

Assessment of the Feasibility of Bioresonance Technology for Diagnosing Feline Infectious Peritonitis (FIP) in Cats

Farsijani, F.^{1*}, Safi, Sh.², Shirazi Beheshtiha, S.H.³

1- Graduate of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

2- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Diagnostic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran.

*Corresponding authors email: farnoosh.farsijani.vet@gmail.com

(Received: 2025/3/3 Accepted: 2025/7/3)

Expanded Abstract

Background and Objective: Feline Infectious Peritonitis (FIP) is one of the most lethal and complex viral diseases in cats, resulting from a mutation of Feline Coronavirus (FCoV). This disease is particularly prevalent in young cats and in group-housing environments such as catteries and shelters. Diagnosis of FIP has long remained challenging due to the wide variability of clinical signs and the absence of a definitive diagnostic method. Conventional approaches, such as polymerase chain reaction (PCR), despite their advantages, suffer from limitations including relatively low sensitivity and the potential for false-negative results. In recent years, novel techniques such as bioresonance, based on the detection and analysis of electromagnetic waves emitted by cells and pathogens, have gained attention. Nevertheless, the application of this method in diagnosing viral diseases in veterinary medicine, particularly FIP, has not yet been systematically evaluated. This study was therefore designed to assess the diagnostic performance of a specific frequency-modulated bioresonance technique (SMF) in comparison with standard PCR for detecting FCoV infection in cats clinically suspected of having FIP.

Materials and Methods: This descriptive-analytical study was conducted between 2020 and 2022 at the Central Veterinary Laboratory in Tehran, Iran. A total of 30 cats (19 males and 11 females), aged 2 to 24 months and presenting with clinical signs suggestive of FIP including fever, anorexia, jaundice, ocular inflammation, abdominal distension, and neurological abnormalities, were enrolled. Approximately 2 mL of blood was collected from the cephalic vein of each cat. All samples were subjected to two diagnostic methods: (1) molecular RT-PCR targeting the highly conserved regions of the FCoV M gene and the leader sequence of the viral genome; and (2) bioresonance analysis using the MINI-EXPERT-DT device and IMIDIS-EXPERT software, employing a specific frequency of 793.562 Hz and an amplitude of 12 volts. To evaluate the accuracy of both methods, a composite “gold standard” (defined as the

combined results of PCR and bioresonance) was used. Statistical analyses, including chi-square tests, Cohen's kappa coefficient, logistic regression modeling, and receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, were performed using SPSS v27 and GraphPad Prism v9.4 software.

Findings: The bioresonance method significantly outperformed PCR in diagnostic performance and the sensitivity of bioresonance was 100%, compared to only 70.6% for PCR, indicating that bioresonance correctly identified all true-positive cases. Specificity was also higher for bioresonance (81.8%) than for PCR (72.7%). The kappa agreement coefficient between bioresonance and the gold standard was 0.845, reflecting excellent agreement, whereas PCR showed only moderate agreement (kappa= 0.420). The area under the ROC curve (AUC) further confirmed the superior diagnostic accuracy of bioresonance (AUC= 0.909) compared to PCR (AUC= 0.717). Additionally, the overall diagnostic accuracy of bioresonance was 92.9%, significantly higher than the 71.4% recorded for PCR.

Conclusion: This study demonstrates that the bioresonance method, with its high sensitivity and accuracy, can serve as a reliable, rapid, and non-invasive diagnostic tool for FIP in clinically suspected cats. Beyond its ability to detect all infected cases, bioresonance significantly reduces false-negative results, thereby enhancing the precision and effectiveness of clinical decision-making by veterinarians. Given its non-invasive nature, relatively low cost, and speed, bioresonance appears to be a promising complementary, or even alternative, approach in veterinary clinical settings, especially where time and resources are limited. To the authors' knowledge, this is the first scientific report from Iran, and among the earliest globally, on the application of bioresonance for FIP diagnosis, marking a significant step toward innovative strategies in veterinary viral diagnostics. Future studies with larger sample sizes and diverse clinical scenarios are recommended to further validate these findings and expand the application of this emerging technology to other infectious diseases.

Keywords: feline infectious peritonitis, feline coronavirus, bioresonance, polymerase chain reaction, non-invasive diagnosis, sensitivity, specificity.

Conflict of interest: None declared.



بررسی امکان بهره‌گیری از روش بیورزونانس در تشخیص گربه‌های مبتلا به پریتونیت عفونی گربه‌سانان

فروش فارسیجانی^۱، شهاب‌الدین صافی^{۱*}، سیدحامد شیرازی بهشتی^۲

۱- گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- گروه پاتوبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: s.safi@srbiau.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۱۲/۱۲ پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۴/۱۲)

چکیده مبسوط

زمینه و هدف: پریتونیت عفونی گربه‌سانان (Feline Infectious Peritonitis; FIP) یکی از بیماری‌های ویروسی مرگ‌بار و پیچیده در گربه‌هاست که ناشی از جهش کروناویروس گربه‌سانان (Feline Coronavirus; FCoV) است. این بیماری به‌ویژه در گربه‌های جوان و محیط‌های گروهی مانند پرورشگاه‌ها و پناهگاه‌ها شایع‌تر است و تشخیص آن به‌دلیل تنوع علائم بالینی و عدم وجود یک روش تشخیصی قطعی، همواره چالش‌برانگیز بوده است. روش‌های متداولی همچون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با وجود مزایا، از محدودیت‌هایی از جمله حساسیت نسبی و امکان منفی‌کاذب رنج می‌برند. در سال‌های اخیر، روش‌های نوینی مانند بیورزونانس، که بر پایه ثبت و تحلیل امواج الکترومغناطیسی سلول‌ها و پاتوژن‌ها عمل می‌کند، مورد توجه قرار گرفته‌اند. با این وجود، کاربرد این روش در تشخیص بیماری‌های ویروسی در دامپزشکی، به‌ویژه FIP، هنوز مورد بررسی سیستماتیک قرار نگرفته است. این مطالعه با هدف ارزیابی کارایی روش بیورزونانس بر پایه فرکانس مدولاسیون خاص (SMF) در مقایسه با روش استاندارد PCR برای تشخیص عفونت FCoV در گربه‌های مشکوک به FIP طراحی شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی-تحلیلی در بازه زمانی سال‌های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۱ در آزمایشگاه دامپزشکی سانترال تهران انجام شد. در این پژوهش، ۳۰ قلاده گربه (۱۹ نر و ۱۱ ماده) با دامنه سنی ۲ تا ۲۴ ماه که به‌دلیل علائم بالینی مشکوک به FIP (از جمله تب، بی‌اشتهایی، زردی، التهاب چشم، اتساع شکم و ناهنجاری‌های عصبی) به مراکز دامپزشکی مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند. از هر گربه حدود ۲ میلی‌لیتر خون از ورید سفالیک جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها تحت دو روش تشخیصی قرار گرفتند: (۱) روش مولکولی RT-PCR با هدف‌گیری نواحی ژنتیکی محافظت‌شده ژن M و دنباله لیدر ژنوم FCoV؛ و (۲) روش بیورزونانس با استفاده از دستگاه MINI-EXPERT-DT و نرم‌افزار IMIDIS-EXPERT بر اساس فرکانس اختصاصی ۷۹۳/۵۶۲ هرتز و دامنه ۱۲ ولت. برای ارزیابی دقت روش‌ها، از استاندارد طلایی (ترکیب نتایج PCR و بیورزونانس) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های

آماري مجذور کاي، ضريب توافق کاپا، مدل رگرسيون لجستيک و تحليل منحنی ROC در نرم‌افزارهای SPSS v27 و GraphPad Prism v9.4 مورد تجزيه و تحليل قرار گرفتند.

یافته‌ها: روش بیورزونانس عملکرد برتری نسبت به PCR داشت و حساسیت روش بیورزونانس ۱۰۰ درصد گزارش شد، در حالی که این مقدار برای PCR تنها ۷۰/۶ درصد بود؛ یعنی بیورزونانس تمام موارد مثبت واقعی را به درستی شناسایی کرد. همچنین، ویژگی (Specificity) روش بیورزونانس ۸۱/۸ درصد در مقابل ۷۲/۷ درصد برای PCR به دست آمد. ضریب توافق کاپا بین بیورزونانس و استاندارد طلایی ۰/۸۴۵ بود که نشان‌دهنده توافق بسیار خوب است، در حالی که این ضریب برای PCR تنها ۰/۴۲۰ بود. مساحت زیر منحنی ROC (AUC) نیز برای بیورزونانس ۰/۹۰۹ و برای PCR 0.717 محاسبه شد که این یافته نیز برتری قابل توجه بیورزونانس را در تشخیص دقیق‌تر FIP تأیید می‌کند. صحت کلی (Overall Accuracy) روش بیورزونانس ۹۲/۹ درصد در مقابل ۷۱/۴ درصد برای PCR ثبت گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که روش بیورزونانس با حساسیت و دقت بالا می‌تواند به‌عنوان یک ابزار غیرتهاجمی، سریع و قابل‌اعتماد در تشخیص FIP در گربه‌های مشکوک مورد استفاده قرار گیرد. این روش نه تنها قادر به شناسایی همه موارد مبتلا است، بلکه با کاهش موارد منفی کاذب، می‌تواند تصمیم‌گیری بالینی دامپزشکان را دقیق‌تر و مؤثرتر سازد. با توجه به ماهیت غیرتهاجمی، هزینه نسبتاً پایین و سرعت بالای این روش، به‌نظر می‌رسد که بیورزونانس می‌تواند به‌عنوان یک روش مکمل یا حتی جایگزین در محیط‌های بالینی دامپزشکی مورد استفاده قرار گیرد، به‌ویژه در شرایطی که زمان و منابع محدود هستند. این مطالعه اولین گزارش علمی از کاربرد بیورزونانس در تشخیص FIP در ایران و یکی از نخستین موارد در سطح جهانی است و گشودن دریچه‌ای جدید در تشخیص بیماری‌های ویروسی در دامپزشکی محسوب می‌شود. پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده با نمونه‌های بیشتر و در شرایط مختلف بالینی، به‌منظور تأیید یافته‌های حاضر و گسترش کاربرد این فناوری نوین در سایر بیماری‌های عفونی انجام شود.

واژگان کلیدی: پریتونیت عفونی گربه‌سانان، کرونا‌آویروس گربه‌سانان، بیورزونانس، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، تشخیص غیرتهاجمی، حساسیت، ویژگی.

مقدمه

سنی، مخصوصاً گربه‌های پیر را نیز مبتلا سازد (Li et al., 2019).

علایم بالینی بیماری تورم عفونی صفاق گربه‌ها ممکن است بین چند هفته تا چند سال پس از آلوده شدن حیوان به ویروس رخ دهد. در سال‌های اخیر، افزایش محبوبیت و تکثیر گربه‌های نژاد خالص و اصیل، افزایش تعداد گربه‌های نگهداری شده در پناهگاه‌ها، تحمل شرایط استرس‌زای بیش‌تر و مواجهه با عفونت‌های هم‌زمان و... که توانایی دام را برای جلوگیری از عفونت مختل می‌کنند، باعث افزایش جمعیت گربه‌های مبتلا شده‌است. گزارش شده که تشخیص بیماری فوق‌دشوار می‌باشد، از این رو روش‌های مختلفی برای بررسی عفونت با ویروس عامل FIP معرفی شده‌است. در این راستا علی‌رغم این‌که روش‌های تشخیص بیماری‌های ویروسی پیشرفت‌های قابل توجهی داشته، اما با این وجود نتوانسته موفقیت لازم را در تشخیص سریع از نظر زمانی و نیز دقت لازم را بر آورده کند و همیشه احتمال خطا وجود داشته‌است، اما از طرف دیگر، عقیده بر این است که به کمک مجموعه‌ای از اقدامات تشخیصی شامل معاینه کامل و دقیق بالینی، ارزیابی‌های تخصصی آزمایشگاهی، تصویربرداری تشخیصی و هیستوپاتولوژی، تشخیص دقیق و سریع ممکن می‌شود (Zimmerman et al., 2013).

دانش بیورزونانس علمی است که با استفاده از تکنولوژی نوین و کامپیوتر و بر اساس ارتعاشات سلولی، امکانات گسترده‌ای را در زمینه تشخیص و درمان و سلامت انسان‌ها در اختیار قرار می‌دهد. دانش مذکور قدمت صد ساله در دنیای علم دارد که برای اولین بار در سال ۱۹۱۰ توسط دانشمندان بزرگی

تورم عفونی صفاق (پرتونیت) گربه یا (feline infectious peritonitis; FIP) یک بیماری ویروسی به شدت مهلک است که در بین گربه‌های جوانی که از پناهگاه‌ها، پرورشگاه‌ها یا خانه‌هایی که تعداد زیادی گربه در آنها نگهداری می‌شود، شایع‌تر می‌باشد. عامل ایجاد بیماری مذکور، سویه‌ای از کروناویروس گربه‌ها (FCOV یا Feline coronavirus) است (Zimmerman et al., 2013). بیشتر سویه‌های کروناویروس گربه‌ها نظیر (Feline enteric coronavirus; FECV)، بیماری مهمی ایجاد نمی‌کنند، یا در صورت ایجاد بیماری، سبب مشکلات خفیفی مثل اسهال زودگذر می‌شوند. اما بنابر دلایلی مثل ژنتیک، استرس و عوامل تغذیه‌ای یا عوامل ناشناخته دیگر، ویروس FECV بی‌خطر یا کم‌خطر می‌تواند در بدن گربه تبدیل به ویروس مهلک عامل FIPV شود. برخلاف سایر کروناویروس‌های بی‌خطر که توانایی خارج شدن از دستگاه گوارش را ندارند، ویروس عامل FIP می‌تواند به خارج از دستگاه گوارش انتقال پیدا کند و از طریق خون به دیگر قسمت‌های بدن (چشم، کلیه، کبد، طحال و اعصاب) انتقال یافته و در این مناطق به صورت دائمی اقامت گزیده و باعث اختلالات شدید و ایجاد بیماری مهلکی به نام تورم عفونی صفاق در گربه شود. بنابراین FIP در هر جایی که FECV وجود داشته باشد، می‌تواند دیده شود. FIP بیشتر در گربه‌های جوان (۶ ماهه تا ۳ ساله) و در مکان‌هایی که تعداد زیادی گربه، نگهداری می‌گردد، دیده می‌شود، با این وجود بیماری فوق می‌تواند گربه‌ها را در هر رده

سال ۱۹۹۳ میلادی، دانشمندی روس به نام پروفیسور "گاتوسکی" به طور رسمی دستگاه بیورزونانس را در محافل علمی و تجاری روسیه به ثبت رساند. دستگاه مذکور بر خلاف دستگاه‌های دیگر دارای نرم افزار کامپیوتری بود که توانایی روش بیورزونانس را چندین برابر بیشتر کرد و بدین ترتیب امکان تشخیص حضور و یا عدم حضور پاتوژن‌ها در اعضای مختلف بدن به صورت موضعی میسر می‌گردید (Hooi *et al.*, 2017). براساس شواهد موجود، تا سال‌های ۲۰۰۰ میلادی، کشورهای پیشرو در زمینه دانش بیورزونانس، آلمان و روسیه بودند، ولی به مرور زمان دانش مذکور در سراسر دنیا رواج پیدا نمود، به گونه‌ای که طبق آخرین آمار، در حال حاضر در سراسر دنیا بالغ بر ۴۰۰۰ پزشک با استفاده از تکنولوژی فوق به تشخیص و درمان بیماران مشغول می‌باشند (Allahverdiyev *et al.*, 2015).

امروزه علم پزشکی پیشرفت‌های چشمگیری داشته است و مخصوصاً با کشف این اصل حیاتی که سلول‌های سالم دارای ارتعاشات خاصی هستند و زمانی که بیمار می‌شوند با توجه به نوع و عامل بیماری ارتعاشات مذکور تغییر می‌کنند، ابزار جدیدی در اختیار پزشکان قرار گرفته که نوع و عامل بسیاری از بیماری‌ها را با دقت بالا حتی قبل از بروز علائم بیماری شناسائی کرده و بصورت گزارش در اختیار پزشک و بیمار قرار می‌دهد و در مراحل بعدی درمان‌هایی ارائه می‌شود که بدون بهره‌گیری از داروهای شیمیائی است و بدین لحاظ می‌توان گفت دیدگاه جدیدی از تشخیص و درمان به روی علم پزشکی گشوده شده است. لذا بررسی عملکرد روش تشخیصی جدید ذکر شده، دارای اهمیت بالائی است

به نام‌های لاکسوسکی و نیکلای تسلا می‌طرح و ارائه شده که در ادامه هم منتج به تولید دستگاهی در این زمینه گردیده است (Elliot, 1993). به دنبال آن در امریکا و در سال ۱۹۲۰ میلادی، دکتر "رایف" برای اولین بار، با استفاده از امواج ماورا بنفش توانست فرکانس ارتعاشات میکروارگانیسم‌ها را به دست آورد و آن‌ها را ثبت نماید. در ادامه این مسیر او توانست توسط فرکانس‌های سلولی و تکنیک خاص ایجاد رزونانس در آن‌ها، میکروسکوپی با قدرت بزرگنمایی ۶۰ هزار بار، با توان دید میکروارگانیسم‌های بسیار کوچکی مانند ویروس‌ها را طراحی کرده و بسازد که حتی میکروسکوپ‌های الکترونی کنونی به این حد قادر به رویت میکروارگانیسم‌ها نیستند. نامبرده همچنین با انتخاب فرکانس‌های صحیح توانست رزونانس ویرانگری را ایجاد نماید که موجب تخریب و از بین رفتن ویروس‌ها می‌گشتند. این قضیه انقلاب عظیمی را در از بین بردن میکروب‌ها توسط داروهایی غیرشیمیایی، به وجود آورد (Costa *et al.*, 2011). در سال ۱۹۵۳ میلادی، پزشک و پژوهشگر بزرگی بنام دکتر وول آلمانی توانست با بکارگیری اصل وجود میدان‌های بیو الکترومغناطیس سلولی، دستگاه و تجهیزات الکتروپونکچر را طراحی کرده و بسازد (Allahverdiyev *et al.*, 2015). در سال ۱۹۷۸ میلادی دکتر اشمیل، دیگر دانشمند آلمانی، توانست دستگاهی را طراحی کند که قادر بود رزونانس‌های ایجاد شده در سلول‌های بدن و پاتوژن‌های موجود در بدن را شناسایی نماید. دستگاه‌های امروزی بیورزونانس بر طبق استانداردهای اولیه این دانشمند بزرگ طراحی شده است (Hooi *et al.*, 2017). در

اثبات شده است و به احتمال زیاد می‌تواند جایگزین روش‌های زمان‌بر، پرهزینه و تهاجمی شود و یا این-که به صورت توام، جهت افزایش دقت و تسریع در تشخیص، مورد استفاده قرار گیرد. از طرف دیگر، نظر به این‌که هنوز هیچ کارآزمایی بالینی، متآنالیز یا مقاله تحقیقاتی و مروری سیستماتیک در مورد بیورزونانس چه در حیطه علم پزشکی و چه دامپزشکی در داخل کشور منتشر نشده، لذا با انجام مطالعه حاضر به دنبال معرفی روشی جدید و کارآمد، جهت تشخیص یکی از بیماری‌های شایع در دامپزشکی بودیم. لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی روش بیورزونانس در تشخیص کرونا ویروس گربه‌ها در مقایسه با روش رایج تشخیصی PCR انجام شده است

لذا لازم به ذکر است که در این مطالعه، شناسایی اختصاصی ویروس پریئونیت عفونی گربه‌سانان (FCoV) بر اساس نواحی ژنتیکی محافظت‌شده و حیاتی این ویروس بود. ژنوم M (Membrane gene) یکی از ژن‌های ساختمانی اصلی در ویروس‌های کرونا محسوب می‌شود که در تشکیل پوشش ویروسی و فرایند جوانه‌زنی ویرون نقش حیاتی دارد و از آنجایی که توالی آن در بین سویه‌های مختلف نسبتاً محافظت‌شده باقی مانده است، هدف مناسبی برای طراحی پرایمر در روش‌های تشخیصی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با رونویس معکوس (RT-PCR) محسوب می‌شود (Simons *et al.*, 2005).

همچنین، توالی لیدر (Leader Sequence) در انتهای ژنوم ویروس قرار دارد و در فرایند رونویسی ژن‌های زیرژنومی ویروس‌های کرونا نقش کلیدی دارد.

(Barbault *et al.*, 2009). در این راستا، یافته‌های چندین مطالعه بالینی، درجات اطمینان از میدان‌های الکترومغناطیسی تعدیل‌شده را نشان می‌دهند که می‌تواند ویژگی‌های تشخیصی و درمانی داشته باشد (Barbault *et al.*, 2009). اگرچه اثرات مثبت میدان‌های الکتریکی و الکترومغناطیسی مختلف modulated electromagnetic amplitude; EMFs) در علوم پزشکی آشکار است (Costa *et al.*, 2015; Luna *e al.*, 2011)، ولی براساس بررسی‌های انجام گرفته توسط نویسندگان مقاله حاضر، در حیطه علم دامپزشکی، مطالعات چندانی در این خصوص وجود ندارد.

روش‌های تشخیصی زیادی در مورد بیماری تورم عفونی صفاق گربه‌ها وجود دارد که برخی از آن‌ها حساسیت و ویژگی پایینی دارند. اما بررسی نتایج چند روش تشخیصی در کنار هم با در نظر گرفتن علائم بالینی می‌تواند به تشخیص دقیق‌تر با اطمینان بیشتر ما را نزدیک کند. همچنین روش‌های جدیدی مانند بیورزونانس که با استفاده از تکنولوژی نوین و کامپیوتر و بر اساس ارتعاشات سلولی امکانات گسترده‌ای را در زمینه تشخیص و درمان و سلامت انسان‌ها در اختیار قرار داده‌است، ولی در عین حال در حال حاضر، قدمت کمی در دامپزشکی دارد، لذا لزوم بررسی بیشتر تکنولوژی مذکور، احساس می‌گردد چراکه در صورت بدست آوردن نتایج مطلوب در این خصوص، روش مذکور به دلیل این‌که کاملاً بدون عارضه می‌باشد، سطح انرژی بدن را به سرعت بالا می‌برد و کانال‌های انرژی مسدود را آزاد می‌کند، در دسته تشخیص و درمان‌های غیرتهاجمی و طبیعی قرار می‌گیرد، پایه و تأثیر دانش مربوطه، قطعی و

Transcriptase Polymerase Chain Reaction; RT-PCR):

-استخراج و خالص‌سازی RNA ویروس مورد تحقیق: در این مرحله از تحقیق، از نمونه‌های خون اخذ شده، با استفاده از کیت YTzo (ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما، کشور ایران) و طبق پروتکل شرکت سازنده، RNA ویروسی استخراج شد. بدین منظور، مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از رسوب حاصله در عمل سانتریفیوژ و مقدار ۳۰۰ میکرولیتر تریزول (ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما، کشور ایران) به هر میکروتیوب اضافه کرده، به شدت مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. در ادامه ۰/۲ میلی‌لیتر کلروفرم (ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما، کشور ایران) به ازای هر میلی‌لیتر از معرف YTzol (ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما، کشور ایران)، به مخلوط اضافه شد (۶۰ میکرولیتر). میکروتیوب‌های مذکور به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شدند و سپس ۲ دقیقه هم در دمای اتاق نگه‌داری شدند. در ادامه میکروتیوب‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ (با استفاده از دستگاه سانتریفوژ رومیزی، مدل EBA 20، شرکت Hettich، کشور آلمان) شدند. پس از سانتریفیوژ، مخلوط موجود در هر میکروتیوب، به یک فاز زرد آبی در پایین (فنل-کلروفرم)، یک فاز بینابینی و یک فاز آبی بی‌رنگ در بالا، جدا شد. لازم به ذکر است که RNA ویروسی، منحصراً در فاز آبی بالای میکروتیوب‌ها، جای می‌گیرد. در ادامه RNA‌های استخراج شده، با استفاده از ۱۵۰ میکرولیتر ایزوپروپیل الکل (ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما، کشور ایران) رسوب داده شدند و سپس،

استفاده از این ناحیه در طراحی پرایمر، امکان تشخیص اختصاصی تر نسخه‌های فعال RNA ویروسی را فراهم می‌سازد و می‌تواند دقت تشخیص را در مراحل اولیه عفونت افزایش دهد (Decaro et al., 2008; Masters, 2006).

بر همین اساس، در این مطالعه از پرایمرهایی هدف‌گیر ژن M و دنباله لیدر جهت تشخیص مولکولی ویروس پریتونیت عفونی گربه‌سانان (FCoV) استفاده شد.

مواد و روش‌ها

-نمونه‌های تحقیق:

مطالعه توصیفی-تحلیلی حاضر، در طی سال‌های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۱، در آزمایشگاه دامپزشکی سانترال انجام شد. نمونه خون از رگ سفالیک از تعداد ۳۰ قلاده گربه (شامل ۱۱ قلاده گربه ماده و ۱۹ قلاده گربه نر) در سنین بین ۲ الی ۲۴ ماه، مشکوک به بیماری FIP (با توجه به علائم بالینی مربوطه، شامل: تب، بی‌اشتهایی، کاهش وزن، بی‌حالی عمومی، زردی، التهاب چشم، اتساع شکم، تنگی نفس، ناهنجاری‌های دستگاه عصبی مرکزی)، که طی سال‌های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۱ به بیمارستان‌های دامپزشکی رویال و مرکزی تهران مراجعه داده شده بودند، اخذ گردید.

برای هر گربه حدود ۲ میلی‌لیتر خون کامل در شرایط استریل و استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتر و سرسوزن گیج ۲۲ اخذ گردید و در لوله حاوی ضد انعقاد جمع‌آوری شد.

-تشخیص عفونت کروناویروسی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز رونویسی معکوس (Reverse

محتویات هر یک از میکروتیوب‌ها اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سلسیوس، گرمخانه‌گذاری شده و سپس در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری گردیدند.

- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق:

مطابق اطلاعات ارائه شده در جدول ۱، جفت پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی از توالی کاملاً محافظت- شده M (پرایمر ۲۱۲) مربوط به ژنوم FCoV، همراه با جفت پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی که دنباله لیدر ژنوم FCoV را هدف قرار می‌دهد (پرایمر ۱۱۷۹) انتخاب شدند (Simons et al., 2005).

در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شده و در ادامه در دمای ۴ درجه سلسیوس، با سرعت ۱۲۰۰۰ دور دقیقه، به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در این مرحله، ایزوپروپیل الکل استفاده شده در مرحله قبل، دور ریخته شد و سپس مقدار یک میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد به میکروتیوب‌ها اضافه شده و به آرامی مخلوط گردید. در ادامه مخلوط حاصله، به مدت ۲ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و تحت دمای ۴ درجه سلسیوس، سانتریفیوژ شد. سپس همه میکروتیوب‌ها، پس از دور ریختن الکل موجود در آن‌ها، به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. نهایتاً هم مقدار ۳۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به

جدول ۱- مشخصات کامل پرایمرهای استفاده‌شده در مطالعه

نام ژن هدف	نام جفت پرایمر مربوطه	مشخصات محصول تولیدشده (اندازه محصول، پایه)	(Position) موقعیت ژنتیکی	(۳' → ۵') توالی نوکلئوتیدی پرایمر
ویروسی M ژن	^a جفت پرایمر ۲۱۲	پایه ۲۲	۲۶۴۴۰-۲۶۴۶۱	TAA TGC CAT ACA CAA CCA GCT
لیدر ژنوم ویروسی	^a جفت پرایمر ۱۱۷۹	پایه ۲۵	۳۵-۶۰	GTG TCT AGT TTG TCT TCG GAC ACC
ویروسی M ژن	^b جفت پرایمر ۱۱۸۱	پایه ۲۰	—	CAA AGT GTG TCA TGG ATG ACC
ویروسی M ژن	^b جفت پرایمر ۱۱۸۰	پایه ۱۸	—	CCA TGG AGA AGG CTG GGG

^aموقعیت عددی ژن M ویروس FIPV79-1179 بر اساس کدون شروع ATG در سمت ۵' ژنوم تعیین شده است.
^b ژنوم GADPH گربه‌سانان (Simons et al., 2005)

شده و به مدت ۲ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردیده و سپس بلافاصله با قرار دادن بر روی یخ، محتویات میکروتیوب، سرد شد. مخلوط تهیه‌شده برای سنتز cDNA شامل ۱ میکرولیتر dNTPs، ۰/۰۵ میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس ویروسی لوسمی مولونی (MMLV RT)، ۱ میکرولیتر بافر MMLV و ۷/۵ میکرولیتر آب بدون نوکلئاز بود، که به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. در ادامه آنزیم با

-واکنش زنجیره‌ای پلیمرز رونویسی معکوس انجام گرفته: در تحقیق حاضر، جهت سنتز قابل اعتماد cDNA تمام طول به کمک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز رونویسی معکوس، از کیت سنتز cDNA (Vivantis، Malaysia، Selango)، مطابق با دستورالعمل‌های ارائه‌شده توسط شرکت سازنده کیت، استفاده شد. بدین منظور، ابتدا مقدار ۳ میکرولیتر از محلول RNA استخراجی و ۳ میکرولیتر از پرایمر معکوس ۲۱۲، در یک میکروتیوب استریل مخلوط

انجام گرمخانه‌گذاری در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، غیرفعال شد. سپس مقدار ۲۸۰ میکرولیتر آب بدون نوکلئاز به نمونه‌ها اضافه شد و قبل از استفاده در روش PCR در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

- واکنش اصلی زنجیره‌ای پلیمراز انجام گرفته در تحقیق: پس از مرحله رونویسی معکوس، با استفاده از مقدار ۱۲/۵ میکرولیتر از مسترمیکس آمپلیکون (Denmark, Odense M) که شامل ۱ میکرولیتر پرایمر ۲۱۲، ۱ میکرولیتر پرایمر ۱۱۷۹، ۵ میکرولیتر cDNA پرایمر و ۵/۵ میکرولیتر آب بدون نوکلئاز بود، برای انجام واکنش اصلی PCR استفاده شد. پروتکل چرخه‌های دمایی هم شامل ۱۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۰ چرخه دناتوراسیون یک دقیقه‌ای در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، مدت زمان یک دقیقه برای مرحله اتصال پرایمر در دمای ۶۲ درجه سلسیوس و ۳۰ ثانیه مرحله گسترش پرایمر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود. در ادامه و بعد از تکرار ۳۰ چرخه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس، در نهایت مخلوط واکنش تا دمای ۴ درجه سلسیوس خنک شد.

- آنالیز محصولات تکثیر شده در واکنش اصلی زنجیره‌ای پلیمراز: در این مرحله با استفاده از مقدار ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR و به کمک ژل آگارز ۱/۵ درصد (Tris-Acetate-EDTA) TAE (شرکت سیناژن، کرج، ایران) و انجام عمل الکتروفورز به مدت ۴۰ دقیقه در ولتاژ ۱۰۰ ولت، آنالیز محصولات مذکور انجام شد. برای ارزیابی اندازه محصولات PCR هم از سایز مارکری با اندازه ۱۰۰ جفت باز (سیناکلون، کرج، ایران) استفاده شد.

لازم به ذکر است که پس از انجام عمل الکتروفورز، ژل الکتروفورز شده در محلول ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر Safe Stain (سیناکلون، کرج، ایران) غوطه‌ور شد و پس از رنگ آمیزی به مدت ۱۵ دقیقه، محصولات تکثیر شده در ژل توسط نور UV دستگاه ترانسلو میناتور (Bio-Rad; Bio-Rad Gel Doc 1000 Laboratories, Inc) عکس برداری شد.

- تشخیص عفونت کروناویروسی با استفاده از روش بیورزونانس:

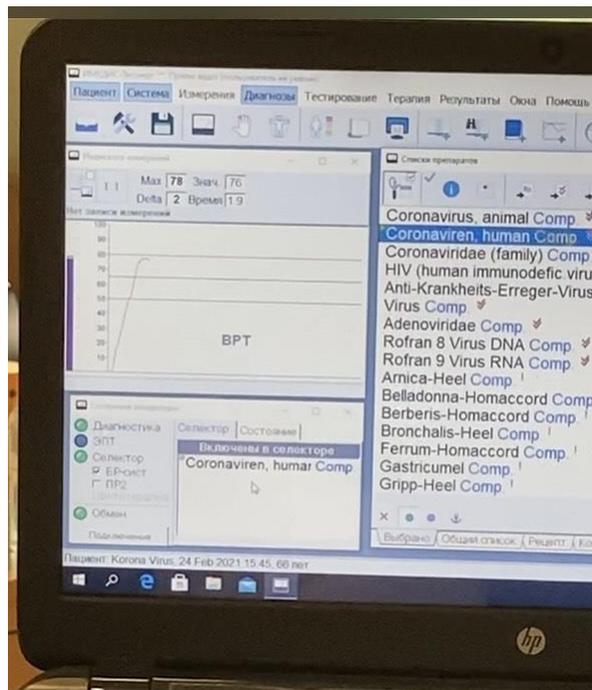
هنگامی که دستگاه به بدن بیمار متصل می‌شود، در طول فرآیند تشخیص، کامپیوتر بلافاصله پس از پردازش داده‌های فیزیولوژیکی دریافتی از بیمار، نمودارهای گرافیکی خاصی را ترسیم و روی مانیتور نمایش می‌دهد. متعاقباً، وجود یا عدم وجود مشکلات مرتبط با سلامتی تعیین می‌شود. در نهایت، نتایج تحلیل به سرعت در جداول مشخصی چاپ شده و در اختیار کاربر قرار می‌گیرد.

برای تفسیر تشخیصی، یک آستانه ۸۰ ولت تعیین شده است. قرائت‌هایی که از این آستانه فراتر می‌روند، به عنوان موارد مثبت طبقه‌بندی می‌شوند، در حالی که مواردی که کمتر از ۸۰ ولت هستند، به عنوان موارد منفی در نظر گرفته می‌شوند (شکل‌های ۱ و ۲).

برای تشخیص آلودگی به کروناویروس (FCoV) با استفاده از دستگاه بیورزونانس (MINI-EXPERT-DT، ساخت شرکت Deta Elis، روسیه) و طبق پروتکل اختصاصی سازنده مورد بررسی قرار گرفتند. پارامترهای اندازه‌گیری دستگاه روی ۶ میکروآمپر و ۱۰۰ کیلو اهم تنظیم شده است. این ابزار قادر است پالس‌های الکتریکی، شامل اشکال موج مثبت، منفی و

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار
IMIDIS-EXPERT استفاده شد.

دوقطبی را در محدوده فرکانسی ۰/۱ تا ۱۵ کیلوهرتز
و محدوده ولتاژ ۱ تا ۲۰ ولت اعمال کند. برای
تشخیص کروناویروس (FCoV) دامنه پالس روی ۱۲
ولت و فرکانس پالس روی ۷۹۳/۵۶۲ هرتز تنظیم
شد.



شکل ۱- خوانش بیماران مبتلا به پریتونیت عفونی با استفاده از دستگاه بیورزونانس



شکل ۲- شمای کلی دستگاه بیورزونانس و نحوه انجام تست

-تحلیل آماری داده‌ها:

در مطالعه حاضر جهت ارزیابی تطابق بین روش‌های تشخیصی و همچنین بررسی همبستگی با استاندارد طلایی (ترکیب نتایج PCR و بیورزونانس) از جدول‌های مقاطع (crosstabs) بهره گرفته شد. همچنین، به منظور بررسی وجود ارتباط آماری معنادار بین نتایج از آزمون مجذور کای (χ^2 -square) استفاده شد. به منظور طراحی مدل پیش-بینی و همچنین اندازه‌گیری روابط بین آزمون‌ها و با استاندارد طلایی از مدل رگرسیون لجستیک تک متغیره و چند متغیره (Logit Model) استفاده شد. با استفاده از جدول طبقه‌بندی به‌دست آمده از مدل رگرسیون لجستیک، حساسیت و ویژگی هر آزمون و مساحت زیر منحنی (منحنی ROC) نیز محاسبه شد.

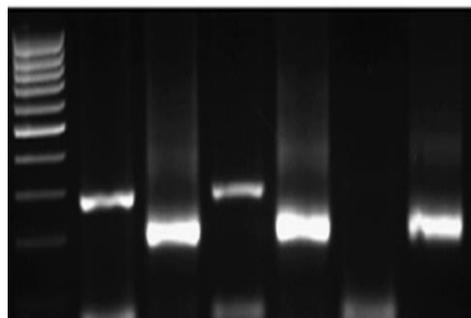
برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای IBM SPSS v27، GraphPad Prism v9، 4 استفاده شد و سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

شکل ۳ نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات حاصل از PCR را نشان می‌دهد. -نتایج PCR و بیورزونانس:

نتیجه‌های دو روش تشخیصی برای FCoV در ۳۰ نمونه در جدول ۱ ارائه شده‌اند. این جدول، ترکیب نتایج واکنش PCR و بیورزونانس را برای هر نمونه نشان داده است.

M 1 2 3 4 5 6



شکل ۳- نمونه‌هایی از شناسایی mRNA توسط RT-PCR

M: نشانگر وزن ملکولی ۱۰۰ جفت باز

خطوط ۱ و ۳: تقویت محصول mRNA RT-PCR (۲۹۵ جفت باز) از نمونه‌های خون

خطوط ۲، ۴ و ۶: GADPH mRNA (گلیسرآلدهید دهیدروژناز) مثبت

خط ۵: کنترل mRNA PCR منفی

جدول ۱- نتایج دو روش تشخیصی برای تشخیص FCoV

شماره نمونه	PCR	Bioresonance
۱	مثبت	مثبت
۲	منفی	مثبت
۳	منفی	مثبت
۴	مثبت	مثبت
۵	منفی	منفی
۶	منفی	منفی
۷	مثبت	مثبت
۸	منفی	مثبت
۹	مثبت	مثبت
۱۰	منفی	منفی
۱۱	مثبت	مثبت
۱۲	مثبت	مثبت
۱۳	مثبت	منفی
۱۴	منفی	مثبت
۱۵	منفی	منفی
۱۶	مثبت	مثبت
۱۷	مثبت	مثبت
۱۸	مثبت	مثبت
۱۹	منفی	منفی
۲۰	مثبت	منفی
۲۱	مثبت	مثبت
۲۲	مثبت	مثبت
۲۳	مثبت	مثبت
۲۴	منفی	مثبت
۲۵	مثبت	مثبت
۲۶	منفی	مثبت
۲۷	منفی	منفی
۲۸	منفی	منفی
۲۹	مثبت	مثبت
۳۰	منفی	مثبت

-نتایج روش‌های تشخیصی:

نتایج نشان می‌دهد که ضریب کاپای آزمون PCR و بیورزونانس هر کدام به ترتیب با خودشان برابر با ۱ بوده است، که بیانگر تکرارپذیری کامل این روش‌ها است. در حالی که ضریب کاپا بین PCR و بیورزونانس برابر با ۰/۳۳۳ است، ضریب کاپای هر یک از این روش‌ها با استاندارد طلایی به ترتیب ۰/۴۲۰ و ۰/۸۴۵ می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که

هر دو روش از دقت قابل‌قبولی در تشخیص FCoV برخوردارند، اما با توجه به ضریب همبستگی بالاتر بیورزونانس با استاندارد طلایی، این روش از دقت و هماهنگی بیشتری نسبت به PCR برخوردار است و می‌تواند به عنوان روش تشخیصی ترجیحی در نظر گرفته شود.

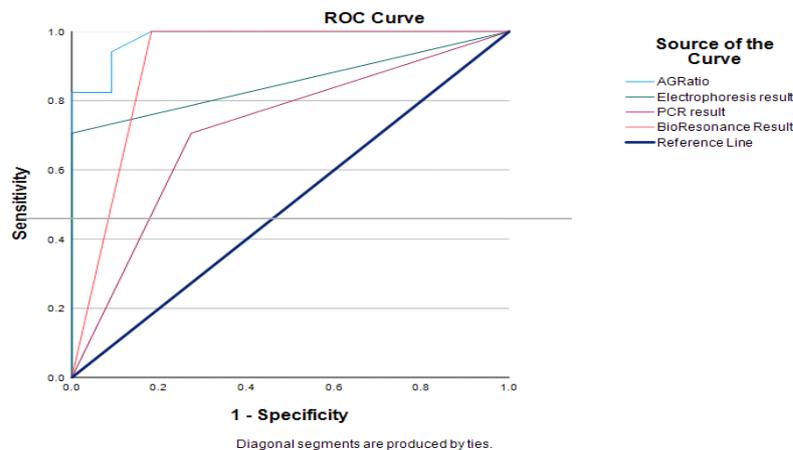
جدول ۲- ضریب کاپا بین هر آزمون با استاندارد طلایی

استاندارد طلایی	PCR	بیورزونانس	ضریب کاپا
۰/۴۲۰	۱/۰	۰/۳۳۳	PCR
۰/۸۴۵	۰/۳۳۳	۱/۰	بیورزونانس

-منحنی ROC و سطح زیر منحنی:

نمودار ROC ارائه شده، مقایسه‌ای از عملکرد دو روش تشخیصی PCR و بیورزونانس را نشان می‌دهد. مساحت زیر منحنی (AUC) هر دو روش معیاری کلیدی برای ارزیابی دقت و حساسیت آنها است. مساحت زیر منحنی هر آزمون با استفاده از منحنی ROC محاسبه شد و سطوح زیر منحنی PCR (AUC) و بیورزونانس به ترتیب ۰/۷۱۷ و ۰/۹۰۹ محاسبه شد. طبق نمودار، روش بیورزونانس

دارای مساحت زیر منحنی بالاتری نسبت به PCR است که نشان‌دهنده دقت بالاتر و کارایی بهتر این روش در تشخیص بیماری است. خط مرجع (Reference Line) نیز نشان‌دهنده عملکرد تصادفی است که هر دو روش به وضوح از آن بهتر عمل کرده‌اند. این نتایج تأکید می‌کند که بیورزونانس نسبت به PCR توانایی بهتری در تمایز نمونه‌های مثبت و منفی دارد (نمودار ۴).



نمودار ۴- منحنی‌های ROC تست‌های مورد مطالعه برای تشخیص FIP

جدول ۳- حساسیت و ویژگی، دقت کلی بالینی و سطوح زیر منحنی آزمون‌های مورد مطالعه

روش	کاپا	ویژگی	حساسیت	صحت کلی	سطح زیر منحنی ROC
PCR	۰/۴۲۰	۷۲/۷	۷۰/۶	۷۱/۴	۰/۷۱۷
بیورزونانس	۰/۸۴۵	۸۱/۸	۱۰۰/۰	۹۲/۹	۰/۹۰۹

بوده و نشان‌دهنده توانایی بهتر در تشخیص موارد منفی است.

صحت کلی (Overall Accuracy): صحت کلی بیورزونانس (۹۲/۹ درصد) بیشتر از PCR (۷۱/۴ درصد) است.

مساحت زیر منحنی AUC: بیورزونانس (۰/۹۰۹) به وضوح بالاتر از PCR (۰/۷۱۷) است؛ این معیار نشان می‌دهد که بیورزونانس عملکرد کلی بهتری در تمایز نمونه‌های مثبت و منفی داراست.

بحث و نتیجه‌گیری

تشخیص بیماری FIP یک چالش در دامپزشکی است. از این رو در مطالعه حاضر، عملکرد دو روش تشخیصی PCR و بیورزونانس در شناسایی ویروس FCoV ارزیابی و با استاندارد

جدول ۳ ویژگی‌های کلیدی تست‌های PCR و بیورزونانس برای تشخیص FCoV را نشان می‌دهد. پارامترهای آماری مختلفی از جمله ضریب کاپا، حساسیت، ویژگی، صحت کلی (Overall) و مساحت زیر منحنی (AUC) ROC برای هر دو روش محاسبه شده است.

ضریب کاپا (Kappa): ضریب کاپای بیورزونانس (۰/۸۴۵) بسیار بالاتر از PCR (۰/۴۲۰) است، که نشان‌دهنده توافق بیشتری با استاندارد طلایی و قابلیت اطمینان بالاتر این روش می‌باشد.

حساسیت (Sensitivity): روش بیورزونانس حساسیت کامل ۱۰۰ درصد دارد، در حالی که حساسیت PCR ۷۰/۶ درصد است، به این معنی که بیورزونانس تمام موارد مثبت واقعی را با دقت تشخیص داده است.

ویژگی (Specificity): ویژگی بیورزونانس ۸۱/۸ درصد است که نسبت به PCR ۷۲/۷ درصد بالاتر

سنتر cDNA و پروتکل‌های چرخه دمایی متفاوت و نیز مراحل مختلف پیشرفت بیماری FIP نسبت داد. از دهه ۱۹۷۰، درمان بیورزونانس MORA در سراسر جهان در زمینه طب مکمل برای اندیکاسیون‌های مختلف استفاده شده است. در سال‌های اخیر، درمان بیورزونانس ثابت کرده است که یک درمان عملی در چندین مورد بیماری است، هم مکمل درمان کلاسیک و هم به طور مستقل استفاده می‌شود (Pihitili et al., 2014). مرور جامع ایوانف و همکاران در سال ۲۰۲۴ تازه‌ترین مقاله در این حوزه است که تأکید می‌کند بیورزونانس، به عنوان شاخه‌ای از پزشکی کوانتومی، در مدیریت بیماری‌های مزمن مانند آلرژی، دیابت، افسردگی، درد مزمن و حتی برخی سرطان‌ها پتانسیل قابل توجهی دارد. این مرور با تحلیل نتایج مطالعات بالینی، تأکید می‌کند علی‌رغم شواهد مثبت اولیه، همچنان مطالعات تصادفی و بزرگ‌مقیاس برای اثبات قطعی اثربخشی و ایمنی این روش لازم است (Ivanov et al., 2024). مورسان و همکاران در سال ۲۰۲۲ گزارش کردند که در بیماران افسردگی عودکننده، بیورزونانس نسبت به SSRI کاهش بیشتری در نمره هامیلتون ایجاد کرد (Muresan et al., 2022) (p < ۰/۰۰۰۱، ۲/۲، در مقابل ۳/۱) در چین بر روی ۶۰ نوزاد مبتلا به اسهال پروتئین شیر نشان دادند که این روش با دقت ۹۵ درصد باعث درمان شد و هیچ عود مجددی پس از یک ماه پیگیری وجود نداشت (Ji et al., 2018).

بادتیوا و همکاران گزارش دادند که بیورزونانس درمانی می‌تواند به عنوان روشی برای اصلاح سندرم تمرین بیش از حد در ورزشکاران با

طلایی مقایسه شد. یافته‌های اصلی شامل ضریب کاپا، حساسیت، ویژگی، دقت کلی و مساحت زیر منحنی (AUC) ROC بود که به طور قابل توجهی برتری روش بیورزونانس را نسبت به PCR نشان داد.

استرانییری و همکاران در سال ۲۰۱۸ گزارش کردند که PCR برای تشخیص FIP دارای ۷۵ درصد حساسیت و ۱۰۰ درصد ویژگی بر روی نمونه‌های خون است. آن‌ها نتیجه گرفتند این تست برای تأیید موارد مثبت FIP بسیار دقیق است، اما نتیجه منفی بیماری را رد نمی‌کند و باید با سایر یافته‌های بالینی ترکیب شود (Stranieri et al., 2018).

فلتن و همکاران در سال ۲۰۱۷ حساسیت، ارزش اخباری منفی، صحت کلی و شیوع RT-PCR real-time در سرم / پلاسما را به ترتیب ۲۳-۰ درصد، ۴۳/۴-۳/۸ درصد، ۳/۸-۴۳/۴ درصد و ۸۲/۴ درصد گزارش کردند. بر این اساس، نویسندگان تأکید کردند که RT-PCR سرمی ابزار مناسبی برای رد یا تأیید قطعی FIP نیست و کارایی محدودی دارد (Felten et al., 2017).

هارتمن و همکاران PPV در سال ۲۰۰۳ برای RT-PCR سرم ۰/۹۰، NPV را ۰/۴۷، ویژگی ۰/۸۸ و حساسیت را ۰/۵۳ گزارش کردند. آن‌ها نتیجه گرفتند که RT-PCR سرمی برای تأیید موارد مثبت مفید است اما نتیجه منفی نمی‌تواند FIP را با اطمینان رد کند (Hartmann et al., 2003). این نتایج با یافته‌های ما (حساسیت ۷۰/۶ و ویژگی ۷۲/۷) متفاوت است. تفاوت بین نتایج PCR ما و سایر نتایج را می‌توان به هدف قرار دادن مناطق ژنومی مختلف FCov، مواد مختلف مورد استفاده در کیت

از درمان هیچ گونه عود مجدد بیماری گزارش نشد (Huihua *et al.*, 2018). راد و جلالی در سال ۲۰۱۷ در ایران توانستند به کمک بیورزونانس الگوی انتشار آمپی‌سیلین را در آب مقطر القا کنند، به نحوی که آب مقطر به کمک امواج الکترومغناطیس ضعیف در نهایت بسیار شبیه به کنترل مثبت (حاوی غلظت‌هایی از آمپی‌سلین) گشت (Rad and Jalali, 2018). هرمان و گالب در سال ۲۰۱۱ مقاله‌ای را در این حوزه منتشر کردند آنها از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۸ به بررسی بیماران دارای ناراحتی‌های آلرژیک، عفونی و درد مقاوم به درمان‌های روتین پرداختند، و به کمک بیورزونانس MORA سعی در درمان این بیماران به تعداد ۹۳۵ کیس نمودند. در نهایت منجر به درمان ۹۵٫۱ درصد از کیس‌های آلرژیک، ۹۲٫۱ درصد از کیس‌های دچار درد و ۹۳٫۶ درصد از کیس‌های عفونی شدند (Herrmann and Galle, 2011). لیو و همکاران در سال ۲۰۱۳ پژوهشی را در درمان ۳۶ کیس (شش الی ۶۳ ساله) مبتلا به رینیت آلرژیک انجام دادند. آنها در دو دوره چهار و هشت هفته درمان به کمک بیورزونانس را انجام دادند و در نهایت دریافتند علایم از جمله آبریزش بینی، $Der p$ -specific IgG4، $specific IgE$ و نسبت $IgG4/IgE$ در درمان طولانی‌تر به طور معناداری کاهش یافته بود (Liu *et al.*, 2013). ساغلام در سال ۲۰۱۷ در ترکیه کیس ریپورتی از درمان دختری مبتلا به سیستم‌نوزیس به کمک بیورزونانس منتشر کرد. دختر بچه‌ای که در شش ماهگی سنگ کلیه دفع کرده و در دو سالگی کلیه چپش عملکرد خود را از دست داده و کوچکتر شده بود. با جراحی‌های متعدد و درمان‌های بی‌شمار به این رویه ادامه داد اما در سن ۱۲ سالگی

افزایش فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک در نظر گرفته شود (Badijeva *et al.*, 2018). آیلین پیهتیلی و همکاران درمان بیورزونانس از نظر بالینی در ترک سیگار مؤثر است و هیچ گونه عوارض جانبی نامطلوبی را نشان نمی‌دهد (Pihtili *et al.*, 2014). مورسان و همکاران گزارش کردند که درمان بیورزونانس می‌تواند در درمان اختلال افسردگی اساسی عودکننده با دوره‌های افسردگی متوسط به طور مستقل یا به عنوان یک درمان مکمل برای داروهای ضد افسردگی مفید باشد (Muresan *et al.*, 2021). یک طرح شبه تجربی توسط کاراکوس و همکاران برای بررسی اینکه آیا بیورزونانس بر علائم بیماران تأثیر دارد یا خیر استفاده شد. این مطالعه شامل ۳۱۱ بیمار از پزشکان و آزمایشگاه‌های هماهنگ کننده زیستی در آتن، تسالونیک، ولوس و زانتی بود. نمونه پژوهش شامل مردان (۱۲۰ نفر، ۳۸/۵۸ درصد) و زنان (۱۹۱ نفر، ۶۱/۴۲ درصد) در محدوده سنی دو الی ۷۶ سال بود. بیماران تحت درمان با علائم عمدتاً بینی و سپس علائم چشمی، تنفسی، پوستی و گوارشی مراجعه کردند. اکثر بیماران (۹۰ درصد) هیچ علامتی را مشاهده نمی‌کنند یا پس از یک دوره ۱۲ ماهه درمان بیورزونانس، علائم خود را بهبود می‌بخشند. آنها به این نتیجه رسیدند که مداخله بیورزونانس تأثیر قابل توجهی بر بهبود علائم دارد (Karakos *et al.*, 2019).

هویهوا در سال ۲۰۱۸ و همکاران در چین به تشخیص و درمان ۶۰ نوزاد شش الی نه ماهه مبتلا به اسهال ناشی از پروتئین شیر پرداختند. که با احتمال ۹۵ درصد موفق به تشخیص بیماری و درمان تمامی مبتلایان شدند. همچنین با پیگیری‌های یک ماهه پس

پرداختند. به نتایج جالبی رسیدند که این مشکلات بطور چشمگیری در گروه تحت درمان با بیورزونانس به نسبت گروه کنترل کاهش پیدا کرد (Nienhaus and Galle, 2006). وانلی و همکارانش در سال ۲۰۱۰ به بررسی سرطان کولورکتال به وسیله بیورزونانس و مقایسه آن با روش‌های کولونوسکوپی و پاتولوژی نمونه‌ها پرداختند. که در نهایت توانستند به کمک بیورزونانس ۱۰۳ مورد بیماری و به کمک ارزیابی‌های پاتولوژی ۱۰۸ مورد را تشخیص دهند که در ۹۱ مورد توافق تشخیص بین این دو روش بوده است که ۱۵/۷ درصد منفی کاذب در روش بیورزونانس گزارش شده است (Vannelli et al., 2010).

متاسفانه در حوزه دامپزشکی تحقیقات زیادی در حیطه علم بیورزونانس انجام نگرفته است. بوبریتسکا و همکاران در سال ۲۰۱۸ در اکراین منتشر گردیده است که به تصحیح اکسیژن رسانی گردش خون و فاکتورهای خونی در ۲۰ سگ سه الی پنج ساله با نژادهای مختلف پرداختند. که در نهایت پس از پنج روز استفاده از متد بیورزونانس ۲۶/۹ درصد افزایش میزان اریتروسیت، ۳۵/۳ درصد میزان هموگلوبین و ۳۰/۷ درصد افزایش در فاکتور هماتوکریت را در گروه آزمایش به نسبت گروه شاهد گزارش دادند (Bobrytska et al., 2018). دکتر حسینی اهر و همکاران در سال ۲۰۲۳ در ایران مقایسه چهار روش مورد استفاده برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری شامل: کشت میکروبی، هیستوپاتولوژی (رنگ آمیزی گیسما و هماتوکسیلین-اِوزین)، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با توالی یابی ژن 16 S RNA و تکنیک بیورزونانس، در

مجبور به پیوند عضو شده بود. سپس با توسل به درمان با بیورزونانس پس از چهار سال کلیه چپ عملکرد طبیعی خود را بازیافت (Sağlam, 2017). کیریانوا و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷ پژوهشی در مورد تاثیر بیورزونانس در درمان ترکیبی مبتلایان به دیابت ملیتوس نوع دوم پرداختند. در نهایت گروه تحت درمان با بیورزونانس در مقایسه با درمان‌های موجود علم پزشکی تمامی فاکتورها از جمله هموگلوبین گلیکوزه، گلوکز خون ناشتا، گلوکز خون بعد از دو ساعت غذا خوردن، گلوکز ادرار و ضریب حجم بدنی پایین‌تری داشتند (Kiryanova et al., 2017). همچنین آنها به بررسی درمان هیپوتیروئیدیسم در ۵۰ بیمار ۲۰ الی ۶۰ ساله به کمک بیورزونانس و مقایسه آن با روش‌های معمول دارویی پرداختند. یافته‌های آنها نشان داد که میزان تیروکسین آزاد در گروه درمان شده با بیورزونانس بسیار بیشتر و همچنین میزان لیپوپروتئین‌های با چگالی کم، کلسترول و تری‌گلیسرید این گروه بطور معناداری کمتر از گروه‌های دیگر بوده است (Kiryanova et al., 2016). اسلاموف و همکاران در سال ۲۰۰۲، مطالعه‌ای بر درمان ۲۰ زن ۱۹ الی ۶۰ ساله مبتلا به آرتریت روماتوئید بوسیله بیورزونانس پرداختند. سرانجام فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی لنفوسیت‌ها را بررسی کردند که پس از درمان ۵۸ درصد فعالیت گلوکوتایون پر اکسیداز، ۱۹ درصد سوپراکسید دیسموتاز نسبت به قبل از درمان کاهش پیدا و گروه‌های تیولی غیر پروتئینی ۶۷ درصد افزایش پیدا کردند (Islamov et al., 2002).

نینهاوس و گاله در سال ۲۰۰۶، به بررسی تاثیر درمان با بیورزونانس بر مشکلات معده‌ای روده‌ای

می‌رسد گسترش و به‌کارگیری روش بیورزونانس در محیط‌های دامپزشکی می‌تواند موجب ارتقای استانداردهای تشخیص و بهبود نتایج درمانی شود. ادامه تحقیقات در این حوزه و بهره‌گیری از فناوری‌های نوین، ظرفیت ارتقای دامپزشکی نوین را بیش از پیش فراهم خواهد ساخت.

مطالعات کمی در مورد اثربخشی بیورزونانس در دامپزشکی وجود دارد. تا جایی که نویسندگان این مقاله اطلاع دارند، این اولین گزارش در مورد استفاده از دانش بیورزونانس در تشخیص FIP است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، کاربرد بیورزونانس در تشخیص FIP را می‌توان موفق ارزیابی کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از آزمایشگاه دامپزشکی سانترال و مرکز بیورزونانس جناب دکتر طاهری برای فراهم‌آوردن دسترسی به تجهیزات و پشتیبانی فنی سپاسگزارند. همچنین از همکاران بالینی که همکاری لازم را در جمع‌آوری داده‌ها فراهم ساختند، قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

مدل موش‌های آلوده تجربی بود. یافته‌های این تحقیق توانایی بیشتر تکنیک بیورزونانس را برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در طول آزمایش نشان داد. روش بیورزونانس، ۶۰ درصد از موش‌های آلوده آزمایشی را در روز اول آزمایش شناسایی کرد. که در میان آزمایش‌های دیگر، تنها PCR، ۲۰ درصد از موش‌های آلوده آزمایشی را در زمان مشابه شناسایی کرد. در روز هفت آزمایش، روش بیورزونانس تمام موش‌های آلوده را شناسایی کرد، در حالی که PCR و کشت و هیستوپاتولوژیک تنها توانستند به ترتیب ۸۰ درصد، ۴۰ درصد و ۲۰ درصد موارد آلوده را شناسایی کنند (Hosseini Ahar *et al.*, 2023).

در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که روش بیورزونانس (SMF) می‌تواند به عنوان ابزاری نوین، سریع و غیرتهاجمی با دقت بالا، جایگاه ویژه‌ای در تشخیص بیماری FIP در دامپزشکی به دست آورد. مقایسه همزمان با روش‌های متداول نشان داده است که این تکنیک قادر است قدرت تشخیصی را بهبود بخشد و فرآیند تصمیم‌گیری بالینی را برای دامپزشکان تسهیل کند. تلفیق این روش با راهکارهای موجود می‌تواند منجر به افزایش دقت و سرعت تشخیص شود و افق‌های جدیدی را در حوزه سلامت حیوانات خانگی و کنترل بیماری‌های ویروسی بگشاید. با توجه به روند رو به رشد شواهد علمی در سال‌های اخیر، به نظر

منابع

- Allahverdiyev, A.M., Bagirova, M., Caliskan, R., Tokman, H.B., Aliyeva, H., Unal, G., *et al.* (2015). Isolation and diagnosis of *Helicobacter pylori* by a new method: Microcapillary culture. *World Journal of Gastroenterology*, 21(9): 2622.

- Badtjeva, V.A., Pavlov, V.I., Khokhlova, M.N. and Pachina, A.V. (2018). The application of bioresonance therapy for the correction of the overtrained athlete syndrome. *Voprosy kurortologii, fizioterapii, i lechebnoi fizicheskoi kultury*, 95(6): 51-57.
- Barbault, A., Costa, F.P., Bottger, B., Munden, R.F., Bomholt, F., Kuster, N., *et al.* (2009). Amplitude-modulated electromagnetic fields for the treatment of cancer: Discovery of tumor-specific frequencies and assessment of a novel therapeutic approach. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 28(1): 51.
- Bobrytska, O.M., Karpovskiy, V.I., Yuhai, K.D. and Vodopianova, L.A. (2018). Correction of the functional state of the blood oxygenation system in dogs by bioresonance method. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 4(3): 20-23.
- Costa, F.P., De Oliveira, A.C., Meirelles, R., Machado, M.C., Zanesco, T., Surjan, R., *et al.* (2011). Treatment of advanced hepatocellular carcinoma with very low levels of amplitude-modulated electromagnetic fields. *British Journal of Cancer*, 105(5): 640-648.
- Decaro, N., Elia, G., Campolo, M., Desario, C., Mari, V., Radogna, A., Colaianni, M.L., *et al.* (2008). Detection of bovine coronavirus using a TaqMan-based real-time RT-PCR assay. *Journal of Virological Methods*, 151(2): 167-171.
- Elliot, R.S. (1993). *Electromagnetic history, theory, and application.*, New York: Institute of Electrical and Electronics, pp: 226
- Felten, S., Leutenegger, C.M., Balzer, H.J., Pantchev, N., Matiasek, K., Wess, G., *et al.* (2017). Sensitivity and specificity of a real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction detecting feline coronavirus mutations in effusion and serum/plasma of cats to diagnose feline infectious peritonitis. *BMC Veterinary Research*, 13(1): 288.
- Hartmann, K., Binder, C., Hirschberger, J., Cole, D., Reinacher, M., Schroo, S., *et al.* (2003). Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(6): 781-790.
- Herrmann, E. and Galle, M. (2011). Retrospective surgery study of the therapeutic effectiveness of MORA bioresonance therapy with conventional therapy resistant patients suffering from allergies, pain and infection diseases. *European Journal of Integrative Medicine*, 3(3): 237-244.
- Hooi, J.K., Lai, W.Y., Ng, W.K., Suen, M.M., Underwood, F.E., Tanyingoh, D., *et al.* (2017). Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*, 153(2): 420-429.
- Hosseini Ahar, S.N., Safi, S. and Nasrollahzadeh Masouleh, M. (2023). Investigating the possibility of using the bioresonance assay for detecting *Helicobacter pylori* infection in experimentally infected C57BL/6 mice model, compared with histopathological examination. *Veterinary Research & Biological Products*, 36(3): 36-43.
- Huihua, J.I., Yuying, L.I., Shaohong, T.A.N., Qian, L.I., Meikun, X.U. and Chaoni, L.U.O. (2018). Effect of biological resonance technique in the detection and treatment of milk protein-induced allergic diarrhea in infants. *Chinese Journal of Primary Medicine and Pharmacy*, 2018: 295-298.
- Islamov, B.I., Balabanova, R.M., Funtikov, V.A., Gotovskii, Y.V. and Meizerov, E. E. (2002). Effect of bioresonance therapy on antioxidant system in lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 134(3): 248-250.
- Ivanov, V.A., Chernykh, V.V., Volodina, E.V. and Filatov, M.V. (2024). Bioresonance therapy as an innovative method of bioquantum medicine: modern achievements and prospects. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 50(2): 223-238.
- Ji, H., Li, Y., Tan, S., Li, Q., Xu, M. and Luo, C. (2018). Effect of biological resonance technique in the detection and treatment of milk protein-induced allergic diarrhea in infants. *Chinese Journal of Primary Medicine and Pharmacy*, 2018: 295-298.

- Karakos, P., Grigorios, T., Theodoros, K. and Theodoros, L. (2019). The effectiveness of bioresonance method on human health. *The Open Epidemiology Journal*, 8(1): 1-8.
- Kiryanova, V.V., Vorokhobina, N.V. and Makhramov, Z.H. (2016). Using bioresonance therapy in treatment of patients with hypothyroidism. *Kazan Medical Journal*, 97(4): 545-550.
- Kiryanova, V.V., Vorokhobina, N.V. and Makhramov, Z.K. (2017). Use of bioresonance therapy in complex treatment of patients with diabetes mellitus type 2. *Kazan Medical Journal*, 98(3): 334-337.
- Li, C., Liu, Q., Kong, F., Guo, D., Zhai, J., Su, M., *et al.* (2019). Circulation and genetic diversity of feline coronavirus type I and II from clinically healthy and FIP-suspected cats in China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(2): 763-775.
- Liu, L.L., Wan, K.S., Cheng, C.F., Tsai, M.H., Wu, Y.L. and Wu, W. F. (2013). Effectiveness of MORA electronic homeopathic copies of remedies for allergic rhinitis: A short-term, randomized, placebo-controlled pilot study. *European Journal of Integrative Medicine*, 5(2): 119-125.
- Luna, J.V., Mayr, W. and Ramírez, J.C. (2015). Amplitude modulation approach for real-time algorithms of ECG-derived respiration. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, 35(1): 53-62.
- Muresan, D., Salcudean, A., Muresan, S. and Popescu, B.O. (2022). Bioresonance, an alternative therapy for mild and moderate depression. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 23(3): 232.
- Muresan, D., Salcudean, A., Sabau, D.C., Bodo, C.R. and Grecu, I.G. (2021). Bioresonance therapy may treat depression. *Journal of Medicine and Life*, 14(2): 238.
- Nienhaus, J. and Galle, M. (2006). Placebo-controlled study of the effects of a standardized MORA bioresonance therapy on functional gastrointestinal complaints. *Forschende Komplementärmedizin*, 13(1): 28-34.
- Pihtili, A., Galle, M., Cuhadaroglu, C., Kilicaslan, Z., Issever, H., Erkan, F., *et al.* (2014). Evidence for the efficacy of a bioresonance method in smoking cessation: A pilot study. *Forschende Komplementärmedizin/Research in Complementary Medicine*, 21(4): 239-245.
- Rad, I. and Jalali, K. (2018). Electronic transmission of antibacterial property into water at extremely low frequency range: A preliminary study. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 24(5): 431-438.
- Sağlam, H. (2017). Response of cystinosis to frequency therapy (bioresonance treatment): A case report. *Journal of US-China Medical Science*, (14): 90-97.
- Simons, F.A., Vennema, H., Rofina, J.E., Pol, J.M., Horzinek, M.C., Rottier, P.J., *et al.* (2005). A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Journal of Virological Methods*, 124(1-2): 111-116.
- Stranieri, A., Giordano, A., Paltrinieri, S., Giudice, C., Cannito, V. and Lauzi, S. (2018). Comparison of the performance of laboratory tests in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 30(3): 459-463.
- Vannelli, A., Battaglia, L., Poiasina, E. and Leo, E. (2010). Diagnosis of rectal cancer by tissue resonance interaction method. *BioMed Central Gastroenterology*, 10(1): 45.
- Zimmerman, J.W., Jimenez, H., Pennison, M.J., Brezovich, I., Morgan, D., Mudry, A., *et al.* (2013). Targeted treatment of cancer with radiofrequency electromagnetic fields amplitude-modulated at tumor-specific frequencies. *Chinese Journal of Cancer*, 32(11): 573.