، محوطه صفاقی و غیره زندگی می‌کنند که اغلب در میزبان، ایجاد بیماری‌های بدخیم می‌کنند (۱). سگ به‌عنوان میزبان اختصاصی و مخزن *دیروفیلاریا ایمیتیس*، *دیروفیلاریا ریپنس* و *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* مطرح است. در ایران، آلودگی سگ به *دیروفیلاریا ایمیتیس* و *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* با فراوانی‌های متفاوت در مناطق متعدد گزارش شده است (۲). تاکنون آلودگی سگ به انگل‌های فیلریایی و با تأکید بر آلودگی به *دیروفیلاریا ایمیتیس* به‌عنوان یک بیماری مشترک در مناطق مختلف کشور مطالعه شده است. این مطالعات نشان می‌دهد که آلودگی به کرم قلب در مقایسه با آلودگی به *دیروفیلاریا ریپنس* و *آکانتوکیلونما*

رکوندیتوم از شیوع بیشتری برخوردار است. شیوع آلودگی سگ به فیلر و الگوی انتقال آلودگی در مناطق کشور متفاوت است. اطلاعات به‌دست‌آمده از وضعیت آلودگی در مناطق مختلف کشور نشان می‌دهد آلودگی در هر منطقه به شرایط اقلیمی وابسته است. بررسی آلودگی سگ‌ها در کشور نشان داد بالاترین شیوع آلودگی به *دیروفیلاریا ایمیتیس* به میزان ۷۸/۶ و ۵۰ درصد به‌ترتیب از استان‌های گیلان و مازندران و کمترین آلودگی به میزان ۰/۹ و ۶/۹ درصد به‌ترتیب از استان‌های اصفهان و لرستان گزارش شده است. این اختلاف آلودگی می‌تواند ناشی از شرایط آب‌وهوایی، افزایش دما، بارندگی و حضور میزبان‌های واسط باشد (۱، ۲). فیلرهای خونی به‌عنوان انگل‌های منتقله توسط بندپایان، ازنظر بهداشتی و دامپزشکی حائز اهمیت می‌باشند. انتشار این آلودگی‌ها توسط ناقلین بندپا انجام می‌شود و به دنبال افزایش دمای سطح زمین، بیماری‌های منتقله توسط بندپایان در دنیا رو به افزایش است (۳). گونه‌های *دیروفیلاریا* به‌عنوان انگل‌های مشترک انسان و حیوان از نقاط مختلف ایران گزارش شده‌اند، اما تاکنون مطالعه‌ای درمورد آلودگی گوشتخواران در استان ایلام به انگل‌های خانواده فیلاری‌ایده انجام نشده است. این استان ازنظر بارندگی به‌عنوان ششمین استان پربارش کشور مطرح است (۴) و به‌دلیل داشتن تنوع زیست‌محیطی، جغرافیایی و آب‌وهوایی، امکان تکثیر و فعالیت ناقلین انگل‌های فیلریایی در این استان فراهم است (۵). در این استان حضور ۱۲ گونه کولکس گزارش شده است که گونه‌های *کولکس تیلری*، *کولکس پایپینس*، *کولکس تریتانورینکوس* به‌عنوان مهم‌ترین ناقلین انگل در بین گونه‌های گزارش‌شده، وجود دارد (۵). بنابراین ناقلین به‌عنوان رکن اصلی انتقال آلودگی در منطقه حضور دارند. باتوجه‌به اهمیت دامپروری و حضور سگ‌های گله، سگ‌هایی با کاربری‌های متفاوت و همچنین سگ‌های ولگرد در این استان، مطالعه حاضر باهدف بررسی آلودگی سگ‌ها به میکروفیلرهای خونی در استان ایلام برای اولین‌بار انجام شد.

مواد و روش کار

کلیه مراحل کار با حیوانات در مطالعه حاضر در کمیته تحقیقات اخلاقی دانشگاه تهران (کد: ۷۵۰۲۰۰۱/۶/۲۱ VETMEDUT) تأیید شد. در مطالعه حاضر ۱۳۹ قلاده سگ شامل ۱۰۳ قلاده سگ بی‌صاحب، ۱۶ قلاده سگ گله و ۲۰ قلاده سگ نگهبان با سن بالاتر از ۱ سال براساس امکان دسترسی به سگ‌ها، از شهرهای دهلران (n=۲۳)، دره‌شهر (n=۲۶)، ایوان (n=۱۸)، بدره (n=۶)، سیروان (n=۱۵)، ایلام (n=۳۲)، سرابله (n=۱۶) و چوار (n=۳) جمع‌آوری شدند. نمونه‌گیری از تابستان ۱۴۰۱ شروع و تا پایان بهار ۱۴۰۲ ادامه داشت. نمونه‌های خون (تقریباً ۴ میلی‌لیتر) در ۲ قسمت همراه با ماده ضدانعقاد سیترات سدیم و همچنین فرمالین ۲ درصد، جمع‌آوری شدند و در آزمایشگاه انگل‌شناسی با روش‌های نات اصلاح‌شده و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با تکثیر قطعات اختصاصی از لکوس ژن ITS1 با استفاده از ۲ جفت پرایمر اختصاصی، بررسی شدند.

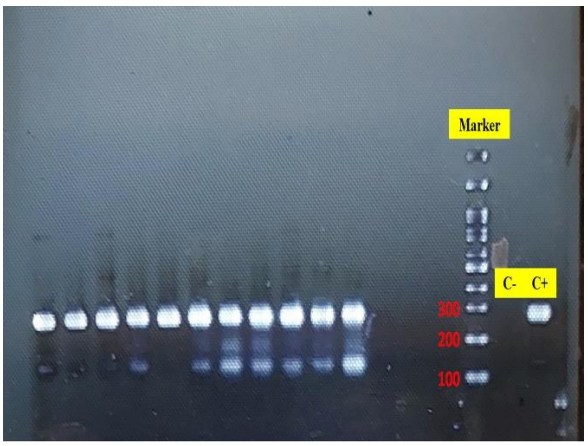
روش نات اصلاح‌شده: به‌منظور انجام این آزمایش، ۱ میلی‌لیتر خون حاوی ماده ضدانعقاد سیترات سدیم به لوله‌های حاوی ۹ میلی‌لیتر فرمالین ۲ درصد اضافه شد. در این روش براساس ویژگی‌های ریختی میکروفیلرها، شامل طول، عرض و انتهای خلفی (صاف یا خمیده بودن)، تشخیص تفریقی انجام شد.

روش PCR: استخراج دنا از خون‌های جمع‌آوری‌شده دارای ضدانعقاد و الکل ۷۰ درصد، با استفاده از کیت اختصاصی برای استخراج دنای نماتودها دقیقاً مطابق دستورالعمل کیت انجام شد (MBST, Iran). در مطالعه حاضر برای تشخیص *دیروفیلاریا ایمیتیس* و *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* قطعه‌ای از لکوس ژنی ITS1 تکثیر شد. توالی پرایمرهای مورداستفاده در مطالعه حاضر در جدول ۱ ارائه شده است. علاوه‌براین، قطعه‌ای به طول ۳۰۰ جفت‌باز از ژن بتااکتین سگ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، به‌عنوان کنترل داخلی تکثیر شد. محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد با رنگ اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه ژل‌داک، ساخت آمریکا (Gel Doc XR)، تحت تابش فرابنفش بررسی شد.

مقایسه ضریب توافق نتایج ۲ روش نات اصلاح‌شده و مولکولی (PCR) در تشخیص آلودگی فیلرهای خونی با ضریب کاپا تعیین شد (SPSS, version 20).

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای به‌کاررفته در مطالعه حاضر.

نام پرایمر	توالی (´۳ - ´۵)	طول توالی (جفت‌باز)	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)	اندازه محصول پی‌سی‌آر (جفت‌باز)	شماره دستیابی در بانک ژن
پرایمر بالادست *دیروفیلاریا ایمیتیس*	5´ GCTTAATTGATGATGATTGC 3´	۲۰	۵۱/۱۵	۱۵۵ جفت‌باز	MK250805.1
پرایمر پایین‌دست *دیروفیلاریا ایمیتیس*	5´ CAAGTGATCCACCGCTAAGAGT 3´	۲۲	۶۰/۲۵	۱۵۵ جفت‌باز	MK250805.1
پرایمر بالادست *آکانتوکیلونما رکوندیتوم*	5´TTAACCTTGTGCTAGTGTTAT3´	۲۴	۵۵/۸۸	۱۵۵ جفت‌باز	HG964684.1
پرایمر پایین‌دست *آکانتوکیلونما رکوندیتوم*	5´ CAAGTGATCCACCGCTAAGAGT3´	۲۲	۶۰/۲۵	۱۵۵ جفت‌باز	HG964684.1
پرایمر بالادست بتااکتین	5´ ACCCACACGGTGCCCATCTA 3´	۲۲	۶۱/۴۰	۳۰۰ جفت‌باز	U39357.1
پرایمر پایین‌دست بتااکتین	5´ CGGAACCGCTCATTGCC 3´	۱۷	۵۷/۵۹	۳۰۰ جفت‌باز	U39357.1



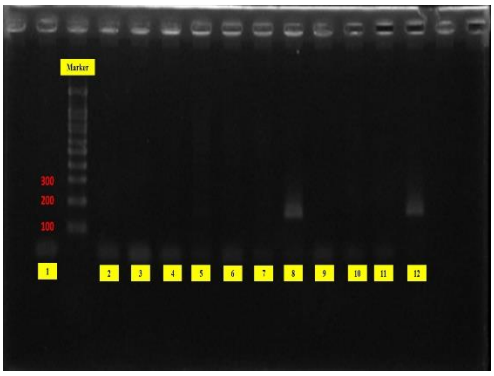
تصویر ۱. محصول PCR حاصل از تکثیر قطعه‌ای از ژن بتااکتین سگ به طول ۳۰۰ جفت‌باز بر روی ژل آگاروز ۱/۵درصد در کنار مارکر ۱۰۰ جفت‌باز (سینا کلون، ایران) و رنگ‌آمیزی‌شده با اتیدیوم بروماید. نمونه‌ها به‌ترتیب از راست به چپ: ستون ۱ نمونه کنترل مثبت (C^+)، ستون ۲ نمونه کنترل منفی یا نمونه فاقد دنا (C^-)، ستون ۳ مارکر دنا به طول ۱۰۰ جفت‌باز (سینا کلون، ایران)، ستون‌های ۴ تا ۱۴ نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده از سگ‌های استان ایلام (ستون‌های۴ و ۵ ایلام و ایوان، ستون‌های۶ و ۷ سیروان، ستون‌های ۸ و ۹ دهلران، ستون‌های۱۰ و ۱۱ سرابله، ستون ۱۲ دره‌شهر، ستون ۱۳بدره، ستون ۱۴ چوار).

نتایج

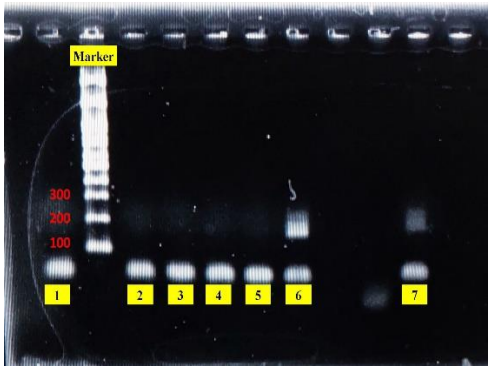
نتایج بررسی فیلرهای خونی در سگ‌های گله (۱۶ قلاده)، نگهبان (۲۰ قلاده) و بی‌صاحب (۱۰۳ قلاده) استان ایلام (درمجموع ۱۳۹ نمونه) به شرح زیر حاصل شد:

نتایج بررسی انگل‌شناسی: نمونه‌ها با روش نات اصلاح‌شده مورد بررسی قرار گرفتند و فقط در ۱ نمونه میکروفیلر مشاهده شد. در هیچ‌یک از نمونه‌های بررسی‌شده با روش نات اصلاح‌شده، میکروفیلر *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* مشاهده نشد.

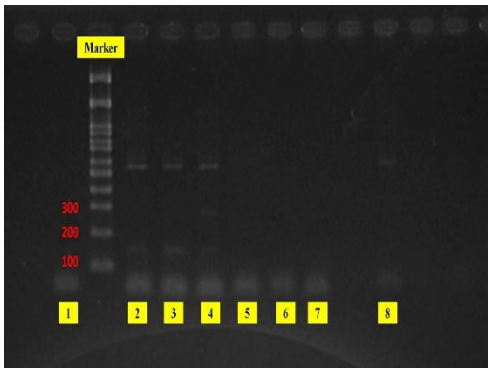
نتایج بررسی مولکولی: در بررسی مولکولی، ۳ نمونه خون آلوده به *دیروفیلاریا ایمیتیس* از شهرستان‌های دهلران (۱ مورد مثبت) و سیروان (۲ مورد مثبت) و همچنین ۳ مورد مثبت از *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* در شهرستان‌های ایلام (۲ مورد مثبت) و سرابله (۱ مورد مثبت) مشاهده گردید. در ادامه نتایج مطالعه حاضر در بخش مولکولی شامل نتایج PCR ژن‌های بتااکتین (تصویر ۱) و ITS1 ارائه شده است (تصویر ۲،۳،۴).



تصویر ۲. محصول PCR حاصل از تکثیر قطعه‌ای از لکوس ژنی ITS1 *دیروفیلاریا ایمیتیس* به طول ۱۵۵ جفت‌باز در کنار مارکر ۱۰۰ جفت‌باز (سینا کلون، ایران) از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از منطقه سیروان. ستون ۱ نمونه کنترل منفی یا نمونه فاقد دنا، ستون‌های ۲ تا ۷ نمونه‌های PCR منفی و نات منفی، ستون ۸ نمونه PCR مثبت و نات منفی، ستون‌های ۹ تا ۱۱ نمونه‌های PCR منفی و نات منفی، ستون ۱۲ نمونه کنترل مثبت (نمونه نات مثبت یا نمونه حاوی میکروفیلر *دیروفیلاریا ایمیتیس*).



تصویر ۳. محصول PCR حاصل از تکثیر قطعه‌ای از لکوس ژنی ITS1 *دیروفیلاریا ایمیتیس* به طول ۱۵۵ جفت‌باز در کنار مارکر ۱۰۰ جفت‌باز (سینا کلون، ایران) از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از منطقه دهلران. ستون ۱ نمونه کنترل منفی یا نمونه فاقد دنا، ستون‌های۲ تا ۵ نمونه‌های PCR منفی و نات منفی، ستون ۶ نمونه PCR مثبت و نات منفی، ستون ۷ نمونه کنترل مثبت (نمونه نات مثبت یا نمونه حاوی میکروفیلر *دیروفیلاریا ایمیتیس*).



تصویر ۴. محصول PCR حاصل از تکثیر قطعه‌ای از لکوس ژنی ITS1 *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* به طول ۱۵۵ جفت‌باز در کنار مارکر ۱۰۰ جفت‌باز (سینا کلون، ایران) از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از منطقه سرابله. ستون ۱ نمونه کنترل منفی یا نمونه فاقد دنا. ستون‌های ۲ تا ۴ نمونه‌های PCR مثبت و نات منفی، ستون‌های۵ تا ۷ نمونه‌های PCR منفی و نات منفی، ستون ۸ نمونه کنترل مثبت (نمونه نات مثبت یا نمونه حاوی میکروفیلر *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* از استان گیلان).

بحث

تاکنون مطالعه‌ای درمورد آلودگی سگ‌ها به فیلرهای خونی در استان ایلام انجام نشده بود. تعیین وضعیت مناطق در معرض خطر ازنظر آلودگی و آگاهی از انتشار ناقل و بیماری در کانون‌های جدید بسیار مهم است. آلودگی به فیلرها وابسته به انتشار ناقلین است. در این استان حضور ۱۲ گونه *کولکس* گزارش شده است که گونه‌های *کولکس تیلری*، *کولکس پاییپنس* و *کولکس تری‌تانورینکوس* به‌عنوان مهم‌ترین ناقلین انگل در بین گونه‌های گزارش‌شده وجود دارد. بنابراین ناقلین به‌عنوان رکن اصلی انتقال آلودگی در منطقه حضور دارند

(۵). در مطالعه حاضر ضریب کاپا برای تعیین ضریب توافق دو روش انگل‌شناسی و مولکولی در تشخیص *دیروفیلاریا ایمیتیس* در خون k=۰/۴۹۵ و *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* k=۰/۳۹۳ به دست آمد. در مطالعه‌ای که Hoseini و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند نیز ضریب کاپا برای مقایسه دو روش در تشخیص *دیروفیلاریا ایمیتیس* در خون k=۰/۳۵ و برای *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* k=۰/۵۷ تعیین شد. اعداد به‌دست‌آمده نشان می‌دهد این دو روش از توافق کمی برخوردار می‌باشند. اگرچه روش نات ارزان‌تر و ویژگی قابل‌قبولی در تشخیص میکروفیلرها دارد، اما روش مولکولی از حساسیت بالاتری برخوردار است. استفاده از روش‌های مولکولی در تشخیص میکروفیلر *دیروفیلاریا* در سال‌های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. این روش‌ها حساسیت و دقت مناسبی برای تشخیص گونه‌های کرم‌های فیلریایی دارند که بیشتر در مواردی که آلودگی مخفی وجود دارد، یا میکروفیلرها ازلحاظ ریخت‌شناسی قابل‌تفریق نمی‌باشند، یا اینکه مقدار نمونه بسیار کم است و مواردی که آلودگی با بیش از ۱ گونه فیلر اتفاق می‌افتد و تشخیص تفریقی نمونه‌ها دشوار باشد، استفاده می‌شود (۶). در تست الایزا هم به‌دلیل واکنش‌های متقاطعی که با سایر نماتودها نظیر *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* دارد، نتایج مثبت کاذب نیز گزارش شده است (۷).

در تست الایزا موارد منفی کاذب وجوددارد. اگر کرم بالغ در بدن میزبان از بین برود، میکروفیلرها در حدود ۱ تا ۳ سال در گردش خون باقی خواهند ماند و در این مدت علی‌رغم مثبت بودن آلودگی در روش نات، نتیجه تست الایزا منفی می‌شود. بنابراین علی‌رغم حساسیت بالای این تست‌ها، موارد منفی کاذب در دوره پیش‌آشکاری و یا مواردی که در آلودگی، تنها کرم نر حضور دارد، گزارش شده است. روش الایزا به‌عنوان یک روش کمی، براساس میزان غلظت پادگن و شدت واکنش می‌تواند تعداد کرم‌ها را پیش‌بینی کند. این کاربرد روش الایزا از اهمیت زیادی برخوردار است (۸). میزان آلودگی به *دیروفیلاریا ایمیتیس* در استان لرستان، همجوار شرقی این استان، ۷ درصد گزارش شده است، همچنین آلودگی در استان کرمانشاه، همسایه شمالی ۱۸ درصد و در استان خوزستان در جنوب این استان ۱۶ درصد گزارش شده است (۹، ۱۰).

نتایج بررسی فیلاریوزیس سگ‌های ولگرد شهرستان گرمسار نشان داد از ۱۲۲ قلاده سگ که با روش نات اصلاح‌شده آزمایش شده بودند، در ۱۸ نمونه حضور میکروفیلرهای خونی مشاهده شد (۱۴/۷۵ درصد). در ۱۵ نمونه، میکروفیلر *دیروفیلاریا ایمیتیس* (۱۲/۲۹ درصد)، ۲ نمونه *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* (۱/۶۴ درصد) و در ۱ نمونه آلودگی مختلط (۰/۸۲ درصد) تشخیص داده شد (۱۱) و در بررسی میزان شیوع فیلرهای خونی استان گلستان با روش نات اصلاح‌شده نتایج نشان داد ۱۵/۴۵ درصد سگ‌های موردمطالعه به *دیروفیلاریا ایمیتیس* و ۴/۵۵ درصد به *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* آلوده بودند (۱۲). بررسی اپیدمیولوژی فیلرهای خونی سگ‌های روستایی و شهری تبریز با روش‌های نات اصلاح‌شده و همچنین با کیت‌های سریع تشخیص آنتی‌ژن نشان داد ۴۴/۱۳ درصد از سگ‌ها به یکی از ۲ میکروفیلر *دیروفیلاریا ایمیتیس* و *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* و یا هر دو میکروفیلر آلوده بودند. یافته‌های این مطالعه، تبریز را به‌عنوان کانون بومی آلودگی به *دیروفیلاریا ایمیتیس* معرفی کرد (۱۳).

نتایج مثبت و منفی کاذب در تست‌های مبتنی بر جست‌وجوی آنتی‌ژن، یک عامل محدودکننده در برآورد خطر واقعی فیلاریازیس است. مثبت کاذب موجب تخمین بیش‌ازحد شیوع آلودگی می‌شود و منفی کاذب شیوع کمتر آلودگی واقعی را گزارش می‌دهد. پروتئین‌های نوترکیب بیان‌شده در سیستم‌های آزمایشگاهی و با روش‌های تخلیص مناسب می‌توانند نتایج مثبت کاذب را در تست‌های تشخیصی کاهش دهند (۱۴، ۱۵).

استان ایلام ۴۲۵ کیلومتر با کشور عراق مرز مشترک دارد، اما اطلاعاتی درمورد وضعیت آلودگی این مناطق به *دیروفیلاریا ایمیتیس* وجود ندارد. وضعیت مشابه در سایر مناطق دنیا گزارش شده است. به‌طور مثال شیوع سرمی دیروفیلاریازیس در کرواسی پایین گزارش شده است، درحالی‌که در رومانی به ۱۴ درصد رسیده است (۱۶). در یونان، شیوع بین ۷ تا ۱۴ درصد با روش سرم‌شناسی گزارش شده‌است، اما در ترکیه صفر تا ۱۸ درصد گزارش شده است (۱۶). در شمال شرقی چین، شیوع بین ۲ تا ۱۵ درصد و در ایالات شمال شرقی هند، شیوع بین ۲۹/۵ تا ۴/۷ درصد متغیر است (۱۶). عوامل اصلی تأثیرگذار بر گسترش عفونت *دیروفیلاریا*، تغییرات آب‌وهوایی و آلودگی گونه‌های جدید پشه‌های ناقل بیان شده‌اند، از دیگر عوامل مؤثر نیز می‌توان به جابه‌جایی سگ‌ها و عدم پیشگیری صحیح از آلودگی در این حیوانات اشاره کرد (۱۷). علاوه‌براین گوشتخواران دیگری شامل گرگ، شغال و روباه نیز در همه‌گیری (اپیدمیولوژی) فیلرها نقش دارند، اما مطالعاتی درمورد آلودگی این میزبان‌ها به‌دلیل محدودیت‌های ناشی از جمع‌آوری نمونه از حیات‌وحش انجام نشده است (۱۷). *دیروفیلاریا ایمیتیس* در بخش‌هایی از کانادا در ایالت انتاریو بومی است. انتاریو استانی است که بیشترین موارد عفونت‌های

کرم قلب در آن رخ می‌دهد. معمولاً در جنوب انتاریو در مقایسه با سایر مناطق استان و کشور، درجه حرارت گرم‌تر است. *دیروفیلاریا ایمیتیس* در غرب، جنوب و شرق انتاریو با مدل رگرسیون پواسون بررسی شد، نتایج نشان داد مناطق جنوبی ازنظر شاخص‌های اقلیمی تأثیر مثبت بر عفونت کرم قلب دارند و درنتیجه شاخص‌های اقلیمی عامل تعیین‌کننده در پیش‌بینی عفونت می‌باشند (۱۸). مطالعات اخیر نشان داده‌اند آلودگی به *دیروفیلاریا ایمیتیس* و *دیروفیلاریا ریپنس* از مناطق آندمیک به مناطقی که قبلاً بیماری گزارش نشده است و یا انتشار بیماری در آن کم بوده است، در حال افزایش است (۱۹). درمطالعه حاضرشهرستان‌های سیروان و سرابله و دهلران ازنظر آلودگی مثبت بودند، این شهرها در مسیر سیلاب‌های شدید سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۸ قرار داشتند. سیلاب‌ها می‌توانند یک عامل مؤثر در ایجاد زیستگاه برای پشه ناقل باشند. سیل می‌تواند باعث افزایش انتشار آلودگی در برخی مناطق شود (۱۹). بنابراین باتوجه‌به شرایط اقلیمی استان، حضور گسترده ناقلین، وضعیت آلودگی استان‌های همجوار و عدم درمان سگ‌های آلوده، امکان آلودگی بیشتر سگ‌ها به گونه‌های فیلری مورد انتظار است. حداقل دما در این استان در فصول سرد سال در برخی مناطق به ۸- درجه سانتی‌گراد می‌رسد، به‌طوری‌که در فصل‌های سرد در مناطق شمالی استان، حدود ۱ ماه یخبندان وجود دارد. برای پیش‌بینی وضعیت آلودگی به دیروفیلاریازیس در استان ایلام، لازم است مطالعات بیشتر و پیوسته باتوجه‌به تغییرات آب‌وهوایی و تغییر جمعیت پشه‌های میزبان واسط انجام شود.

نتیجه‌گیری نهایی: هر ۳ نمونه آلوده به *دیروفیلاریا ایمیتیس* مربوط به سگ‌های بی‌صاحب مناطق دهلران و سیروان بودند. این مناطق در مقایسه با سایر مناطق استان زمستان‌های معتدل دارند. ۳ مورد سگ آلوده به *آکانتوکیلونما رکوندیتوم* نیز مربوط به شهرستان‌های ایلام و سرابله بودند. این نواحی نیز از مناطق معتدل استان محسوب می‌شوند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر با حمایت صندوق حمایت از پژوهشگران ریاست‌جمهوری (کد طرح ۴۰۱۳۲۷۵) و معاونت پژوهش و فناوری دانشکده دامپزشکی (کد طرح ۲۷۷۱۴/۶/۰۶) دانشگاه تهران انجام شد. مراحل آزمایشگاهی آن در آزمایشگاه مولکولی گروه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد و نویسندگان بدین‌وسیله مراتب قدردانی خود را از حامیان اعلام می‌کنند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Hosseini SH, Manshori-Ghaishghorshagh F, Ramezani M, Nayebzadeh H, Ahoo MB, Eslamian A, et al. Canine microfilaraemia in some regions of Iran. Parasit Vector. 2022;15(1):1-1. doi: 10.1186/s13071-022-05209-7

2. Hoseini M, Jalousian F, Hoseini SH, Sadeghian AG. A cross sectional study on *Dirofilaria immitis* and *Acanthocheilonema reconditum* in sheepdogs in a western region in Iran. Vet Res Forum. 2020;11(2):185–190. doi: 10.30466/vrf.2018.78930.2046

3. Sassnau R, Daugschies A, Lendner M, Genchi C. Climate suitability for the transmission of *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in Germany. Vet Parasitol. 2014;205(1–2):239-245. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.06.034

4. Jafari M, Jafari G H. Climate zoning of tourist comfort in Ilam province with GIS technique. Geographical Quarterly, Scientific, Research. 2015;13(51):15-30.

5. Doosti S, Yaghoobi-Ershadi MR, Schaffner F, Moosa-Kazemi SH, Akbarzadeh K, Gooya MM, et al. Mosquito surveillance and the first record of the invasive mosquito species Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse) (Diptera: Culicidae) in southern Iran. Iran J Public Health. 2016;45(8):1064. PMID: 27928533

6. Mar PH, Yang IC, Chang GN, Fei AC. Specific polymerase chain reaction for differential diagnosis of Dirofilaria immitis and Dipetalonema reconditum using primers derived from internal transcribed spacer region 2 (ITS2). Vet Parasitol. 2002;106(3):243-52. doi: 10.1016/S0304-4017(02)00032-8 PMID: 12062512

7. Szatmári V, van Leeuwen MW, Piek CJ, Venco L. False positive antigen test for *Dirofilaria immitis* after heat treatment of the blood sample in a microfilaremic dog infected with *Acanthocheilonema dracunculoides*. Parasit Vector. 2020;13:1-6. PMID: 33004047

8. Malmasi A, Hosseini SH, Aramoon M, Bahonar A, Seifi HA. Survey of canine *Dirofilaria immitis* infection in Caspian provinces of Iran. Iran J Vet Res. 2011;12(4):340-344. doi: 10.22099/ijvr.2011.87

9. Bohloli Oskoii S, Sadeghi E, Hashemian AH, Ghaffari Khaligh S. Study on shepherd dog dirofilariosis in Kermanshah province in 2011-2012. J Vet Lab Res. 2013;5(1):47-54. doi: 10.22075/jvlr.2017.1236

10. Razi Jalali MH, Najafabadi MN, Mosallanejad B, Avizeh R, Alborzi A, Rahrovani M. Diagnosis of Dirofilaria immitis infection in urban and rural dogs in Ahvaz city by Counterimmunoelectrophoresis. J Vet Med. 2013;68(4):319-326. doi: 10.22059/jvr.2013.35958

11. Ranjbar Bahadori Sh, Khah AH. Investigation of filariosis in stray dogs in Garmsar city. J Vet Res. 2007;62(4):73-76.

12. Ranjbar Bahadori Sh, Eslami A. The prevalence of blood fillers in dogs of Golestan province using the modified Knot method and determining its periodicity. J Vet Res. 2007;62(1):11-14.

13. Meshgi B, Eslami A, Ashrafi Halan J. Investigation of epidemiology of blood fillers in rural and urban dogs of Tabriz. J Vet Res. 2002;57(4):115-117.

14. Shahbakhsh M, Jalousian F, Hosseini SH, Shayan P, Naser Moghadsi AR. Optimizing the expression and purification of recombinant protein type C lectin of *Toxocara canis* in *Escherichia coli* strain BL21 (DE3). J Vet Res. 2021;76(2):162–70. doi: 10.22059/jvr.2020.287488.2966

15. Malekzadeh P, Hosseini SH, Jalousian F, Akrami M, Aminina N. Comparative investigation of natural and artificial conditions in the solubilization and purification of *Toxocara canis* type C lectin recombinant protein. J Vet Res. 2023;78(3):157-165. doi: 10.22059/jvr.2023.353071.3316

16. Genchi C, Kramer LH. The prevalence of *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in the old world. Vet Parasitol. 2020;280:108995.

17. Moroni B, Rossi L, Meneguz PG, Orusa R, Zoppi S, Robetto S, et al. *Dirofilaria immitis* in wolves recolonizing northern Italy: are wolves competent hosts? Parasit Vectors. 2020;13(1):1-7. doi: 10.1186/s13071-020-04353-2

18. McGill E, Berke O, Peregrine AS, Weese JS. Epidemiology of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in domestic dogs in Ontario, Canada: geographic distribution, risk factors and effects of climate. Geospat Health. 2019;14(1). PMID: 31099511

19. Gutiérrez-Jara JP, Salazar-Viedma M, González CR, Cancino-Faure B. The emergence of *Dirofilaria repens* in a non-endemic area influenced by climate change: dynamics of transmission using a mathematical model. Acta Trop. 2022;226:106230. doi: 10.1016/j.actatropica.2021.106230 PMID: 34801478