

## بررسی فراوانی انگل هیاتوزون کنیس به روش میکروسکوپی و روش مولکولی

### در سگ‌های بی سر پناه شهر کرج

فاطمه سلطان محمدی<sup>۱</sup>، مرضیه کفایت<sup>۲\*</sup>، امیر رضا طالبی<sup>۱</sup>

۱- گروه دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲- گروه انگل شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۱۱

#### چکیده مبسوط

**زمینه و هدف مطالعه:** هیاتوزوآها تک‌یاخته‌های انگلی هستند که طیف وسیعی از گوشتخواران اهلی و وحشی، پرندگان، خزندگان و دوزیستان را آلوده می‌کنند. در سگ‌ها، عامل اصلی بیماری هیاتوزون کنیس است که به‌عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ناقل‌زاد شناخته می‌شود. کنه‌ای که پراکنش جهانی داشته و نقش کلیدی در چرخه انتقال ایفا می‌کند. عفونت با هیاتوزون کنیس می‌تواند طیفی از تظاهرات بالینی را ایجاد کند؛ از حالت بدون علامت و پارازیتمای خفیف تا بیماری شدید و مرگبار با علائمی همچون تب، بی‌حالی، بی‌اشتهایی، رنگ‌پریدگی مخاطات، کم‌خونی، اسهال، استفراغ، لاغری شدید، اختلالات حرکتی و پارازیتمای شدید و در برخی موارد، بیماری به‌صورت مزمن باقی می‌ماند و در شرایط ضعف ایمنی میزبان شدت می‌یابد. با توجه به اهمیت جهانی این انگل، نقش آن در سلامت سگ‌ها و ارتباط بالقوه با سایر بیماری‌های ناقل‌زاد، بررسی شیوع و عوامل خطر مرتبط با هیاتوزون کنیس در مناطق مختلف می‌تواند به درک بهتر اپیدمیولوژی بیماری و طراحی راهکارهای کنترل مؤثر کمک کند هدف این مطالعه بررسی آلودگی به هیاتوزون کنیس در نمونه‌های خون سگ‌های بی‌سرپناه شهر کرج با استفاده از روش میکروسکوپی و روش مولکولی (PCR) بود. **مواد و روش‌ها:** در مجموع ۵۰ نمونه خون از ورید سفالیک سگ‌های بی‌سرپناه شهر کرج جمع‌آوری شد. از تمامی نمونه‌ها گسترش خونی نازک تهیه و با روش گیمسا رنگ‌آمیزی گردید. سپس DNA از نمونه‌های خونی استخراج شد و به منظور ردیابی هیاتوزون کنیس، از پرایمرهای اختصاصی در واکنش PCR استفاده شد. **نتایج:** بررسی مستقیم لام‌های میکروسکوپی نشان داد یک نمونه (۲٪) آلوده به انگل هیاتوزون کنیس بود. نتایج PCR نیز وجود آلودگی در سه قلابه سگ (۶٪) را تأیید کرد. میزان آلودگی در سگ‌های مسن نسبت به سگ‌های جوان بیشتر و در سگ‌های نر نسبت به ماده بالاتر بود، هرچند اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج، شیوع هیاتوزون کنیس با تراکم و پراکنش جمعیت ناقلین ارتباط دارد. همچنین آلودگی به این انگل بیشتر با شرایط زندگی سگ‌ها مرتبط بوده و ارتباطی با جنس یا سن آن‌ها ندارد.

**کلمات کلیدی:** سگ، کرج، گیمسا، روش مولکولی، هیاتوزون کنیس

\*نویسنده مسئول: مرضیه کفایت

آدرس: گروه انگل شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

پست الکترونیک: marziehkefayat@iau.ac.ir

#### مقدمه

هپاتوزونوزیس یک بیماری انگلی مهم است که عامل آن گونه‌های مختلف هپاتوزون می‌باشند. این انگل‌ها از شاخه آپی کمپلکسا بوده و طیف وسیعی از میزبانان شامل گوشتخواران اهلی و وحشی، پرندگان، خزندگان و دوزیستان را آلوده می‌کنند (Erias و همکاران در سال ۲۰۰۷). در سگ‌ها، عامل اصلی بیماری هپاتوزون کنیس است که به‌عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ناقل‌زاد شناخته می‌شود و ارتباط نزدیکی با کنه‌ی سگ قهوه‌ای (*Rhipicephalus sanguineus*) دارد؛ کنه‌ای که پراکنش جهانی داشته و نقش کلیدی در چرخه انتقال ایفا می‌کند (Cardos و همکاران ۲۰۱۴؛ Hasani و همکاران ۲۰۲۴). چرخه زندگی هپاتوزون شامل دو مرحله است: یک مرحله در میزبان واسطه بی‌مهره (کنه) و مرحله دیگر در میزبان مهره‌دار. در میزبان مهره‌دار، تقسیم شیزوگونی در اندام‌های مختلف رخ داده و در نهایت مروزوایت‌ها تشکیل می‌شوند که به لکوسیت‌ها حمله می‌کنند. سگ‌ها معمولاً با خوردن کنه یا بخش‌هایی از اندام آن که آلوده به اووسیت بالغ یا اسپوروزوایت عفونی است، آلوده می‌شوند. (MSD Veterinary Manual, 2024)

عفونت با هپاتوزون کنیس می‌تواند طیفی از تظاهرات بالینی را ایجاد کند؛ از حالت بدون علامت و پارازیتمیای خفیف تا بیماری شدید و مرگبار با علائمی همچون تب، بی‌حالی، بی‌اشتهایی، رنگ‌پریدگی مخاطات، کم‌خونی، اسهال، استفراغ، لاغری شدید، اختلالات حرکتی و پارازیتمیای شدید (Gomez و همکاران در سال ۲۰۱۰؛ Allen در سال ۲۰۲۴). در برخی موارد، بیماری

به‌صورت مزمن باقی می‌ماند و در شرایط ضعف ایمنی میزبان شدت می‌یابد.

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که هپاتوزونوزیس در مناطق مختلفی از جمله جنوب اروپا، آمریکای جنوبی، آسیا و آفریقا شیوع بالایی دارد (Hasani در سال ۲۰۲۴). در ایران نیز نخستین گزارش مربوط به مشهد (Khoshnegah et al., 2009) و پس از آن مطالعات دیگری در نیشابور و مشهد مواردی از آلودگی را ثبت کردند (Karimi et al., 2015; Amoli et al., 2012). (Ashrafi Tamai & Staji, 2025) نشان داده‌اند که بیماری همچنان وجود دارد و با استفاده از روش‌های مولکولی مانند PCR می‌توان موارد بیشتری از آلودگی را شناسایی کرد.

مزیت اصلی روش‌های مولکولی، حساسیت بالا و اختصاصی بودن آن‌ها در شناسایی پاتوژن در خون محیطی و ناقلین بندپا نسبت به سایر روش‌هاست (Li et al., 2008; Ashrafi Tamai & Staji, 2025).

روش‌ها علاوه بر تشخیص دقیق‌تر، امکان بررسی عوامل خطر و تنوع ژنتیکی انگل را نیز فراهم می‌کنند (BMC Vet Res, 2025).

با توجه به اهمیت جهانی این انگل، نقش آن در سلامت سگ‌ها و ارتباط بالقوه با سایر بیماری‌های ناقل‌زاد، بررسی شیوع و عوامل خطر مرتبط با هپاتوزون کنیس در مناطق مختلف می‌تواند به درک بهتر اپیدمیولوژی بیماری و طراحی راهکارهای کنترل مؤثر کمک کند



(Hasani et al., 2024). هدف این تحقیق بررسی حضور هپاتوزون کنیس در نمونه‌های خون سگ‌های سرپناه استان البرز با استفاده از روش مولکولی PCR است.

### مواد و روش‌ها

در ابتدا از ورید سفالیک ۵۰ قلابه سگ بی‌سرپناه شهر کرج، به میزان ۳ میلی لیتر خون اخذ شد و در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA ریخته گردید. بر روی هر لوله، اطلاعات مربوط به سن، جنس و نژاد سگ‌ها ثبت شد. از هر نمونه خون یک گسترش خونی تهیه و پس از رنگ آمیزی گیمسا زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت.

### آزمون مولکولی

استخراج DNA از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده با استفاده از کیت استخراج DNA و مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده انجام شد. به منظور ردیابی هپاتوزون کنیس با روش PCR،

از پرایمرهای-5' Hep-F

(3'-ATACAGAGCAAAATCTCAAC و

Hep-R (5'-CTTATTATTCCATGCTGCAG-3') استفاده گردید. این پرایمرها قطعه‌ای به طول ۶۶۶ جفت‌باز از ژن 18S rRNA گونه‌های هپاتوزون را تکثیر می‌کنند.

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل:

- ۲/۵ میکرولیتر بافر (PCR حاوی ۱۰۰ mM Tris-HCl، pH=9، ۵۰۰ mM KCl و ۱ % Triton X-100)
- ۲/۵ میکرولیتر MgCl<sub>2</sub>

- ۲۵۰ میکرومول از هر چهار دئوکسی نوکلئوتید تری فسفات
- ۲ واحد آنزیم Taq DNA پلیمرز (Promega, Madison, WI, USA)
- ۲۰ پیکومول از هر پرایمر

شرایط چرخه PCR به صورت زیر بود:

- دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه
  - ۳۰ سیکل شامل: دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر در ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، و پلیمریزاسیون در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه
  - پلیمریزاسیون نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه
- DNA کنترل مثبت از سگ‌هایی که به طور طبیعی با هپاتوزون کنیس آلوده شده بودند (GenBank accession no: JQ867390) استخراج شد DNA . کنترل منفی شامل DNA خون سگ‌های غیرآلوده و آب مقطر بود که در هر فرآیند PCR استفاده گردید. محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱٪ منتقل و با رنگ Safe Stain رنگ آمیزی شد و سپس تحت اشعه UV مشاهده گردید.

### آنالیز آماری

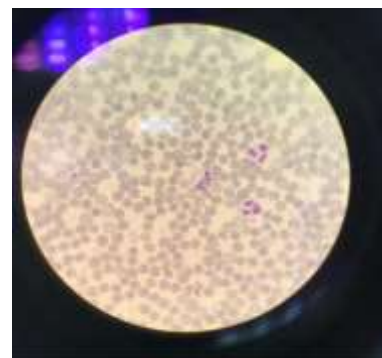
داده‌های حاصل از آزمون PCR و نتایج مثبت و منفی حاصل از آزمون با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ و با سطح اطمینان ۵٪ تحلیل شدند.

### نتایج



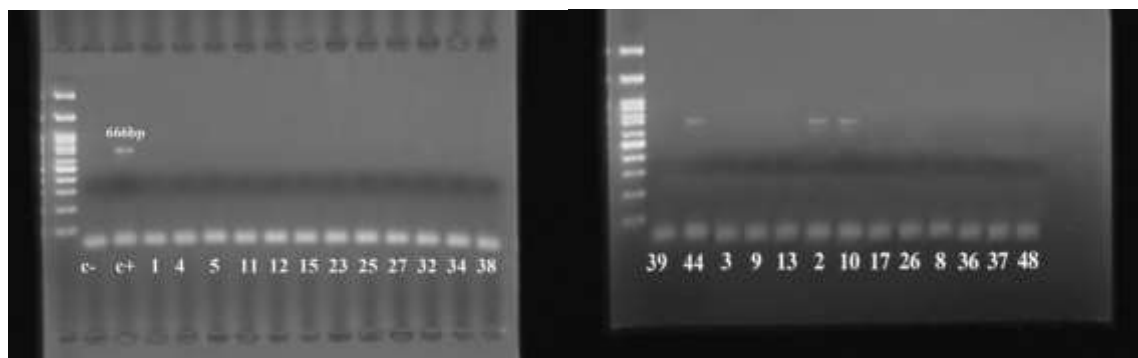
## نتایج بررسی اسمیرهای خون

پس از تهیه و رنگ آمیزی ۵۰ اسمیر خون از سگ های مورد آزمایش، لام ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و عدسی های ۴۰ و ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. در ارزیابی اسمیرها، یک مورد آلودگی به هپاتوزون کنیس مشاهده شد (تصویر ۱).



تصویر ۱. آلودگی به هپاتوزون کنیس

## نتایج بررسی مولکولی



تصویر ۲. نتایج الکتروفورز نمونه های ۱ الی ۵۰

جدول ۲. فراوانی نسبی و مطلق آلودگی سگهای استان البرز به هپاتوزون کنیس بر اساس جنس

| جنس سگ | تعداد مورد مطالعه | سگهای آلوده |       | سگهای غیر آلوده |       | اختلاف معنی دار (P value) |
|--------|-------------------|-------------|-------|-----------------|-------|---------------------------|
|        |                   | تعداد       | درصد  | تعداد           | درصد  |                           |
| نر     | ۲۶                | ۲           | ۷/۷   | ۲۴              | ۹۲/۳  | ۰/۱۵۰                     |
| ماده   | ۲۴                | ۱           | ۴/۱۶  | ۲۳              | ۹۵/۸۳ | ۰/۱۵۱                     |
| مجموع  | ۵۰                | ۳           | ۱۱/۸۶ | ۴۷              | ---   |                           |

جدول ۳. فراوانی نسبی و مطلق آلودگی سگهای استان البرز به هپاتوزون کنیس بر اساس سن

| سن سگ | تعداد مورد مطالعه | سگهای آلوده |       | سگهای غیرآلوده |       | اختلاف معنی دار (P value) |
|-------|-------------------|-------------|-------|----------------|-------|---------------------------|
|       |                   | تعداد       | درصد  | تعداد          | درصد  |                           |
| جوان  | ۱۸                | ۱           | ۵/۵   | ۱۷             | ۹۴/۴  | ۰/۱۵۱                     |
| مسن   | ۳۲                | ۲           | ۶/۲۵  | ۳۰             | ۹۳/۷۵ | ۰/۱۵۱                     |
| مجموع | ۵۰                | ۳           | ۱۱/۷۵ | ۴۷             | ---   |                           |

## بحث و نتیجه گیری

هپاتوزون کنیس یک انگل تک سلولی منتقل شونده توسط کنه‌هاست که به طور عمده سگ‌ها را آلوده می‌کند و عامل بیماری انگلی مهمی به نام هپاتوزونوز است. ارتباط نزدیک این انگل با کنه‌ی سگ قهوه‌ای (*Rhipicephalus sanguineus*) که در سراسر جهان پراکنش دارد، اهمیت ویژه‌ای به این بیماری بخشیده است. (Cardoso et al., 2014). مطالعات مختلف در جهان میزان شیوع متفاوتی از این انگل را گزارش کرده‌اند؛ از جمله ترکیه، کلمبیا، برزیل، نیجریه، کرواسی، پرتغال، اسپانیا، مجارستان و فیلیپین (Aktas et al., 2015; Hernández et al., 2012; Gomes et al., 2010; Sasaki et al., 2008; Dezdek et al., 2010; Cardoso et al., 2014; Gimenez et al., 2009; Farkas et al., 2014; Baticados et al., 2010). اختلافات نشان‌دهنده‌ی تأثیر عوامل محیطی، جغرافیایی و شرایط آب‌وهوایی بر میزان شیوع بیماری است.

در ایران، نخستین گزارش مربوط به خوش‌نگاه و همکاران (Khoshnegah et al., 2009) در مشهد بود و پس از آن مطالعات دیگری در نیشابور و مشهد مواردی از آلودگی را ثبت کردند (Karimi et al., 2015; Amoli et al., 2012). یافته‌های اخیر نیز نشان می‌دهند که بیماری همچنان در ایران وجود دارد؛ به عنوان مثال،

مطالعه‌ای در تهران (Recent Study, 2025) با استفاده از روش‌های مولکولی موارد جدیدی از آلودگی را شناسایی کرده است. این یافته‌ها اهمیت استفاده از روش‌های حساس‌تر مانند PCR را در پایش بیماری برجسته می‌سازند.

در مطالعه حاضر که بر روی ۵۰ قلاده سگ بی‌سرپناه شهر کرج انجام شد، در بررسی میکروسکوپی تنها یک مورد (۲٪) آلودگی مشاهده گردید، در حالی که آزمون مولکولی PCR سه مورد (۶٪) آلودگی را شناسایی کرد. این یافته نشان می‌دهد که روش مولکولی نسبت به روش میکروسکوپی حساسیت بالاتری دارد. مطالعات مشابه نیز این موضوع را تأیید کرده‌اند؛ به عنوان مثال، آکتاس و همکاران (Aktas et al., 2015) در ترکیه و هرناندز و همکاران (Hernández et al., 2012) در کلمبیا اختلاف مشابهی را گزارش کردند. مرور جامع منتشرشده در سال ۲۰۲۴ نیز تأکید کرده است که روش‌های مولکولی نه تنها در تشخیص دقیق‌تر، بلکه در بررسی عوامل خطر و پایش اپیدمیولوژیک نقش کلیدی دارند (Review Article, 2024).

تفاوت شیوع هپاتوزون کنیس به عوامل مختلفی از جمله فصل، شرایط آب‌وهوایی، منطقه جغرافیایی و تراکم ناقلین وابسته است. در یونان، مطالعه‌ای نشان داد که



آلودگی بیشتر در مناطق روستایی رخ می دهد که تراکم کنه ها بالاتر است. (Gimenez et al., 2009) همچنین اغلب موارد ابتلا در فصل های گرم سال گزارش شده اند، زمانی که کنه ها به وفور یافت می شوند. با این حال، مواردی از آلودگی در فصل های سرد نیز مشاهده شده که احتمالاً ناشی از حضور مزمن انگل در بدن میزبان است.

در مطالعه حاضر، شیوع آلودگی در سگ های مسن نسبت به سگ های جوان بیشتر بود، هرچند اختلاف معنی داری مشاهده نشد. این یافته با نتایج برخی مطالعات پیشین همخوانی دارد که نشان داده اند سن به تنهایی عامل تعیین کننده در شیوع بیماری نیست و عواملی مانند جمعیت ناقل، پراکنش جغرافیایی و وضعیت ایمنی میزبان نقش مهم تری دارند. (Rojas et al., 2014) همچنین، اگرچه میزان آلودگی در سگ های نر بیشتر از ماده بود، این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود، که با نتایج مطالعات آکتاس و همکاران (Aktas et al., 2015) و گومز و همکاران (Gomes et al., 2010) مشابه است.

به طور کلی، یافته های اخیر نشان می دهند که هپاتوزون کنیس همچنان یک انگل مهم در سطح جهانی است و روش های مولکولی بهترین ابزار برای پایش و تشخیص آن محسوب می شوند. علاوه بر این، مرورهای جدید بر اهمیت بررسی عوامل خطر مانند وضعیت بالینی، شرایط محیطی و تراکم ناقلین تأکید دارند (Review Article, 2024; Recent Study, 2025). ترکیب

داده های محلی با مطالعات جهانی می تواند دیدگاه جامع تری در مورد اپیدمیولوژی این بیماری فراهم سازد.

### نتیجه گیری

مطالعه حاضر نخستین بررسی بر روی وضعیت آلودگی به هپاتوزون کنیس در سگ های بی سرپناه شهر کرج بود. نتایج نشان داد که میزان آلودگی در بررسی میکروسکوپی پایین تر (۲٪) و در آزمون مولکولی PCR بالاتر (۶٪) است، که بیانگر حساسیت و اختصاصی بودن روش های مولکولی در تشخیص این انگل می باشد. هرچند اختلاف شیوع بر اساس سن و جنس مشاهده شد، اما از نظر آماری معنی دار نبود. به طور کلی، یافته های اخیر نشان می دهند که هپاتوزون کنیس همچنان یک انگل مهم در سطح جهانی است و روش های مولکولی بهترین ابزار برای پایش و تشخیص آن محسوب می شوند. علاوه بر این، مرورهای جدید بر اهمیت بررسی عوامل خطر مانند وضعیت بالینی، شرایط محیطی و تراکم ناقلین تأکید دارند. بنابراین، ترکیب داده های محلی با مطالعات جهانی می تواند دیدگاه جامع تری در مورد اپیدمیولوژی این بیماری فراهم سازد.

### منابع

1. Aktas, M., Özübek, S. & Balkaya, I., 2015. A molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* in domestic dogs in Turkey. *Veterinary Parasitology*, 209, pp.264–267.
2. Amoli, A.R., Khoshnegah, J. & Razmi, G.R., 2012. A preliminary parasitological survey of *Hepatozoon* spp. infection in dogs in Mashhad, Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 7 (4), pp.99–103.



- 'First molecular characterization of canine hepatozoonosis in Argentina: evaluation of asymptomatic Hepatozoon canis infection in dogs from Buenos Aires', *Veterinary Parasitology*, **149** (3–4), pp. 275–279.  
doi:10.1016/j.vetpar.2007.07.010
9. Farkas, R., Solymosi, N., Takacs, N. & Hornyak, A., 2014. First molecular evidence of *Hepatozoon canis* infection in red foxes and golden jackals from Hungary. *Parasites & Vectors*.
  10. Gimenez, C., Casado, N., Criado-Fornelio, Á., Álvarez de Miguel, F. and Dominguez-Peñañiel, G. (2009) 'A molecular survey of Piroplasmida and Hepatozoon isolated from domestic and wild animals in Burgos (northern Spain)', *\*Veterinary Parasitology\**, **162** (1–2), pp. 147–150. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.02.021. .
  11. Gomes, P.V., Mundim, M.J.S., Mundim, A.V., Cabral, D.D., Moraes, M.M., Cury, M.C. and Mundim, A.P.S. (2010) 'Occurrence of Hepatozoon sp. in dogs in southeastern Brazil', *Veterinary Parasitology*, **174** (1–2), pp. 155–161. doi:10.1016/j.vetpar.2010.08.004
  12. Hernández, G.V., Rojas, A., Zea, A., González, M., Echeverry, D. and Baneth, G. (2012) 'Molecular characterization of Hepatozoon canis in dogs from Colombia', *Parasitology Research*, **110** (1), pp. 489–492. doi:10.1007/s00436-011-2527-6
  13. Kaewkong, W., Kaewkong, L., Kaewkong, P., Kaewkong, S. and Kaewkong, T. (2014) 'High throughput pyrosequencing technology for molecular differential detection of canine pathogens', *Ticks and Tick-borne*
  3. André, M.R., Adania, C.H., Teixeira, R.H.F., Vargas, G.H., Falcade, M., Sousa, L., Salles, A.R., Allegretti, S.M., Felipe, P.A. and Machado, R.Z. (2010) 'Molecular detection of Hepatozoon spp. in Brazilian and exotic wild carnivores', *Veterinary Parasitology*, **173** (1–2), pp. 134–138. doi:10.1016/j.vetpar.2010.06.014
  4. Aydin, M.F., Sevinc, F. and Sevinc, M. (2015) 'Molecular detection and characterization of Hepatozoon spp. in dogs from the central part of Turkey', *Ticks and Tick-borne Diseases*, **6**(3), pp. 388–392. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.03.004
  5. Baticados, A.M., Baticados, W.N., Carlos, E.T., Carlos, S.M.E.A.S., Villarba, L.A., Subiaga, S.G. and Magcalas, J.M. (2010) 'Parasitological detection and molecular evidence of Hepatozoon canis from canines in Manila, Philippines', *Veterinary Medicine: Research and Reports*, **1**, pp. 7–10. doi:10.2147/VMRR.S16529
  6. Cardoso, L., Cortes, H.C.E., Eyal, O., Reis, A., Lopes, A.P., Vila-Viçosa, M.J., Rodrigues, P.A. and Baneth, G. (2014) 'Molecular and histopathological detection of Hepatozoon canis in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Portugal', *Parasites & Vectors*, **7**, p. 113. doi:10.1186/1756-3305-7-113
  7. Dezdek, D., Vojta, L., Čurković, S., Lipej, Z., Mihaljević, Ž., Cvetnić, Ž. and Beck, R. (2010) 'Molecular detection of Theileria annae and Hepatozoon canis in foxes (*Vulpes vulpes*) in Croatia', *Veterinary Parasitology*, **172** (3–4), pp. 333–336. doi:10.1016/j.vetpar.2010.05.022
  8. Eiras, D.F., Basabe, J., Scodellaro, C.F., Banach, D.B., Matos, M.L., Krimer, A. and Baneth, G. (2007)



- ‘A PCR-based epidemiological survey of *Hepatozoon canis* in dogs in Nigeria’, *Journal of Veterinary Medical Science*, **70** (7), pp. 743–745. doi:10.1292/jvms.70.743
20. Recent Study (Tehran, Iran), 2025. Molecular detection of *Hepatozoon canis* in dogs attending veterinary clinics. *Iranian Veterinary Journal*, **20** (3), pp.210–218.
  21. Review Article, 2024. Global epidemiology of canine hepatozoonosis: advances in molecular diagnosis and risk factors. *Journal of Parasitic Diseases*, **48** (2), pp.89–102.
  22. Study (India, Andhra Pradesh), 2023. Prevalence of *Hepatozoon canis* in dogs using PCR and microscopy. *Tropical Animal Health and Production*, **55** (1), pp.33–41.
  23. MSD Veterinary Manual, 2024. *Hepatozoonosis in dogs*. Merck & Co., Inc.
  24. Allen, J., 2024. Clinical manifestations of canine hepatozoonosis. *Veterinary Clinical Review*, **12** (2), pp.77–85.
  25. Hasani, M., Shayan, P., Rahbari, S., Baneth, G. and Akhtardanesh, B. (2024) ‘Epidemiology of *Hepatozoon canis* in companion animals: a global perspective’, *Veterinary Parasitology Reviews*, **15** (1), pp. 45–59. doi:10.1016/j.vpr.2024.01.005
  26. Li, Y., Ito, T., Sato, H., Kawamura, S., Watanabe, Y. and Rikihisa, Y. (2008) ‘Molecular detection methods for *Hepatozoon* spp. in dogs: sensitivity and specificity of PCR’, *Parasitology International*, **57** (2), pp. 121–126. doi:10.1016/j.parint.2007.11.004
  27. BMC Veterinary Research, 2025. Genetic diversity and molecular epidemiology of *Hepatozoon canis* Diseases, **5** (4), pp. 381–385. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.02.006
  14. Karagenç, T.I., Pasa, S., Kiral, F., Hosgor, M., Bilgic, H.B., Eren, H. and Duzlu, O. (2006) ‘A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon canis* infection in dogs around the Aegean coast of Turkey’, *Veterinary Parasitology*, **135** (2), pp. 113–119. doi:10.1016/j.vetpar.2005.08.00
  15. Karimi, N., Heydarpour, M., Salarisadegh, H. & Hasanabadi, H., 2015. A case report of canine infection with *Hepatozoon canis* in Nishapur. In *Proceedings of the 9th Congress of Clinical Veterinary Sciences of Iran*, Tabriz: Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, p.435.
  16. Khoshnegah, J., Mohri, M., Movassaghi, A.R. & Mehrjerdi, K.H., 2009. The first report of *Hepatozoon canis* infection of dog in Iran. *Comparative Clinical Pathology*, **18**, pp.445–448.
  17. Miranda, R.L., de Castro, M.B., Ribeiro, M.F.B., Vieira, T.S.W.J., Vieira, R.F.C., Machado, R.Z. and André, M.R. (2014) ‘Prevalence and molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from Southeast Brazil’, *Research in Veterinary Science*, **97** (2), pp. 326–329. doi:10.1016/j.rvsc.2014.07.001
  18. Rojas, A., Rojas, D., Montenegro, V.M., Gutiérrez, R., Yasur-Landau, D. and Baneth, G. (2014) ‘Vector-borne pathogens in dogs from Costa Rica: first molecular description of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis*’, *Veterinary Parasitology*, **199** (1–2), pp. 121–128. doi:10.1016/j.vetpar.2013.10.026
  19. Sasaki, M., Omata, Y., Koyama, T., Matsuu, A., Hirakawa, H., Ishii, M., Inokuma, H. and Okuda, M. (2008)



۳۲ نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی / نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی دوره بیست و یکم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۴، پیاپی ۵۰

in dogs. *BMC Veterinary Research*,  
21 (4), pp.300–312.



## Prevalence of *Hepatozoon canis* by Microscopic and Molecular Methods in Stray Dogs of Karaj City

Fateme Soltan Mohamadi<sup>1</sup>, Marziyeh kefayat<sup>\*2</sup>, Amir Reza Talebi<sup>1</sup>

1. Department of Veterinary Medicine, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

2. Department of Parasitology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

Received: 08 December 2025      Accepted: 02 January 2026

---

### Extended Abstract

**Introduction:** Hepatozoa are parasitic protozoa that infect a wide range of domestic and wild carnivores, birds, reptiles, and amphibians. In dogs, the main agent of the disease is *Hepatozoon canis*, which is recognized as one of the most common vector-borne diseases. A tick that has a global distribution and plays a key role in the transmission cycle. Infection with *Hepatozoon canis* can cause a range of clinical manifestations; from asymptomatic and mild parasitemia to severe and fatal disease with symptoms such as fever, lethargy, anorexia, pale mucous membranes, anemia, diarrhea, vomiting, severe emaciation, movement disorders, and severe parasitemia. In some cases, the disease remains chronic and is exacerbated in conditions of weak host immunity. Given the global importance of this parasite, its role in dog health, and its potential association with other vector-borne diseases, investigating the prevalence and risk factors associated with *Hepatozoon canis* in different regions can help to better understand the epidemiology of the disease and design effective control strategies. The aim of this study was to investigate *Hepatozoon canis* infection in blood samples of shelter dogs in Alborz Province using the molecular PCR method. **Materials and methods:** A total of 50 blood samples were collected from the cephalic vein of stray dogs in Karaj. Thin blood smears were prepared from all samples and stained with Giemsa. DNA was then extracted from the blood samples, and specific primers for *Hepatozoon canis* were used in PCR assays to detect the parasite. **Results:** Microscopic examination of blood smears revealed one positive sample (2%) infected with *Hepatozoon canis*. PCR analysis confirmed infection in three dogs (6%). The infection rate was higher in older dogs compared to younger ones, and more frequent in males than females; however, these differences were not statistically significant. **Conclusion:** The findings of this study, along with previous research, suggest that the prevalence of *Hepatozoon canis* is associated with the distribution and density of vectors. The results also indicate that infection is more closely related to the living conditions of dogs rather than their age or sex.

**Keywords:** Dog, Gimsa, *Hepatozoon canis*, Karaj, Molecular Method

---

Corresponding Author: Marzieh kefayat

Address: Department of Parasitology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

Email: marziehkefayat@iau.ac.ir