نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی
دوره نوزدهم، شماره اول،بهار و تابستان ۱۴۰۲،
پیاپی ۴۶ :۳۴-۲۶

JVM Journal of Veterinary Microbiology

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی *دیروفیلاریا ایمیتیس* در گربه های مراجعه کننده به کلینیک های اصفهان به روش های مولکولی و نات

سید رضا حسینی[1*]، علی اصغر شیرازی[2]

۱- دانشیار گروه آموزشی پاتوبیولوژی، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- دانش آموخته رشته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی،واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی ، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۰

چکیده

بیماری کرم قلب (دیروفیلاریازیس) به وسیله *دیروفیلاریا ایمیتیس* ایجاد می شود که به طور اولیه سگ سانان و گربه ها را مبتلا می سازد و میزبان اصلی آن سگ، گربه، روباه و سگ سانان وحشی و انسان است. با توجه به اهمیت گربه به عنوان میزبان و انتقال احتمالی به انسان بررسی آن ضروری به نظر می رسید. در این مطالعه از ورید وداج ۳۸۶ گربه مراجعه کننده به کلینک های اصفهان خونگیری انجام گردید. بررسی نتایج این مطالعه نشان داد فراوانی *دیروفیلاریا ایمیتیس* در گربه های مراجعه کننده به کلینیک های اصفهان به روش نات و مولکولی در مطالعه به ترتیب برابر با۱/۰۳ و ۳/۱۰درصد بود که بیشتر نمونه های مثبت در گربه های بالای سه سال بودند. نرها سه برابر ماده ها مبتلا بودند همچنین در گربه هایی که درمان ضد انگلی منظمی دریافت نکرده بودند ۲ برابر میزان شیوع بیشتر بود، اما با توجه به میزان شیوع پایین این انگل تفاوت معنادار آماری در هیچ کدام از این پارامترها مشاهده نگردید. با توجه به اینکه تشخیص بالینی این بیماری دشوار است و علائم بالینی در گربه ها نسبت به سگ ها کمتر بروز میکند و از طرفی پروتکل های درمانی نسبتا سخت و لزوم دقت در درمان بیماری دیروفیلاریازیس همراه با سایر انگل های کرمی پیشگیری، کنترل و درمان مناسب برای این انگل بدلیل خطر آن برای سلامت عمومی ضروریست.

واژه های کلیدی: بیماری کرم قلب، *دیروفیلاریا ایمیتیس*، گربه، اصفهان، روش نات، روش مولکولی

*نویسنده مسئول : سید رضا حسینی

آدرس: گروه دامپزشکی ،واحد شهر کرد، دانشگاه ازاد اسلامی ،شهرکرد ،ایران

پست الکترونیکی : dr.s.reza@gmail.com

مقدمه

بیماری کرم قلب (دیروفیلاریازیس) به وسیله *دیروفیلاریا ایمی تیس* ایجاد می شود که به طور اولیه سگ سانان و گربه ها را مبتلا می سازد و میزبان اصلی آن سگ، گربه، روباه و سگ سانان وحشی بوده و گاها انسان ها نیز می تواند به صورت تصادفی به انگل مبتلا می شود. بیماری کرم قلب سگ و گربه یا دیروفیلاریازیس بیماری متازئونوزی است که سیر تکاملی غیر مستقیم دارد و به وسیله گونه‌های به خصوصی از پشه ها شامل آئدس ، کولکس و آنوفلس منتقل می‌شود(Simón. 2012). مخزن آن غالبا سگ سانان بوده و بیماری انتشار جهانی دارد (Hou. 2011). سیر تکاملی انگل غیر مستقیم می باشد و جنس ماده این کرم، میکروفیلرهای خود را در جریان خون آزاد می کند و میکروفیلرها توسط گردش خون در سراسر بدن پخش می شوند. پشه ها با خونخواری از عروق سطحی بدن سگ های آلوده، میکروفیلرها را وارد بدن خود می کنند و در بدن پشه، میکروفیلرها با طی مراحل تکاملی تبدیل به لارو عفونی می‌شوند(Taylor, M.A., Coop, R.L. &Wall, R.L., 2016, Tarello,W. 2011) علائم بالینی در گربه ها نسبت به سگ ها کمتر بروز می کند و به صورت کلی بسیار متغیراست که از مرحله بدون علامت تا علایم خفیف مانند لاغری و کاهش وزن تدریجی، سرفه، کم تحرکی و خستگی زودرس ضمن فعالیت، شروع و به علایم شدید مانند دیس پنه، افزایش درجه حرارت، آسیب غشاءهای مخاطی (سیانوز) ، کم خونی، عوارض قلبی و مرگ ختم را در بردارد. در ایران گزارش‌های مختلفی از این انگل در گربه از جمله جنبه های بالینی دیروفیلاریازیس، اولین گزارش بالینی بیماری، روش های مختلف تشخیص بیماری در سگ، انسان و گربه علائم بالینی و درمان موجود می‌باشد(Litster, A.L. & Atwell, R.B. 2008، Noack. 2021).

درمان در مبتلایان طولانی مدت و زمان بر است و ماه ها به طول می انجامد از طرفی پروتکل های درمانی پیچیده است و این بیماری کیفیت زندگی حیوانات را کاهش میدهد، در بسیاری از موارد با انجام اکوکاردیوگرافی قلبی به عنوان روش تشخیصی رایج تشخیص در حیوانات مبتلا تشخیص صورت نمیگیرد(Litster, A.L. & Atwell, R.B., 2008، Noack. 2021).

در سال های اخیر مطالعات گوناگونی در مورد این انگل در داخل و خارج از کشورمان صورت گرفته است و با عنایت به این که این مطالعات در کشور ما به صورت محدود انجام شده است و در مورد گربه در منطقه اصفهان مطالعه ای موجود نمی باشد و با توجه به اهمیت گربه ها به عنوان میزبان و انتقال احتمالی به انسان بررسی آن ضروری به نظر می رسد و همچنین بررسی اطلاعات حاصل از انجام این مطالعه مانند سن حیوانات آلوده، جنسیت، میزان سلامتی و نحوه‌ی نگه داری باعث خواهد شد که علاوه بر بررسی ارتباط موجود بین موارد ذکر شده و ابتلا به این کرم بتوان برخورد منطقی و صحیحی با این انگل و کاهش موارد ابتلا به آن داشت.

مواد و روش ها

شهرستان اصفهان در بخش مرکزی کشور قرار دارد و از نظر جمعیت سومین کلانشهر پرجمعیت ایران است. این شهرستان از مراکز گردشگری، فرهنگی و اقتصادی کشور می¬باشد.

این مطالعه در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۹ با اخذ ۳ سی سی خون از وردی وداج ۳۸۶ گربه های مراجعه کننده به کلینیک های سطح شهر اصفهان(دارای صاحب و

حمایتی)انجام گردید. نمونه گیری به روش خوشه ای تصادفی ساده صورت پذیرفت و اطلاعات هر حیوان شامل سن، جنس، نژاد و وضعیت مالکیت در دفترچه مجزا یادداشت گردید و نمونه ها جهت انجام تست های رنگ آمیزی و مولکولی به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی آزاد اسلامی شهرکرد ارسال شد.

در آزمایشگاه ابتدا به روش نات حضور یا عدم حضور میکروفیلر بررسی گردید، روش نات مورد استفاده به شرح زیر می باشد:

ابتدا ۱۰ میلی لیترفرمالین ۲٪ به همراه ۱ میلی لیتر خون حاوی ماده ضدانعقاد مخلوط شده و با سرعت ۱۰۰۰ تا ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد پس از سانتریفوز، مایع رویی دور ریخته شده و یک قطره رنگ نیومتیلن بلو به رسوب اضافه و مخلوط گردید و در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰ جهت حضور یا عدم حضور میکروفیلر بررسی گردید.

سپس نمونه ها مورد آزمایش مولکولی قرار گرفتند که شرح آن در ذیل بیان شده است:

مرحله اول: استخراج DNA از نمونه خون

استخراج DNA از نمونه های جمع آوری شده با استفاده از DNA Extraction Kit(Cinagene,Iran) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام پذیرفت.

مرحله دوم: ارزیابی DNA استخراج شده

بررسی حضور *دیروفیلاریا ایمیتیس* در DNA های استخراج شده به وسیله ی پرایمر طراحی شده توسط Casiraghi و همکاران در سال ۲۰۰۶ صورت پذیرفت که توالی پلیمری آن بدین صورت جدول شماره۱ میباشد(Casiraghi, M., Bazzocchi, C., Mortarino, M., Ottina, E. and Genchi, C. 2006).

جدول۱- توالی نوکلوئیدی طراحی شده توسط Casiraghi و همکاران در سال ۲۰۰۶

توالی نوکلوئیدی

F GTTCCAGAATAATCGGCTA-3′-′۵

ATTGACGGATG(AG)TTTGTACC-3′R-′۵

مرحله سوم: واکنش نهایی PCR

واکنش نهایی PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA هدف، ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 10x، 1 میکرومول از هر پرایمر رفت و برگشت، ۲۰۰ میکرو مول dNTPS، 2 میلی مول MgCl2 و ۱ واحد آنزیم DNA پلی مراز Taq(فرمنتاس ــ لیتوانی) انجام شد. برنامه دمایی دستگاه PCR تحت شرایط زیر انجام گرفت: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل حرارتی شامل دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه، درنهایت محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز گردید و در پایان با دستگاه UV transilluminator مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی باندهای حاصل از محصول PCR از DNA ladder به اندازه ۱۰۰ جفت باز و ۱ کیلوباز و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

تجزیه وتحلیل آماری

اطلاعات مرتبط با هر گربه ابتدا به وسیله نرم افزارExcel 2010 جمع آوری و طبقه بندی شد و سپس با نرم افزارSPSS با شماره ویرایش ۲۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. ابتدا فراوانی آلودگی در گروه های مختلف محاسبه شد، سپس با استفاده از آزمون مربع کای مقایسه آماری بین فراوانی آلودگی در گروه های مختلف سنی، جنسی، نژادی و فعالیت

بدنی و نوع نگهداری انجام پذیرفت و نتایج حاصل از روش مولکولی با نتایج حاصل از روش رنگ آمیزی مقایسه گردید.

نتایج

در این مطالعه از ۳۸۶ نمونه از گربه مجموعا ۱۲ نمونه در روش مولکولی و۴ نمونه در روش نات مثبت بودند که ۴ مورد در هر دو تست مثبت بودند، که ۸ مورد صاحبدار(۸مورد در روش مولکولی و ۲مورد در نات) و ۴مورد بی صاحب بودند(۴مورد در روش مولکولی و ۲ مورد نات)، ۹ نر مورد(۹ مورد مولکولی و ۲ مورد نات) و ماده ۳ مورد(۳ مورد مولکولی و ۱مورد نات)، در رده سنی بالای ۵ سال ۸ مورد(۸ مورد مولکولی و ۴ مورد نات) و در رده سنی ۳-۵ سال ۴مورد(هر ۴ مورد در روش مولکولی) همچنین در رده سنی زیر یکسال و ۱-۳ سال هیچ مورد مثبتی وجود نداشت، در مورد مصرف و عدم مصرف دارو های ضدانگل در اکثر گربه های حمایتی و بدون سرپرست سابقه ی در دسترس نبود اما در کیس های دارای صاحب ۴ مورد(۴ مورد در روش مولکولی و ۲ مورد در روش نات) به صورت منظم از قرص های ضدانگل استفاده کرده بودند و ۸مورد(۸مورد در روش مولکولی و ۲مورد در روش نات) داروی ضدانگل دریافت نکرده بودند یا به صورت منظم درمان ضد انگلی در آن ها انجام نشده بود، نتایج حاصله نشان دهنده ی حساسیت بالای و ویژگی مناسب تست PCR نسبت به روش رنگ آمیزی و لزوم استفاده از این روش در مطالعات آتی را نشان می دهد.

جدول (۱)- بررسی میزان فراوانی *دیروفیلاریا ایمیتیس* با روش نات و مولکولی در گربه های نر و ماده

بررسی با روش نات و مولکولی در گربه	تعداد نمونه	موارد مثبت در روش نات(درصد آلودگی)	موارد مثبت در روش مولکولی(درصد آلودگی)
ماده	۱۹۰	۱(۰/۵۲٪)	۳(۱/۵۷٪)
نر	۱۹۶	۳(۱/۵۳٪)	۹(۴/۵۹٪)
مجموع	۳۸۶	۴(۱/۰۳٪)	۱۲(۳/۱۰٪)

جدول(۲)- بررسی میزان فراوانی *دیروفیلاریا ایمیتیس* با روش نات و مولکولی در گربه ها در رده های سنی مختلف

بررسی با روش نات و مولکولی در گربه	تعداد نمونه	موارد مثبت	درصد آلودگی
زیر۱ سال	۴۵	۰	۰
۱-۳ سال	۷۸	۰	۰
۳-۵ سال	۱۱۵	۰	۴(۳/۴۷٪)
بالای۵ سال	۱۴۸	۴(۲/۷٪)	۸(۵/۴۰٪)
مجموع	۳۸۶	۴(٪۱/۰۳)	۱۲(۳/۱۰٪)

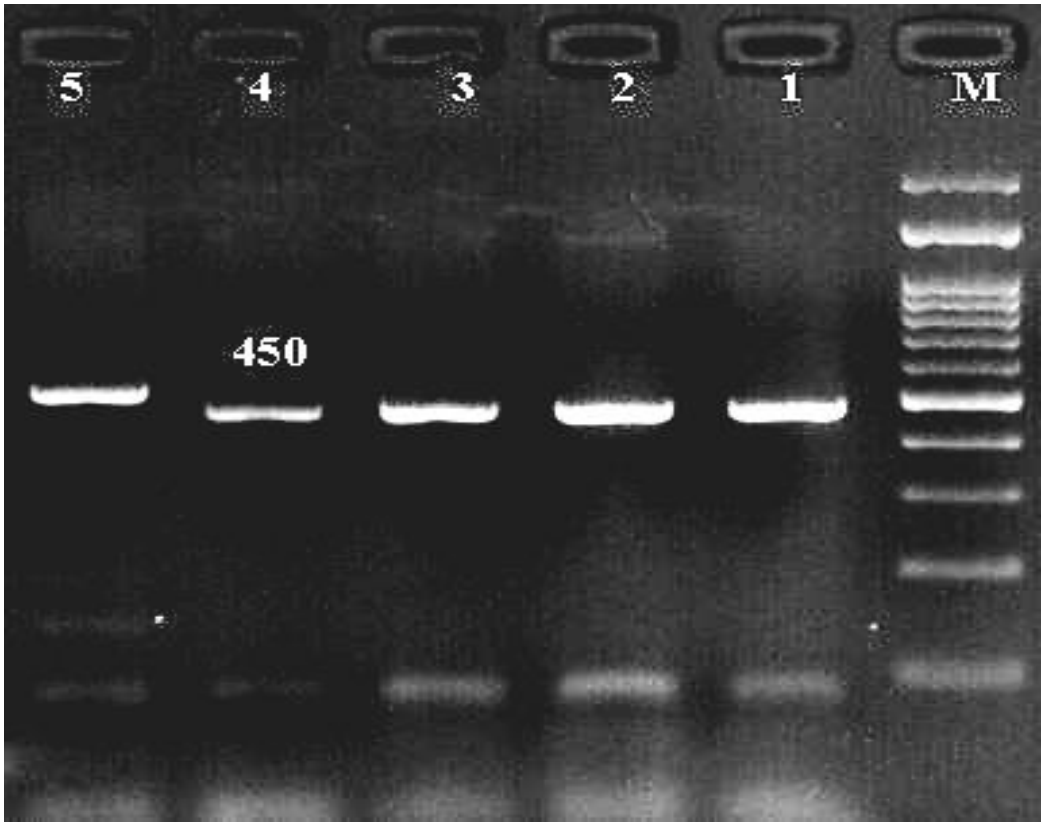
جدول(۳)- بررسی میزان فراوانی *دیروفیلاریا ایمیتیس* با روش نات و مولکولی در گربه های دارای سرپرست و فاقد سرپرست

بررسی با روش نات و مولکولی در گربه	تعداد نمونه	موارد مثبت در روش نات(درصد آلودگی)	موارد مثبت در روش مولکولی(درصد آلودگی)
دارای سرپرست	۲۰۱	۲(٪۱)	۵(۲/٪۴۸)
فاقد سرپرست	۱۸۵	۲(۱/٪۰۸)	۷(۳/٪۷۸)
مجموع	۳۸۶	۴(۱/٪۰۳)	۱۲(۳/٪۱۰)

جدول(٤)- بررسی میزان فراوانی *دیروفیلاریا ایمیتیس* با روش نات و مولکولی در گربه های دارای سابقه منظم مصرف داروی ضد انگل و فاقد سابقه منظم مصرف داروی ضد انگل

بررسی با روش نات و مولکولی در گربه	تعداد نمونه	موارد مثبت در روش نات(درصد آلودگی)	موارد مثبت در روش مولکولی(درصد آلودگی)
دارای سابقه منظم مصرف داروی ضد انگل	۲۰۶	۲(۰/٪۹۷)	۴(۲/٪۰۴)
فاقد سابقه منظم مصرف داروی ضد انگل	۱۸۰	۲(۱/٪۱۱)	۸(۴/٪۲۱)
مجموع	۳۸۶	۴(۱/٪۰۳)	۱۲(۳/٪۱۰)

تصویر ۱- تصویر *دیروفیلاریا ایمیتیس* اخذ شده از نمونه اصلی رنگ آمیزی شده در روش نات با بزرگ نمایی ۱۰۰۰ برابر



تصویر۲- باند ٤٥٠ bp مربوط به نمونه مثبت *دیروفیلاریا ایمیتیس* در روش مولکولی- ستونM مارکر ۱کیلو بازیDNA- ستون های ۱-٤ نمونه های مورد مطالعه واجد قطعه ٤٥٠ جفت بازی- ستون٥ NC نمونه کنترل منفی

بحث و نتیجه گیری

دیروفیلاریازیس یا کرم قلب یک بیماری جهان شمول است که از نقاط مختلف دنیا گزارش شده است. وضعیت اپیدمیولوژیک بیماری به سرعت در حال تغییر است. سرعت رشد و تغییرات به قدری زیاد است که حتی با اقدامات کنترلی و پیشگیرانه، میزان بروز آلودگی در مناطق اندمیک رو به افزایش است و در برخی نقاط که تا کنون گزارشی مبنی بر آلودگی وجود نداشت، انگل گزارش شده است. از دیگر سو مطالعات حاکی از مشترک بودن بیماری بین انسان و حیوانات می¬باشد و بر اساس گزارشات منتشر شده در ده سال گذشته موارد انسانی در اروپا و خاورمیانه مشاهده شده است، افزون بر این تعداد موارد گزارش شده مبتنی بر آلودگی انسانی و همچنین آلودگی گربه¬ها در مناطق اندمیک و مناطق مجاور آن روندی صعودی داشته است(Noack. 2021، Salahi-Moghadam, A., Moobedi, A. & Bani Hashemi, S.J. 2000).

عوامل مختلفی مسبب افزایش و تغییر در گسترش دیروفیلاریازیس هستند. یکی از این عوامل انتشار بیماری به مناطقی است که سابق بر این عاری از آلودگی بوده اند، این امر ممکن است به دلیل تغییرات آب و هوایی در مناطق جغرافیایی باشد که باعث شده پشه های میزبان واسط بتوانند در مناطق جغرافیایی جدید استقرار و گسترش یابند. نکته مهم دیگر نقش حیوانات وحشی می باشد، این حیوانات می توانند به عنوان مخزن انگل برای سگ و گربه های دارای سرپرست و فاقد سرپرست محسوب شوند و به گسترش این بیماری کمک کنند. دلیل اثبات این ادعا نیز گزارش های مربوط به آلودگی شغال، روباه و گرگ در مناطق مختلف ایران به انگل *دیروفیلاریا ایمیتیس* می باشد. این حیوانات میتوانند منبع همیشگی آلودگی برای انسان، سگ و گربه ها باشند(Noack. 2021, Ranjbar, B.S. & ESLAMI, A. 2007).

براساس گزارشات توافق نسبی میان روش های سرولوژی و آزمایش نات وجود دارد اما باید خاطر نشان کرد که روش نات در شناسایی انگل *دیروفیلاریا ایمیتیس* از اهمیت بالینی کمتری برخوردار است. پایین بودن ارزش تشخیصی این روش به دو دلیل عمده می¬باشد دلیل اول مربوط به وجود میکروفیلر های غیربیماریزا دیروفیلاریا رپنس است که تفریق آن از میکروفیلر *دیروفیلاریا ایمیتیس* در زیر میکروسکوپ بسیار مشکل است و دلیل دوم امکان وجود آلودگی با یک جنس و یا عدم وجود میکروفیلر است. هر چند روش های سرولوژی به دلیل بوجود آمدن پاسخ سیستم ایمنی در برابر کرم و وجود آنتی بادی بر علیه آنتی ژن های انگل از کارایی مناسب تری برخوردار است ولی روش ملکولی نسبت به روش های سرولوژیک کارایی بیشتری داشته و ارزش آن در تشخیص بیماری نسبت به سایر روش¬ها بیشتر است(Khedri. 2014).

علارغم وجود تفاوت ها در میزان ابتلا در جنس، رده های سنی و درمان ضد انگلی منظم هیچ تفاوت معنادار آماری در این مطالعه مشاهده نگردید که میزان شیوع پایین این انگل عدم تفاوت معنادار آماری را توجیه می نماید، در مطالعاتی مانند: لو و همکاران در تایوان، کرامر در ایتالیا و ویرا در پرتغال هیچ ارتباط معناداری بین سن، جنس و محل نگهداری حیوان خانگی با میزان شیوع مشاهده نکردند(Kramer, L. &

Lu, T.L., Wong, J.Y., ،Genchi, C. 2002 Traversa, ،Tan, T.L. & Hung, Y.W. 2017 D. 2010). اما در برخی گزارشات اعلام شده که رابطه معنی داری میان سن و میزان آلودگی وجود دارد در مطالعه حاضر همه موارد مثبت گربه ها سه سال بودند، به نظر می رسد که با افزایش سن امکان گزش توسط پشه آلوده و آلوده شدن حیوانات افزایش می یابد و در سنین بالا به دلیل عدم کارایی سیستم ایمنی، احتمال آلوده شدن افزایش می یابد(Anvari, D., Saadati, D., Siyadatpanah, A. & Gholami, S., 2019). در این مطالعه میزان شیوع انگل در گربه های نر سه برابر ماده ها بود که در دوناتی تراورسا و همکاران نیز این نسبت مشاهده گردیده بود و به نظر می رسد نر بودن شانس ابتلا به دیروفیلاریازیس را در گربه افزایش می دهد(۵۱). ۵گربه های بدون سرپرست نسبت به گربه های خانگی میزان شیوع دو برابر بود، در مطالعه دوناتی تراورسا و همکاران نیز حیواناتی که در فضای باز زندگی میکردند، آلودگی بیشتری داشتند که با مطالعه ما همخوانی دارد(Anvari. 2019). در مطالعه دیاکو و همکاران در یونان ۱۸۰ حیوان بدون سرپرست(۱۴۸سگ و ۳۲ گربه) را مورد ارزیابی با سه روش نات، سرولوژی و اکوکاردیوگرافی قرار دادند، در این مطالعه نیز مانند مطالعه ما خطر بالای آلودگی در گربه ها و نیز بر ضرورت انجام اقدامات پیشگیرانه جدی برای کنترل آلودگی در گربه تاکید داشتند(Diakou. 2019). بالاتر بودن میزان ابتلا در حیوانات بدون سرپرست می تواند به این دلیل باشد که گربه¬های خانگی در محیط سربسته و همراه با انسان¬ها زندگی می کنند و کمتر در معرض گزش پشه هستند، اما گربه¬های بدون سرپرست به دلیل زندگی در محیط بیرون و جابجایی های متعدد برای پیدا کردن غذا یا جفت و نیز عادت زباله گردی که احتمال گزش توسط پشه را افزایش می دهد، بیشتر به این انگل الوده می شوند. به نظر می رسد علاوه برعوامل مرتبط با آب و هوا و میزبان های واسط میزان شیوع در گربه ها به علت شرایط ژنتیکی این میزبان باشد.

نتیجه گیری نهایی

بررسی میزان فراوانی این انگل در گربه ها در اغلب مطالعات داخلی مورد بررسی قرار نگرفته بود که با توجه به میزان شیوع ۳/۱۰ درصدی در گربه های استان اصفهان و ملاحظات بهداشت عمومی این انگل به نظر می رسد که در مطالعات آتی پژوهشگران باید به آن توجه ویژه ای کنند. از طرفی شانس تشخیص بالینی این انگل پایین است از طرفی این شانس با توجه به فعالیت بدنی پایین تر در گربه ها پایین تر از سگ هاست، لذا با توجه به میزان شیوع بالایی این انگل در بین گربه های خانگی و دارای سرپرست دارد، باید از تست های آزمایشگاهی و تحت بالینی در گربه ها استفاده شود.

تشکر و قدردانی

از تمامی عزیزان و همکارانی که در تهیه نمونه ها از شهرستان اصفهان و نیز انجام تست نات و مولکولی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد با ما همکاری داشتند کمال تقدیر و تشکر را به عمل می آوریم.

منابع

1. Anvari, D., Saadati, D., Siyadatpanah, A. and Gholami, S., 2019. Prevalence of dirofilariasis in shepherd and stray dogs in Iranshahr, southeast of Iran. Journal of Parasitic Diseases, 43, pp.319-323.
2. Casiraghi, M., Bazzocchi, C., Mortarino, M., Ottina, E. and Genchi, C., 2006. A simple molecular method for discriminating common filarial nematodes of dogs (Canis familiaris). Veterinary Parasitology, 141(3-4), pp.368-372.
3. Diakou, A., Soubasis, N., Chochlios, T., Oikonomidis, I.L., Tselekis, D., Koutinas, C., Karaiosif, R., Psaralexi, E., Tsouloufi, T.K., Brellou, G. and Kritsepi-Konstantinou, M., 2019. Canine and feline dirofilariosis in a highly enzootic area: first report of feline dirofilariosis in Greece. Parasitology research, 118, pp.677-682.
4. Hou, H., Shen, G., Wu, W., Gong, P., Liu, Q., You, J., Cai, Y., Li, J. and Zhang, X., 2011. Prevalence of Dirofilaria immitis infection in dogs from Dandong, China. Veterinary parasitology, 183(1-2), pp.189-193.
5. Khedri, J., Radfar, M.H., Borji, H., Azizzadeh, M. and Akhtardanesh, B., 2014. Canine heartworm in southeastern of Iran with review of disease distribution. Iranian journal of parasitology, 9(4), p.560.
6. Kramer, L. and Genchi, C., 2002. Feline heartworm infection: serological survey of asymptomatic cats living in northern Italy. Veterinary parasitology, 104(1), pp.43-50.Litster, A.L. and Atwell, R.B., 2008. Feline heartworm disease: a clinical review. Journal of feline medicine and surgery, 10(2), pp.137-144.
7. Lu, T.L., Wong, J.Y., Tan, T.L. and Hung, Y.W., 2017. Prevalence and epidemiology of canine and feline heartworm infection in Taiwan. Parasites & vectors, 10(2), pp.7-15.
8. Noack, S., Harrington, J., Carithers, D.S., Kaminsky, R. and Selzer, P.M., 2021. Heartworm disease–Overview, intervention, and industry perspective. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance, 16, pp.65-89.
9. Ranjbar, B.S. and ESLAMI, A., 2007. Prevalence of blood Filaria in dogs in Golestan Province (North of Iran) using Modified Knott Method and determination of its periodicity.
10. Salahi-Moghadam, A., Moobedi, A. and Bani Hashemi, S.J., 2000. Case report of Dirofilaria in Hydrocoel of a child with 5 years old age. In 3 rd National Congress of Parasitilogy, sari, Iran. Mazandaran medical sciences university Publication.
11. Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E. and Montoya-Alonso, J.A., 2012. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clinical microbiology reviews, 25(3), pp.507-544.
12. Tarello, W., 2011. Clinical aspects of dermatitis associated with Dirofilaria repens in pets: a review of 100 canine and 31 feline cases (1990–2010) and a report of a new clinic case imported from Italy to Dubai. Journal of Parasitology Research, 2011.
13. Taylor, M.A., Coop, R.L. and Wall, R.L., 2016. Veterinary Parasitology, 4 th Edition.
14. Traversa, D., Aste, G., Milillo, P., Capelli, G., Pampurini, F., Tunesi, C., Santori, D., Paoletti, B. and Boari, A., 2010. Autochthonous foci of canine and feline infections by Dirofilaria immitis and Dirofilaria repens in central Italy. Veterinary parasitology, 169(1-2), pp.128-132.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 19, Issue1,
Spring & Summer 2023

Prevalence of *Dirofilaria immitis* in cats referred to Isfahan clinics by molecular and Knott methods

Seyed Reza Hosseini[1*], Ali Asghar Shirazi[2]
1. Associate professor of Department of Pathobiology, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Faculty of Veterinary Medicine, karaj branch, Islamic Azad University, karaj, Iran.
Accepted: 12 October 2023 *Received: 9 April 2022*

Abstract
Heartworm disease (Dirofilariasis) is caused by Dirofilaria immitis, which primarily affects canines and cats, and its main hosts are dogs, cats, foxes, and wild dogs and humans. Due to the importance of cats as hosts and possible transmission to humans, it was necessary to study it. In this study, blood samples were taken from 386 cats referred to Isfahan clinics..
The results of this study showed that the frequency of Dirofilaria immitis in cats referred to Isfahan clinics by knott and molecular methods in the study was 1.03 and 3.10%, respectively, which were mostly positive samples in cats over three years old. Males were three times more likely to be infected than females. It was also twice as common in cats that did not receive regular antiparasitic treatment, However, due to the low prevalence of this parasite, no statically significant difference was observed in any of these parameters. Due to the fact that the clinical diagnosis of the disease is difficult and the clinical symptoms in cats are less frequent than in dogs, and on the other hand relatively strict treatment protocols and the need for careful treatment of dirofilariasis along with other worm parasites, prevention, control and appropriate treatment for this parasite is necessary because of its risk to public health.
Keywords: Heartworm disease, Dirofilaria immitis, cat, Isfahan, knot method, molecular method.
Keywords: Heartworm disease, Dirofilaria immitis, cat, Isfahan, knot method, molecular method

** Corresponding author: Sayyid Reza Hoseini*
Address: Department of veterinary, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
Email: dr.s.reza@gmail.com