

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره دو پاییز و زمستان ۱۴۰۱

## مقایسه کیت ایمونوکروماتوگرافی تشخیص با PCR در تشخیص بیماری پاروویروس در سگ

مرتضی رزاقی منش<sup>۱\*</sup>، رضا نقی ها نجف آبادی<sup>۲</sup>، سینا بهاری بهبهانی<sup>۳</sup>، شقایق قناد<sup>۴</sup>، آیدا شریفیان<sup>۴</sup>

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، یاسوج، ایران

۳- دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

۴- دانشجو دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

\*نویسنده مسئول: Morteza\_vet@yahoo.com

---

### چکیده

پاروویروس سگ‌سانان (CPV) یک بیماری ویروسی بسیار مسری است که عمدتاً باعث گاستروانتریت حاد در توله‌سگ‌ها می‌شود. بیشترین شیوع بیماری در سنین ۶ هفته تا ۶ ماه بوده و می‌تواند منجر به مرگ‌ومیر بالا شود؛ بنابراین انتخاب روش تشخیصی دقیق، در مدیریت و درمان مؤثر بیماری اهمیت دارد. این مطالعه با هدف مقایسه دقت روش ایمونوکروماتوگرافی (راپید تست) با PCR در تشخیص CPV انجام شد. تحقیق در پاییز ۱۴۰۰ در کلینیک‌های دامپزشکی شهرستان کرج صورت گرفت. نمونه‌ها از سگ‌های مشکوک دارای علائم بالینی مانند اسهال، استفراغ و بی‌حالی جمع‌آوری شد. ابتدا تست ELISA برای تشخیص CPV2a و CPV2b انجام گرفت، سپس نمونه‌های خون و مدفوع بدون توجه به نتیجه اولیه، با روش PCR بررسی شدند. در نتایج، ۲۸/۳۴ درصد موارد با راپید تست و ۸۵/۴۲ درصد با PCR مثبت بودند که حساسیت بیشتر PCR را نشان می‌دهد. دقت تشخیص واقعی مثبت در راپید تست ۶۷/۱۶ درصد بود. میزان آلودگی در سگ‌های نر ۵۷/۲۸ درصد و در ماده‌ها ۲۹/۱۴ درصد ثبت شد. همچنین آلودگی در سگ‌های نژاد بومی ۲۹/۴ و در نژاددارها ۲۸/۲۷ درصد بود. از بین سگ‌های دارای اسهال و استفراغ همزمان، ۱۴/۵۷ درصد موارد ثبت شد که ۲۹/۳۴ درصد آن‌ها با PCR مثبت گزارش شدند. بر اساس یافته‌ها، روش PCR به دلیل دقت و حساسیت بالاتر، روش مناسب‌تری برای تشخیص CPV و درمان به‌موقع بیماری محسوب می‌شود.

واژگان کلیدی: پاروویروس، الایزا، سگ، PCR

---

## مقدمه

عفونت پاروویروس یکی از کشنده‌ترین بیماری‌های ویروسی برای سگ‌ها می‌باشد، که توله سگ‌ها و سگ‌های جوان درگیری بیشتری با این ویروس دارند. ویروس عامل بیماری پاروویروس سگ، متعلق به دون خانواده پاروویرینه جنس پاروویروس از خانواده پاروویریده می‌باشد. این بیماری که به اسهال خونی معروف است، با درگیرکردن روده‌ها و مغز استخوان باعث اسهال، استفراغ و تضعیف سیستم ایمنی میشود [1,2,3,4,5]. تاکنون دو نوع پاروویروس سگ مورد شناسایی قرار گرفته که به صورت تیپ ۱ و تیپ ۲ پاروویروس سگ (CPV-1 و CPV-2) نام‌گذاری شده اند. عفونت‌های پاروویروسی سگ در اکثر موارد ناشی از پاروویروس تیپ ۲ بوده که تفريق آن از تیپ ۱ به کمک شیوه‌های مولکولی امکان‌پذیر است [6,7]. CPV2 عامل آنتریت هموراژیک حاد و میوکاردیت در سگ‌ها است و یکی از مهم‌ترین ویروس‌های پاتوژن با واگیری بالا (۱۰۰ درصد) و مرگومیر ۱۰ درصدی در بالغین و ۹۱ درصدی در توله‌ها می‌باشد. CPV2 دلیل عمده پاندمیک جهانی در سال ۱۹۷۸ بود و سپس در سگ‌ها اندمیک شد [8].

راه‌های مختلفی برای تشخیص عامل این بیماری در آزمایشگاه‌ها در دسترس می‌باشد که شامل کشت و جداسازی، الایزا، خنثی‌سازی سرم، واکنش زنجیری پلیمرز (PCR) و آزمون‌های HA و HI می‌باشند [9]. هم‌اکنون PCR یک

تکنیک متداول و اغلب ضروری در آزمایشگاه‌های بالینی و آزمایشگاه‌های پژوهشی است و در موارد گوناگونی کاربرد دارد. این کاربردها شامل کلون‌کردن DNA برای توالی‌یابی، فیلوژنی بر پایه DNA، تحلیل کارکرد ژن‌ها، تشخیص بیماری‌های ارثی و ... می‌باشد. اساس فن PCR چرخه‌های حرارتی است. این چرخه‌ها شامل چرخه‌های گرمایی و سرمایی تکراری، ذوب DNA و تکثیر آنزیمی DNA است. محققین با بررسی مقایسه‌ای روش PCR و کیت‌های تشخیصی پاروویروس دریافته‌اند که این روش قدرت تشخیصی بالاتری نسبت به کیت‌های راپیدتست پاروویروس دارد [10,11].

سیدنژاد و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه‌ای با بررسی مقایسه‌ای کیت‌های ایمنوکروماتوگرافی تشخیصی و آزمایش CBC در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری اسهال پاروویروسی در سگ‌ها و همبستگی آن با شدت علائم بالینی بیان نمودند که از این میان تنها ۵۰ سگ در آزمایش کیت سریع تشخیص پاروویروس، حضور ویروس را نشان دادند. از میان ۸۰ سگ ۷۱ قلاده دچار لکوپنی کمتر از ۳/۳ شدید بودند که ۲۱ مورد آن از ۳۰ نمونه‌ای بود که کیت آن‌ها منفی شده بود [12].

سرچاهی و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای درباره شیوع گاستروانتریت پاروویروسی در سگ‌های مبتلا به اسهال، نمونه های خون و مدفوع را بررسی کردند. آزمایش‌های PCV، CBC و شمارش تفریقی سلولی انجام شد و روند درمان سگ‌ها پیگیری گردید. با استفاده از کیت WITNESS

Parvo، از ۲۸ نمونه، ۱۹ مورد مثبت شناسایی شد که ۱۱ مورد از آن‌ها (۵۵٪) لکوپنی شدید داشتند [13].

محمی‌الدینی در سال ۱۳۹۱ بر سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دام‌های کوچک در تهران تحقیقاتی انجام داد و در طی آن، توانایی آزمایش سریع ایمونوکروماتوگرافی در تشخیص آلودگی با CPV با آزمایش PCR نیز مقایسه شد [14].

## روش کار

نمونه‌ها از توله سگ‌های مشکوک به عفونت پاروویروس (CPV) که واکسن دریافت نکرده بودند جمع آوری شدند. توله سگ‌ها بر اساس سن به دو گروه زیر ۶ ماه و بالای ۶ ماه تقسیم و بر اساس نوع اسهال نیز به دو گروه، اسهال خونی و اسهال غیر خونی تقسیم شدند.

در آزمون الیزا برای شناسایی CPV، از کیت تجاری با قابلیت تشخیص CPV2a و CPV2b استفاده شد. ابتدا سگ‌های دارای علائم بالینی مانند اسهال، استفراغ و بی حالی شناسایی شده و نمونه مدفوع با استفاده از سوآپ استریل از ناحیه رکتال جمع آوری شد. نمونه‌ها در محلول هنگس (Hanks balanced salt solution (HBBS با PH7.2) و نسبت ۱ به ۹ ذخیره شدند. سپس هر نمونه در محیط حاوی استرپتومایسین و پنی سیلین قرار داده شد. پس از فیلتراسیون، نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و بخش رویی برای ادامه آزمایش جمع آوری گردید.

آزمون الیزا در پلیت‌های ۹۶ خانه پلی استایرنی انجام شد. در هر چاهک، نمونه‌های سرمی انکوبه شدند و آنتی بادی‌های اولیه به آنتی‌ژن هدف متصل شدند. سپس چاهک‌ها با بافر شست و شو داده شده و آنتی بادی‌های ثانویه نشان‌دار با آنزیم‌هایی نظیر پراکسیداز یا آلکالین فسفاتاز اضافه گردیدند. پس از مرحله انکوباسیون، سوبستراهای مناسب افزوده شد تا واکنش آنزیمی رخ داده و رنگ ایجاد شود. شدت رنگ در طول موج مشخصی به وسیله دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد و میزان جذب نوری به عنوان شاخصی از حضور CPV در نمونه‌ها ثبت گردید.

نمونه‌ها برای آزمون PCR در دمای منفی هشتاد درجه جمع‌آوری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج تجاری و مطابق دستورالعمل سازنده انجام شد. برای تکثیر ژن CPV، پرایمرهای اختصاصی از پایگاه داده NCBI و مقالات علمی طراحی و سفارش داده شد:

Forward primer:

5'-GAAGAGTGGTTGTAAATAATA-3'

Reverse primer:

5'-CCTATATCACCAAAGTTAGTAG-3'

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ترکیبات زیر انجام شد:

۱۰ میکرولیتر مستر میکس، ۵ میکرولیتر آب مقطر، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۳ میکرولیتر DNA الگو واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر با شرایط دمایی و زمانی زیر انجام شد:

۹- نمونه برای آزمون ساخت cDNA در دمای ۴۰ نگهداری شد.

#### ب) ساخت cDNA

برای سنتز cDNA، ۵ میکرولیتر از RNA استخراج شده با ترکیبات زیر مخلوط شد:

۱ میکرولیتر ریبولوک، ۴ میکرولیتر بافر، ۱ میکرولیتر dNTP واکنش در دمای ۲۵ درجه انجام و سپس ۱ میکرولیتر آنزیم RT اضافه شد.

برنامه زمانی و دمایی زیر در دستگاه ترموسایکلر برای سنتز cDNA اجرا شد:

| مدت زمان | دما     |
|----------|---------|
| ۱۰ دقیقه | ۲۵ درجه |
| ۱ ساعت   | ۴۲ درجه |
| ۱۰ دقیقه | ۷۰ درجه |

کیفیت cDNA با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. نمونه‌های cDNA برای آزمایش‌های بعدی در دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شدند.

اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش آماری T test و محاسبه میانگین و انحراف معیار مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

#### نتایج

جدول شماره ۱ بیانگر آن است که با استفاده از روش راپید تست ۲۸/۳۴ درصد نمونه‌ها و با استفاده از روش PCR، ۸۵/۴۲ درصد از نمونه‌ها به ویروس پارس و ویروس مثبت بودند؛

| زمان     | دما     |                             |                |
|----------|---------|-----------------------------|----------------|
| ۹۰ ثانیه | ۹۴ درجه | دنا تراسیون اولیه           |                |
| ۳۰ ثانیه | ۹۴ درجه | دنا تراسیون                 | ۳۰ چرخه<br>PCR |
| ۲ دقیقه  | ۵۵ درجه | اتصال پرایمرها به توالی هدف |                |
| ۲ دقیقه  | ۷۵ درجه | Extension                   |                |
| ۵ دقیقه  | ۷۲ درجه | گسترش نهایی                 |                |

کیفیت محصولات PCR پس از الکتروفورز روی ژل آگار ۱/۲ درصد و رنگ آمیزی safe dye توسط دستگاه Transilluminator بررسی شد.

#### استخراج RNA و ساخت cDNA

برای استخراج RNA کل، از کیت تجاری کیاژن استفاده شد. الف) مراحل استخراج:

۱- ۱۴۰ میکرولیتر از نمونه وارد میکروتیوب ۱/۵ میکرولیتری شد.

۲- نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۴ با تریزول مخلوط و لیز شدند.

۳- ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم افزوده شد.

۴- ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپیل الکل افزوده شد.

۵- به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ RPM سانتریفیوژ شد.

۶- رسوب با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتیل الکل ۱۰۰ درصد شسته شد.

۷- نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد تا خشک شوند.

۸- ۲۰ میکرولیتر آب DEPS اضافه شد.

سگ‌های ماده نیز ۲۹/۱۴ درصد بود؛ بنابراین آلودگی در سگ‌های نر بسیار بیشتر از سگ‌های ماده بود.

**جدول ۴- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس در دو جنس نر و ماده به روش قطعی PCR**

| کیس مورد بررسی                   | تعداد(درصد) |
|----------------------------------|-------------|
| سگ جنس نر                        | ۱۹ (۲۸/۵۴)  |
| سگ جنس ماده                      | ۱۶ (۷۱/۴۵)  |
| نتیجه مثبت جنس نر در آزمون PCR   | ۱۰ (۵۷/۲۸)  |
| نتیجه منفی جنس نر در آزمون PCR   | ۹ (۷۱/۲۵)   |
| نتیجه مثبت جنس ماده در آزمون PCR | ۵ (۲۹/۱۴)   |
| نتیجه منفی جنس ماده در آزمون PCR | ۱۱ (۴۳/۳۱)  |

جدول شماره ۵ بیانگر آن است که با استفاده از روش راپید تست آلودگی در ۸۶/۲۲ درصد سگ‌های نر مثبت شد، آلودگی در سگ‌های ماده نیز ۴۳/۳۱ درصد بود؛ بنابراین آلودگی در سگ‌های نر بیشتر از سگ‌های ماده بود. همچنین نتیجه مشکوک جنس نر با راپید تست ۷۱/۵ درصد و نتیجه مشکوک جنس ماده با راپید تست ۸۶/۲ درصد بود.

**جدول ۵- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس در دو جنس نر و ماده به روش راپید تست**

| کیس مورد بررسی                    | تعداد(درصد) |
|-----------------------------------|-------------|
| نتیجه مثبت جنس نر با راپید تست    | ۸ (۸۶/۲۲)   |
| نتیجه منفی جنس نر با راپید تست    | ۹ (۷۱/۲۵)   |
| نتیجه مثبت جنس ماده با راپید تست  | ۴ (۴۳/۱۱)   |
| نتیجه منفی جنس ماده با راپید تست  | ۱۱ (۴۳/۳۱)  |
| نتیجه مشکوک جنس ماده با راپید تست | ۱ (۸۶/۲)    |
| نتیجه مشکوک جنس نر با راپید تست   | ۲ (۷۱/۵)    |

بنابراین روش PCR دقت بسیار بالاتری نسبت به روش راپید تست دارد.

**جدول ۱- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس به دو روش تشخیصی راپید تست و PCR**

| نتیجه مثبت(تعداد) | نتیجه منفی(تعداد) |           |
|-------------------|-------------------|-----------|
| ۱۲                | ۲۰                | راپید تست |
| ۲۸/۳۴%            | ۱۴/۵۷%            |           |
| ۱۵                | ۲۰                | آزمون PCR |
| ۸۵/۴۲%            | ۱۴/۵۷%            |           |

جدول شماره ۲ بیانگر آن است که ۶۷/۶۶ درصد نمونه‌ها با روش راپید تست مثبت واقعی گزارش شدند.

**جدول ۲- تعداد و درصد سگ‌های مشکوک به آلودگی با ویروس به روش تشخیصی راپید تست**

| تعداد نتیجه مشکوک با راپید تست | مثبت واقعی | ۲          |
|--------------------------------|------------|------------|
| ۳ (۵۷/۸%)                      | درصد       | ۶۷/۶۶ درصد |
|                                | منفی واقعی | ۱          |
|                                | درصد       | ۳۳/۳۳ درصد |

جدول شماره ۳ مقایسه تعداد و درصد مثبت و منفی کاذب سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس به دست آمده به روش راپید تست در قیاس با روش اصلی PCR را نشان می‌دهد.

**جدول ۳- مقایسه تعداد مثبت و منفی کاذب**

| تعداد نتیجه مثبت کاذب | تعداد نتیجه منفی کاذب |
|-----------------------|-----------------------|
| ۰ (۰%)                | ۱ (۸۶/۲%)             |

جدول شماره ۴ بیانگر آن است که با استفاده از روش PCR آلودگی در ۵۷/۲۸ درصد سگ‌های نر مثبت شد، آلودگی در

## بحث

تینکی و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای با بررسی مقایسه‌ای کاربرد تست نوار ایمونوکروماتوگرافی سریع در تشخیص عفونت پاروویروس سگ در مقایسه با واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بیان نمودند که در مجموع ۲۲ نمونه (۴۴٪) با روش PCR مثبت تشخیص داده شد. [11]

نتایج مطالعه فوق از نظر دقت تشخیص روش PCR با یافته‌های به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر همخوانی دارد. زیرا در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که با استفاده از روش راپید تست ۲۸/۳۴ درصد نمونه‌ها و با استفاده از روش PCR، ۴۲/۸۵ درصد از نمونه‌ها به ویروس پارو ویروس مثبت بودند؛ بنابراین روش PCR دقت بسیار بالاتری نسبت به روش رپید تست دارد.

اشمیتز و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای با بررسی مقایسه‌ای سه تست تجاری سریع تشخیص آنتی‌ژن پاروویروس سگ با میکروسکوپ الکترونی (راپید تست) و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) بیان نمودند که دقت روش PCR به صورت قابل توجهی بیشتر از تست‌های راپید تست می‌باشد [10]. که با یافته‌های به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر از نظر دقت و اهمیت تشخیصی روش PCR کاملاً همخوانی دارد.

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بیانگر آن بود که شیوع آلودگی به پاروویروس در نژاد بومی با آزمون PCR، ۳۴/۲۹ درصد و در سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR، ۲۷/۲۸ درصد

جدول شماره ۶ بیانگر آن است که نتیجه مثبت نژاد بومی با آزمون PCR ۲۹/۳۴ درصد و نتیجه مثبت سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR، ۲۸/۲۷ درصد بود.

**جدول ۶- مقایسه اثر نژاد روی تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس به روش قطعی PCR**

| کیس مورد بررسی                          | تعداد(درصد) |
|-----------------------------------------|-------------|
| کل سگ‌های نژاد بومی                     | ۱۷ (۵۷/۴۸)  |
| کل سگ‌های نژاد دار                      | ۱۸ (۴۳/۵۱)  |
| نتیجه مثبت نژاد بومی با آزمون PCR       | ۱۲ (۲۹/۳۴)  |
| نتیجه منفی نژاد بومی با آزمون PCR       | ۵ (۲۹/۱۴)   |
| نتیجه مثبت سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR | ۳ (۲۸/۲۷)   |
| نتیجه منفی سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR | ۱۵ (۸۶/۴۲)  |

جدول شماره ۷ بیانگر آن است که تعداد کل سگ‌هایی با اسهال و استفراغ هم‌زمان ۱۴/۵۷ درصد بود. همچنین نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌هایی با اسهال و استفراغ ۲۹/۳۴ درصد بود.

**جدول ۷- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس با نشانه‌های درمانگاهی (اسهال و استفراغ) به روش قطعی PCR**

| کیس مورد بررسی                                               | تعداد(درصد) |
|--------------------------------------------------------------|-------------|
| کل سگ‌های با اسهال و استفراغ هم‌زمان                         | ۲۰ (۱۴/۵۷)  |
| کل سگ‌های بدون اسهال و استفراغ هم‌زمان                       | ۱۵ (۸۶/۴۲)  |
| نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌های با اسهال و استفراغ هم‌زمان | ۱۲ (۲۹/۳۴)  |
| نتیجه منفی با آزمون PCR در سگ‌های با اسهال و استفراغ هم‌زمان | ۳ (۵۷/۸)    |

عنوان یک روش تشخیصی دقیق برای شناسایی پارووایروس و بهبود فرآیند درمان در سگ‌های مشکوک توصیه می‌شود.

بود. سم و همکاران (۲۰۱۶) آلودگی به پارووایروس سگ‌ها در مناطق مختلف بنگلادش را در سگ‌های خانگی ۲۲ درصد و ۳۰ درصد گزارش نمودند [15]. در مطالعه دیگری ناهات و همکاران (۲۰۱۵)، ۳۲ درصد عفونت پارووایروس را در سگ‌های ولگرد در سال ۲۰۱۵ مشاهده نمودند [16]. تفاوت بین مطالعات مختلف ممکن است ناشی از تنوع جغرافیایی، میزان دسترسی به منابع، وضعیت واکسیناسیون، تفاوت در دقت روش‌های تشخیصی و سایر عوامل مرتبط با مدیریت و شرایط محیطی باشد.

### نتیجه نهایی

این مطالعه نشان داد که روش PCR در مقایسه با راپیدتست، دقت بسیار بالاتری در تشخیص پارووایروس سگ‌ها دارد. بر اساس یافته‌ها، ۸۵/۴۲ درصد از نمونه‌ها با روش PCR و ۲۸/۳۴ درصد از نمونه‌ها با روش راپیدتست مثبت شدند. همچنین میزان مثبت واقعی در راپیدتست ۶۷/۶۶ درصد بود که نشان دهنده احتمال بالای نتایج کاذب در این روش است. بررسی فراوانی آلودگی در سگ‌های نر و ماده نشان داد که میزان آلودگی در سگ‌های نر بیشتر از سگ‌های ماده است. از نظر نژاد، میزان آلودگی در سگ‌های بومی اندکی بالاتر از سگ‌های نژاددار گزارش شد.

همچنین ۱۴/۵۷ درصد از سگ‌ها علائم همزمان اسهال و استفراغ داشتند که از این میان، ۳۴/۲۹ درصد، با روش PCR مثبت شدند. با توجه به این نتایج، استفاده از روش PCR به

## منابع

1. Nandi, S., Kumar, M., 2010. Canine Parvovirus: Current Perspective. *Indian Journal of Virology*. 21(1), 31–44.
2. Yen Chen, A., Qiu, J., 2010. Parvovirus infection-induced cell death and cell cycle arrest. *Future Virology*. 5(6), 731-743.
3. Tabor, B., 2011. Canine parvovirus. *Veterinary Technology*. 1-1.
4. Macri A, Crane JS. Parvoviruses. [Updated 2022 May 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482245/>.
5. Alam S, Chowdhury QMMK, Roy S, Chowdhury MSR, Hasan M, Mamun MA, Uddin MB, Hossain MM, Rahman MM, Rahman MM. Molecular detection and phylogenetic analysis of Canine Parvovirus (CPV) in diarrhoeic pet dogs in Bangladesh. *Vet Anim Sci*. 2021 Dec 4;14:100224.
6. Al-Tayib O. (2014). Simple test kit for rapid detection of the presence of canine parvovirus antigen from dog's feces. *Sci. J. Vet. Adv*;3(4):57–64.
7. Basheer M. (2011). Detection of antigenic variants of canine parvovirus by polymerase chain reaction and sequencing. Mannuthy, Kerala: M.V.Sc. Thesis. College of Veterinary and Animal Sciences;. p. 129.
8. Huang XH, Wang P, Liu LK, Ma L, Fang XF, Zhao B, et al. Epidemiological investigation of canine parvovirus disease in Nanning City. *Guangxi J Anim Husbandry Vet Med*. (2018) 34:76–9.
9. Mehta S.A, Mavadiya S.V, Vagh A.A. (2020). Comparative Efficacy of Diagnostic Methodology for Detection of Canine Parvo Virus Faecal Antigen, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9 (5): 743-781.
10. Cuong, T., Catherine, B., Thomas, M., Tom, R. & Robert P. (2015). Sensitivity and Specificity of Rapide - Parvovirus Ag Test Kit. Retrieved from [www.modernveterinarytherapeutics.com/cpv%20ag%20-%20report.pdf](http://www.modernveterinarytherapeutics.com/cpv%20ag%20-%20report.pdf). 1-1.
11. Stann, S.E., DiGiacomo, R.F., Giddens, W.E., Evermann, J.F., 1984. Clinical and pathological features of parvoviral diarrhoea in dogs. *The Journal of America Veterinary Medicine Association*. 185, 651–654.
12. CBC سید نژاد س.ف، آل داوود ج، فتحی پور و. ۱۳۹۱. بررسی مقایسه‌ای کیت‌های ایمنوکروماتوگرافی تشخیصی و آزمایش در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری اسهال پاروویروسی در سگ‌ها و همبستگی آن با شدت علائم بالینی، *مجله تحقیقات دامپزشکی*، ۴ (۱): ۹۶-۹۶.

13. در سگ‌های (CPV) مصلی نژاد ب، قربان‌پور نجف آبادی م، آویزه ر، رونق ع. ۱۳۸۷. بررسی میزان شیوع پاروویروس اسهالی، ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اهواز، آرشیو رازی، ۶۳ (۲): ۴۱-۴۶.
14. محی‌الدین ش. ۱۳۹۱. بررسی علایم بالینی و آزمایشگاهی و پیش‌آگهی سگ‌های مبتلا به پاروویروس بر اساس نوع سویه‌های آلوده‌کننده در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دام‌های کوچک، پایان‌نامه دکتری تخصصی بیماری‌های داخلی دام کوچک، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، ۵۵۸۶۴.
15. Wan YL. Investigation of canine parvovirus infection in pet hospital of Tianjin. J Tradit Chin Vet Med. (2011) 13:48-52. 10.13823/j.cnki.jtcvm.2011.04.016.
16. Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA, Rasmussen RP. Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. 1997. Biotechniques. 2013 Jun;54(6):314-20.

## Comparison of immunochromatographic Kit and PCR for the Diagnosis of Canine Parvovirus

Morteza Razaghi Manesh<sup>1\*</sup>, Reza Naghiha Najaf Abadi<sup>2</sup>, Sina Bahari Behbahani<sup>3</sup>, Shaqayeq Qannad<sup>4</sup>,

Aida Shaifain<sup>4</sup>

1- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran

2- Associate Professor, department of Animal Science, College of Agriculture, Yasouj University, Yasuj, Iran

3- Graduate of Doctor of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Iran

4-Doctor of Veterinary Medicine Student, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Iran

\*Corresponding author: Morteza\_vet@yahoo.com

---

### Abstract

Canine parvovirus (CPV) is a highly contagious viral infection that primarily causes acute gastroenteritis in puppies, with the highest incidence observed in dogs aged 6 weeks to 6 months. Due to its high mortality rate, selecting an accurate diagnostic method is essential for effective disease management. This study aimed to compare the diagnostic accuracy of the immunochromatographic rapid test and polymerase chain reaction (PCR) for detecting CPV. The study was conducted in the fall of 2021 in veterinary clinics in Karaj, Iran. Samples were collected from suspected cases presenting with clinical signs such as diarrhea, vomiting, and lethargy. Initially, an ELISA-based rapid test was used to detect CPV2a and CPV2b. Regardless of the rapid test results, blood and fecal samples were collected and examined by PCR. Results showed that 34.28% of samples were positive using the rapid test, while 42.85% tested positive by PCR, indicating the higher sensitivity of PCR. The true positive detection rate of the rapid test was 67.16%. Infection was more prevalent in male dogs (57.28%) compared to females (29.14%). Among mixed-breed dogs, the infection rate was 29.4%, and among purebred dogs, it was 28.27%. In dogs presenting with both diarrhea and vomiting, 14.57% of cases were recorded, with 29.34% testing positive via PCR. Based on these findings, PCR is recommended as a more accurate and sensitive method for diagnosing CPV in suspected cases, enabling timely and effective treatment.

---

**Keywords:** Parvovirus, ELISA, Dog, PCR