



بررسی تغییرات بیوشیمیایی سرم ناشی از عوارض کبدی در آلودگی با کرم قلب سگ (دیروفیلاریا ایمیتیس)

بهرام عمواغلی تبریزی^{۱*}، یعقوب قره داغی^۱، فرهاد دستمالچی^۲

۱- گروه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز - تبریز - ایران.

۲- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز - تبریز - ایران.

* نویسنده مسئول: Tabrizi1353@yahoo.com

Evaluation of liver biochemical changes in canine heartworm infection (*Dirofilaria immitis*)

Amouoghli Tabrizi, B.¹, Garadagy, Y.¹, Dastmalchi, F.²

¹Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.

²Graduated of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz - Iran.

Abstract

This study was conducted on 80, 3-5 years old mix breed dogs suspected of *Dirofilaria immitis* in the Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Tabriz and vileges around Tabriz. Direct method and the modified knott's method were used for diagnosis of the parasitic microfilaria. Liver parameters including Protein, Albumin, Globulin, Glucose, Billirubin (total, direct, indirect), Alkaline phosphatas (ALP), Aspartate amino transferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) were determined.

This results of this study indicated that 20 of the 80 dogs examined were infected by *Dirofilaria immitis* microfilar and the prevalence of *Dirofilaria immitis* in this study was 25%. The mean levels of Protein, Globulin, Billirubin (total, direct, indirect), ALP, AST and ALT in infected dog were increases significantly in comparison to the uninfected dogs and the mean levels of albumin in infected dogs was decrease significantly comparison to healthy dogs. The mean level of Glucose did not show any significant differences. The results show that this parasite can be caused side effect in different organs especially liver, so it must be attentioned to liver parameters changes in diagnosis and treatments. *Vet.J.of Islamic.Azad.Univ., Garmsar Branch. 4,4:149-153,2008.*

Keywords: *Dirofilaria immitis* - Liver Parameters - Dog.

چکیده

این مطالعه بر روی ۸۰ قلاده سگ نژاد مخلوط ۳-۵ ساله مشکوک به بیماری کرم قلب (دیروفیلاریا زیس) در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز و روستاهای اطراف شهرستان تبریز انجام گرفت. با آزمایش مستقیم و روش تکمیل شده نات در خون اخذ شده از ورید سفالیک و ورید گوش، میکروفیلر انگل تشخیصی داده شد. پارامترهای بیوشیمیایی شامل پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، گلوکز، بیلیروبین (تام، مستقیم و غیر مستقیم)، فسفاتاز قلیایی، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارات آمینو ترانسفراز با استفاده از کیت‌های اختصاصی ساخت زیست شیمی به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شدند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد از تعداد ۸۰ قلاده سگ مورد آزمایش، ۲۰ قلاده آلوده به میکروفیلر دیروفیلاریا از گونه ایمیتیس بود که میزان آلودگی به این انگل در بین سگ‌های مورد مطالعه ۲۵ درصد به دست آمد. میانگین مقادیر سرمی پروتئین تام، گلوبولین، بیلیروبین (تام، مستقیم و غیر مستقیم)، فسفاتاز قلیایی، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارات آمینو ترانسفراز در گروه سگ‌های بیمار نسبت به سالم افزایش آماری معنی دار و میانگین آلبومین کاهش معنی دار نشان داد. میانگین میزان سرمی گلوکز تغییرات آماری معنی دار نشان نداد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد انگل می‌تواند اثرات سوئی در ارگان‌های مختلف به خصوص کبد ایجاد کند بنابراین در زمان تشخیص و درمان بایستی اثرات انگل در کبد نیز مورد توجه قرار گیرد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، ۱۳۸۷، دوره ۴، شماره ۴، ۱۵۳-۱۴۹.

واژه‌های کلیدی: دیروفیلاریا زیس - پارامترهای کبدی - سگ.



مقدمه

بیماری کرم قلب سگ یا دیروفیلاریازیس (Dirofilaria immitis) بیماری انگلی است که سیر تکاملی غیر مستقیم دارد و به وسیله گونه‌های بخصوصی از پشه‌ها شامل آئدس (Aedes)، کولکس (Culex) و آنوفلس (Anopheles) منتقل می‌شود (۱،۲). مخزن آن غالباً سگ سانان بوده و بیماری انتشار جهانی دارد (۱،۴). سیر تکاملی انگل غیر مستقیم بوده و جنس ماده این کرم، میکرو فیلرهای خود را در جریان خون آزاد می‌کند و میکرو فیلرها توسط گردش خون در سراسر بدن پخش می‌شوند. پشه‌ها با خونخواری از عروق سطحی بدن سگ‌های آلوده، میکرو فیلرها را وارد بدن خود می‌کنند و در بدن پشه، میکرو فیلرها با طی مراحل تکاملی تبدیل به لارو عفونی می‌شوند (۲). علایم بالینی این بیماری در سگ‌ها بسیار متغیر بوده و 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 می‌شود (۲،۱۱). در ایران گزارشهای مختلفی از این انگل در سگ از جمله جنبه‌های بالینی دیروفیلاریازیس، اولین گزارش بالینی بیماری، روشهای مختلف تشخیص بیماری در انسان و سگ، علائم بالینی و درمان و مقایسه دو روش تشخیص الایزا و روش تکمیل شده نات (Knott method modified) موجود می‌باشد (۱،۲).

با توجه به عوارض عمده این بیماری بخصوص در رابطه با آسیب‌های کبدی و کلیوی (۱،۴)، آسیبهای مغزی (۱۹) و نیز به دلیل اینکه اطلاعات اندکی در زمینه بیمارزایی دیروفیلاریا ایمیتیس در سگ و چگونگی روند تغییرات بیوشیمیایی سرم در حیوانات مبتلا وجود دارد، در این بررسی تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرمی شامل پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، گلوکز، بیلیروبین (تام، مستقیم و غیرمستقیم)، فسفاتاز قلیایی، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز در سگ‌های مبتلا به کرم قلب (دیروفیلاریازیس) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۸۰ قلابه سگ نژاد مخلوط ۳-۵ ساله مشکوک به بیماری کرم قلب (دیروفیلاریازیس) انجام گرفت. سگ‌های مورد مطالعه از نظر سن، جنس، بی‌اشتهایی، دهیدراتاسیون، وضعیت تنفسی (دیس پنه، سرفه) و نحوه

فعالیت‌های بدنی مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس نمونه خون از ورید سفلیک و ورید گوش اخذ گردید. جهت تشخیص انگل در نمونه‌های اخذ شده، آزمایش مستقیم و روش تکمیل شده نات (Knott method modified) انجام شد. بعد از لخته شدن نمونه‌ها، سرم توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. پارامترهای بیوشیمیایی سرم شامل پروتئین تام، آلبومین، گلوکز، بیلیروبین (تام، مستقیم و غیرمستقیم)، فسفاتاز قلیایی، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز به روش رنگ سنجی (colorimetric) و با استفاده از کیت‌های اختصاصی ساخت شرکت زیست شیمی توسط دستگاه اسپکتوفتومتر Bio-Wave مدل F2100 ساخت انگلستان اندازه‌گیری شدند (۱۲).

نتایج بدست آمده از این تحقیق، توسط آزمون تجزیه واریانس دو عاملی (سن و جنس) برای بدست آوردن تاثیر یا عدم تاثیر این دو عامل و نیز اثر متقابل این دو عامل بر روی بیماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و پیرایش ۱۴ تحت ویندوز XP مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

نتایج بدست آمده از این تحقیق، توسط آزمون تجزیه واریانس دو عاملی (سن و جنس) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و عدم تاثیر این دو عامل بر روی بیماری و نیز عدم تاثیر متقابل آنها نتیجه‌گیری شد ($P < 0.05$). برای مقایسه میانگین پارامترهای دو گروه بیمار و سالم از آزمون آماری t-Test استفاده شد. نتایج حاصله از این تحقیق در جدول ۱ و ۲ ذکر شده است.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد از تعداد ۸۰ قلابه سگ مورد آزمایش، ۲۰ قلابه آلوده به میکرو فیلر دیروفیلاریا ایمیتیس بودند و آلودگی به این انگل به میزان ۲۵ درصد در بین سگ‌های مورد مطالعه مشاهده شد.

مقایسه میانگین سرمی پروتئین تام، بیلیروبین (تام، مستقیم و غیرمستقیم)، فسفاتاز قلیایی، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز بین گروه سگ‌های سالم و بیمار اختلاف آماری معنی داری نشان داد ($P < 0.05$). به طوری که مقادیر سرمی این پارامترها در گروه سگ‌های آلوده به میکرو فیلر دیروفیلاریا ایمیتیس نسبت به گروه سگ‌های سالم افزایش یافته است.

بررسی میانگین سرمی آلبومین بین گروه سگ‌های سالم و بیمار اختلاف آماری معنی داری نشان داد ($P < 0.05$) و میزان این پارامتر در گروه سگ‌های آلوده به میکرو فیلر دیروفیلاریا



جدول ۲) میانگین مقادیر سرمی پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، گلوکز، بیلروبین (تام، مستقیم و غیرمستقیم)، ALT، AST و ALP در سرم سگ‌های سالم و بیمار.

گروه بیمار	گروه سالم	پارامتر / گروه
b ۷/۷۵ ± ۰/۲۱	a ۶/۶۶ ± ۰/۶۵	پروتئین (gr/dl)
b ۲/۷۵ ± ۰/۱۵	a ۲/۳۰ ± ۰/۲۹	آلبومین (gr/dl)
b ۵/۰۰ ± ۰/۱۶	a ۳/۴۶ ± ۰/۳۱	گلوبولین (gr/dl)
a ۱۰۵/۴۰ ± ۴/۷۴	a ۱۱۰/۵۴ ± ۵/۵۵	گلوکز (mg/dl)
b ۰/۶۰ ± ۰/۰۸	a ۰/۱۰ ± ۰/۰۵	بیلروبین تام (mg/dl)
b ۰/۱۰ ± ۰/۰۰	a ۰/۰۲ ± ۰/۰۰	بیلروبین مستقیم (mg/dl)
b ۰/۵۱ ± ۰/۰۴	a ۰/۰۸ ± ۰/۰۷	بیلروبین غیرمستقیم (mg/dl)
b ۱۴۹/۳۰ ± ۷/۹۱	a ۲۷/۲۰ ± ۳/۷۵	AST (IU/l)
b ۱۹۰/۶۶ ± ۹/۴۴	a ۱۵/۳۶ ± ۱/۲۰	ALT (IU/l)
b ۱۳۰/۷۷ ± ۱۳/۸۷	a ۴۰/۵۱ ± ۲/۹۱	ALP (IU/l)

حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی دار بین گروه سالم و بیمار ($P > 0.05$).

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار بین گروه سالم و بیمار ($P < 0.05$).

معنی داری نشان می‌دهد ($P < 0.05$). پروتئین به دو دسته کلی تقسیم می‌شود که شامل آلبومین و گلوبولینها است. افزایش پروتئین می‌تواند در نتیجه افزایش تولید سنتز، دهیدراتاسیون و یا ورود بیش از اندازه به بدن باشد (۶). در این بررسی دامها در زمان نمونه برداری دهیدراته بودند که خود عاملی در افزایش پروتئین محسوب می‌شود و از طرفی آلبومین به عنوان پروتئین فاز حاد منفی است که در زمان عفونت و التهاب سنتز آن توسط کبد کاهش می‌یابد (۶). اما تحریک سیستم ایمنی به دلیل وجود انگل، باعث افزایش تولید گلوبولینها و به خصوص ایمنوگلوبولین E شده (۱۵) و همزمان با آن سنتز پروتئینهای فاز حاد مثبت بیشتر می‌شود که میتوان این عوامل را در تغییر مقادیر سرمی پروتئین، گلوبولین و آلبومین دخیل دانست. کرکالی و همکاران در سال ۲۰۰۷ افزایش مقادیر سرمی پروتئین و گلوبولین را در کرم قلب سگ گزارش نمودند (۱۴). شارما و همکاران نیز در سال ۱۹۸۱ کاهش مقادیر سرمی آلبومین را در این بیماری گزارش کردند (۲۱).

در این مطالعه میانگین مقادیر سرمی بیلی روبین تام، مستقیم و غیرمستقیم افزایش آماری معنی داری نشان داد ($P < 0.05$). بیلی روبین به عنوان یک ماده دفعی است که در نتیجه متابولیسم هموگلوبین در سیستم رتیکیولو آندوتلیال تولید و برای دفع شدن

جدول ۱- وضعیت آلودگی به میکروبیار دیروفیلاریا ایمیتیس در ۸۰ قلاده سگ مورد آزمایش

تعداد سگ (قلاده)	۲۰	۶۰
درصد	۲۵٪	۷۵٪

ایمیتیس کاهش معنی داری داشت. در حالیکه مقایسه آماری میانگین گلوکز بین گروه سگ‌های سالم و بیمار اختلاف آماری معنی داری نشان نداد ($P < 0.05$). به عبارت دیگر بیماری بر سطح سرمی گلوکز تاثیری نداشته است.

بحث و نتیجه‌گیری

در این بررسی از تعداد ۸۰ قلاده سگ مشکوک به کرم قلب، ۲۰ قلاده مبتلا به بیماری کرم قلب بودند. بررسی‌های میکروسکوپی میکروفیلرها شامل طول، عرض، حرکت، شکل انتهایی قدامی و خلفی (۲) در نمونه‌های خونی نشان داد که همه موارد آلودگی ناشی از انگل دیروفیلاریا ایمیتیس بوده و هیچ آلودگی با میکروفیلر دیپیتالونما رکوندیتوم و دیروفیلاریا ریپنز وجود نداشت. بیشترین آلودگی با این انگل در آسیا، در ژاپن و کره با ۶۲/۸ درصد بوده (۲۳، ۲۴) و کمترین آن در هندوستان با ۲/۳ درصد گزارش شده است (۱۸). مقایسه آماری نتایج به دست آمده در این تحقیق با تحقیقات مشابه در سطح آسیا نشان دهنده این واقعیت است که تنها ۲۵ درصد از سگ‌های ارجاعی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز و روستاهای اطراف شهرستان مبتلا به دیروفیلاریا می‌باشند. اولین گزارش در ایران در سال ۱۳۴۸ توسط صدیقیان در شهرستان شهسوار بوده که میزان آلودگی سگ‌ها را ۴۱ درصد گزارش نموده است (۲۰). جاویدی و همکاران در سال ۸۳ میزان آلودگی سگ‌های شهرستان تبریز به انگل دیروفیلاریا ایمیتیس را ۳۰ درصد (۳)، هاشم زاده فرهنگ و جمالی ۳۱/۶ درصد (۸) و موبدی و همکاران در سال ۲۶/۷، ۶۹ درصد (۷) گزارش نموده‌اند که نشان دهنده تشابه نسبی بین این تحقیق‌ها است. مشگی و همکاران در بررسی خون سگ‌های روستایی و شهری اطراف تبریز، این شهر را به عنوان کانون بومی آلودگی با دیروفیلاریا ایمیتیس معرفی کرده‌اند (۵) که نتایج این پژوهش هم تنها آلودگی به دیروفیلاریا ایمیتیس را در این منطقه نشان می‌دهد.

در این بررسی میانگین مقادیر سرمی پروتئین و گلوبولین افزایش آماری معنی دار و میانگین سرمی آلبومین کاهش آماری



جایگزینی میکرو فیلر انگل در مجاری صفراوی و آسیب ناشی از آنها باشد (۱۰). چرا که مقادیر سرمی کلسیم و فسفر در این بررسی، در محدوده طبیعی بود. نتایج این مطالعه با یافته‌های کرکالی و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۱۴) و سودیکوف و همکاران در سال ۱۹۹۵ (۲۲) و بالیکلی و همکاران در سال ۲۰۰۵ (۹) همخوانی دارد. این بیماری در سگ می‌تواند ضایعاتی در ارگانهای مختلف به خصوص کبد ایجاد کند بنابراین در زمان تشخیص و درمان بایستی اثرات انگل در کبد نیز مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- ۱) آذری حمیدیان، ش.، یعقوبی ارشادی، م.، جوادیان، ع.، موبدی، ا.، عبائی، م. ر. (۱۳۸۵) مروری بر دیروفیلاریازیس در ایران.
- ۲) اسلامی، ع. (۱۳۷۶) کرم شناسی دامپزشکی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، جلد سوم، صفحات: ۶۰۹-۵۸۴.
- ۳) جاویدی براننده، م. م. ع. (۱۳۸۳) بررسی وضعیت آلودگی سگ‌های ولگرد شهرستان تبریز به انواع فیلرها در سال ۱۳۸۳ دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، پایان نامه شماره ۶۸۴.
- ۴) قره داغی، ی. (۱۳۸۴) مطالعه پاتوبیولوژیکی دیروفیلاریازیس در سگ‌های شهرستان تبریز و حومه بین سالهای ۸۱ تا ۸۲، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، طرح تحقیقاتی شماره ۳۳.
- ۵) مشگی، ب.، اسلامی، ع.، اشرفی هلان، ج. (۱۳۸۱) بررسی اپیدمیولوژی فیلرهای خونی سگ‌های روستایی و شهری تبریز. مجله تحقیقات دامپزشکی سال پنجاه و هفتم، شماره ۴ (پیاپی ۲۲۸)، صفحه ۵۹.
- ۶) مجابی، ع. (۱۳۸۴) بیوشیمی درمانگاهی دامپزشکی، انتشارات نوربخش.
- ۷) موبدی، ا.، جوادیان، ع.، عبائی، م. ر. (۱۳۶۹) معرفی کانون زئونوز کرم قلب سگ در منطقه مشکین شهر، اولین کنگره سراسری بیماریهای انگلی در ایران رشت، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی گیلان، صفحه ۷۸.
- ۸) هاشم زاده فرهنگ، ح. (۱۳۷۴) بررسی آلودگی سگ‌های ولگرد در شهر تبریز به انگل دیروفیلاریا ایمیتیس، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، پایان نامه شماره ۱۲۶.

نیاز به کونژگه شدن در کبد دارد که به وسیله آلبومین به کبد می‌رود تا به صورت محلول درآمده و از راه صفرا دفع شود (۶).

میکرو فیلر انگل دیروفیلاریا در حال حرکت در خون بوده و می‌تواند به اندامهای مختلف مانند مغز، کبد، کلیه و... وارد و باعث آسیب در آنها شود. گوگین در سال ۱۹۹۷ جایگزینی انگل در کبد (۱۳) و همچنین کاستلمن در سال ۱۹۸۲ جایگزینی انگل در مجاری صفراوی و آسیب به این ارگانها را گزارش نمودند (۱۰). آسیب میکرو فیلرها به بافت کبد می‌تواند برداشت بیلی روبین غیر مستقیم توسط کبد را مختل کرده و از طرف دیگر کونژگاسیون (غیر سرمی کردن) و دفع آنرا نیز دچار وقفه نماید. بنابراین افزایش بیلی روبین غیر مستقیم و مستقیم، در نتیجه آسیب کبدی و مجاری صفراوی ایجاد می‌شود. کاهش آلبومین سرمی نیز می‌تواند دلیلی بر افزایش بیلی روبین غیر مستقیم باشد چرا که این بیلی روبین توسط آلبومین به کبد حمل می‌شود (۶). نیوتپاتوموات و همکاران در سال ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ (۱۶، ۱۷) و همچنین شارما نیز در سال ۱۹۸۱ افزایش مقادیر سرمی بیلی روبین تام، مستقیم و غیر مستقیم را در سگ‌های مبتلا به کرم قلب گزارش نمودند (۲۱).

میانگین مقادیر سرمی ALT و AST افزایش آماری معنی داری را در این بررسی نشان می‌دهد ($P < 0.05$). ALT یک آنزیم سیتوپلاسمی بوده و بیشترین مقدار آن در کبد سگ می‌باشد و از سنجش آن می‌توان برای بررسی و تشخیص بیماریهای کبدی استفاده نمود (۶). AST یک آنزیم میتوکندریایی بوده و تقریباً در تمام سلولها وجود دارد بنابراین یک آنزیم غیر اختصاصی می‌باشد. بیشترین مقدار آن در سلولهای عضلات اسکلتی، قلب و کبد می‌باشد. بنابراین توام با سایر آنزیمها و پارامترها می‌توان به تشخیص بهتر ضایعات کبدی و عضلانی استفاده نمود (۶). افزایش این دو آنزیم در این مطالعه می‌تواند ناشی از آسیب سلولهای کبدی توسط میکرو فیلر انگل باشد که با یافته‌های نیوتپاتوموات و همکاران در سال ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ (۱۶، ۱۷) و همچنین شارما نیز در سال ۱۹۸۱ (۲۱) و ویلارد در سال ۱۹۹۴ (۲۵) و سودیکوف و همکاران در سال ۱۹۹۵ (۲۲) همخوانی دارد.

میانگین مقادیر سرمی ALP افزایش آماری معنی داری را در این بررسی نشان می‌دهد ($P < 0.05$). ALP یا فسفاتاز کلیایی یک آنزیم غشایی است که دارای ایزو آنزیمهای متعددی مانند کبدی، استخوانی، روده‌ای، جفتی و... می‌باشد اما مهمترین آنها نوع استخوانی و کبدی است که در کبد هم بیشتر مربوط به مجاری صفراوی می‌باشد (۶). افزایش این آنزیم می‌تواند ناشی از



9. Balikci, E. (2005) Some clinical, hematological, biochemical and ECG parameters in dogs with dirofilariasis. *F.Ü. Salk Bil. Dergisi*, **19**(1):43-48.
10. Castleman, W.L. and Wong, M.M. (1982) Light and electron microscopic pulmonary lesions associated with retained microfilariae in canine occult dirofilariasis. *Vet Pathol*, **19**:355-364
11. Ettinger, S., Feldman, E.C. (2005) Textbook of Veterinary internal medicine of small animal. Saunders, Philadelphia, PP: 937-963.
12. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. (2000) Schalm's Veterinary Hematology, 5th edn. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PP: 77-83.
13. Goggin, J.M., Biller, D.S., Rost, C.M., DeBay, B.M. and Ludlow, C.L. (1997) Ultrasonographic identification of *Dirofilaria immitis* in the aorta and liver of a dog. *J Am Vet Med Assoc*, **210**:1635-1637
14. Kircali, S. F., Kozan, E., Bülbül, A., Birdane, F. M., Köse, M. and Sevimli, A. (2007) *Dirofilaria immitis* infection in dogs: unusually located and unusual findings. *Parasitology Res*, **101**:1487-1494.
15. Meyer, D.J., Coles, E. H. and Harvey, et Dennie J. Rich. L.J. (1992) Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis. 3rd ed Saunders company. PP: 170-180.
16. Niwetpathomwat, A., Kaewthamasorn, M., Tiawsirisup, S., Techangamsuwan, S., Suvarnavbhaja, S. (2007) A retrospective study of the clinical hematology and the serum biochemistry tests made on canine dirofilariasis cases in an animal hospital population in Bangkok, Thailand. *Res. Vet. Sci*, **82**(3): 364-369.
17. Niwetpathomwat, A., Assarasakorn, S., Techangamsuwan, S., Suvarnavbhaja, S. and Kaewthamasorn, M. (2006) Canine dirofilariasis and concurrent tick-borne transmitted diseases in Bangkok, Thailand *Comparative Clinical Pathology*, **15**(4):249-253.
18. Parke, N.J., Mays, C.E. (1982) Canine dirofilariasis in central Indian. *Proc Indiana Acad Sci*, **99**:650-658.
19. Pattons, S., Garner, F.M. (1970) Cerebral infarction caused by heart worms (*Dirofilaria immitis*) in a dog. *J Am Med*, **156**: 600.
20. Sadighian, A. (1969) Helminth parasites of stray dogs in shahsavari area of Iran. *J Helminth*, **2**: 372-374.
21. Sharma, M.C., Pachauri, S. P. (2005) Blood cellular and biochemical studies in canine dirofilariasis. *Vet Res. Communications*, **5**(1):295-300.
22. Sodikoff, C.H. (1995) Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis, 2nd Ed. Mosby, New York. PP: 32-47.
23. Rhee, J.K., Yang, S.S., Kim, H.C. (1998) Periodicity exhibited by *Dirofilaria immitis* microfilariae identified in dogs of Korea. *J Parasitol*, **36**:4:23.
24. Tada, Y., Ohta, T., Soohara, S. (1991) Helminth infections dogs in Shiga Japan. *J Vet Med Sci*, **53**(2): 359-360.
25. Willard, M.D., Twedt, D.C. (1994) Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic disorders. In: Willard MD, Twedt H, Turnwald GH (eds) Small animal clinical diagnosis by laboratory methods, 2nd Ed. Saunders, Philadelphia, PP: 179-218.

