

نخستین گزارش بیماری دورین در اسبهای مشکوک به اشکال بالینی بیماری در روستاهای حومه شهرستان دورود، استان لرستان، ایران

سعید هاشمی^{۱*}، میثم سالاروند^۲

۱- گروه انگل‌شناسی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۲- کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

*نویسنده مسئول: sa.hashemi1351@gmail.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۵/۲۸ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۷)

چکیده

دورین یک بیماری مقاربتی انگلی اسب است که توسط تک یاخته تاژک دار تریپانوزوم اکوئی پردوم از راسته تریپانوزوماتیدا ایجاد می‌شود. این بیماری کشنده که در گذشته وجود داشته و امروزه در لرستان مجدداً در حال ناپیدایی است، با وجود موارد مشکوک در استان لرستان بررسی نشده است. بنابراین به این منظور با مراجعه به چهار روستای حومه شهرستان دورود از اردیبهشت ۱۳۹۹ تا اردیبهشت ماه ۱۴۰۰ مجموعاً از ۱۳ راس اسب مشکوک، نمونه خون وریدی (۴ نمونه نریان و ۹ نمونه مادبان) جمع‌آوری شد. نتایج معاینه میدانی دام شامل دارای تب $1 \pm$ ، $38.5/5$ درجه سلسیوس، ادم دستگاه تناسلی و خستگی سریع و رنگ پریدگی مخاط چشم، پرخونی چشم (۶ مورد تب و ۲ مورد عفونت چشم)، تائیکاردی قلبی و در یک مورد نریان یک پلاک پوستی به قطر ۵ سانتیمتر روی پا دیده شد. از هر اسب ۲۰ میلی لیتری از ورید و داج خونگیری کرده و با روش تهیه گسترش لام از بافی کوت و سنجش هماتوکریت در لوله موئین، نمونه‌ها بررسی شد. از ۱۳ اسب مورد مطالعه ۷ مورد هماتوکریت هماتوکریت 1 ± 32 درصد را نشان دادند. میانگین هماتوکریت در ۴ نریان 1 ± 28 ٪ و در ۳ مادبان 1 ± 30 ٪ بود. اشکال تریپوماستیگوتی انگل تریپانوزوم اکوئی پردوم، با میانگین فراوانی مطلق بیماری ۲۳/۰۷ درصد، در سه نمونه دیده شد.

واژگان کلیدی: دورین، اسب، بافی کوت، دورود

مقدمه

دورین به عنوان یکی از بیماریهای تک یاخته ای کشنده اسبها ناشی از تریپانوزوم اکوئی پر دوم توسط سازمان بهداشت حیوانات (OIE) معرفی شده است (Suganuma et al., 2017). تریپانوزومیازیس در اسب و شتر از دیرباز در ایران وجود داشته و همواره خسارات اقتصادی به کشور وارد کرده است. تریپانوزوم اوانسی عامل سورا توسط مگسهای خونخوار تابانوس و استوموکسیس و بیماری دورین از راه مقاربتی یا تلقیح مصنوعی انتقال می یابد. به علت پایداری و دیرپا بودن این بیماری، ساخت واکسن برای آن بسیار مشکل شده است. همچنین بسیاری از حیوانات که درمان می شوند بیماری در آنها عود می کند (Hagos et al., 2010). تریپانوزومیازیس یکی از مهمترین مشکلات دامداری و دامپزشکی در کشورهای جنوبی صحرای آفریقا است (Dhollander et al., 2006). اسبها خیلی حساس و در صورت عدم درمان می میرند در حالی که الاغ و قاطر مقاوم و می توانند بدون علائم مخزن بیماری باشند (Ahmed et al., 2018). دورین سیر مزمن دارد و شش ماه تا دو سال طول دوره بیماری است. دوره کمون ۲ تا ۱۲ هفته است و بیماری با سه مرحله مشخص می شود. مرحله اول تورم دستگاه تناسلی نر یا ماده با ترشحات چرکی. دوم ظهور پلاکهای پوستی به قطر ۵ سانتیمتر در روی پوست و در آخر فلج اندامهای حرکتی و مرگ. (Claes et al., 2005; Chin et al., 2013)

روش تشخیص بیماری مشکل و با خونگیری در مراحل اولیه بیماری و روشهای مولکولی و سرولوژیکی

میسراس است. در لرستان برای نخستین بار بر اساس علائم ظاهری و آزمایش خون این بیماری مورد مطالعه واقع شده است.

مواد و روش ها

با مراجعه متوالی به روستاهای سراب بیشه، پشت قلعه، دره اسپر، داریاب طی مدت یک سال از اردیبهشت ۱۳۹۹ تا اردیبهشت ماه ۱۴۰۰ مجموعاً ۱۳ نمونه خون اسب شامل ۴ نمونه نریان بالای ۶ سال و ۹ نمونه مادین بالای ۶ سال با روش نمونه برداری هدفمند و با گزارش دامدارانی که به کلینیک دامپزشکی مراجعه می کردند و ضمن معاینه اسب بیمار نمونه خون جمع آوری می شد. (جدول-۱)

پیش از خون گیری، دمای بدن اسب، رنگ مخاطات چشم (از نظر رنگ، پرخونی و خونریزی) تاریخچه مواجهه با عوامل و شرایط استرس زا مانند زایمان، شکستگی، تزریق، مسافرت، فعالیت زیاد، عملکرد کلی دستگاه های گوارش، عصبی، تنفس و گردش خون، چاقی و لاغری، وضعیت آلودگی کنه ای، وضعیت تغذیه ای (اشتها)، میزان آب بدن، وضعیت ادم در اندام ها تناسلی و وجود یا فقدان ترشحات چرکی در آنها، بررسی شد.

جدول ۱- تعداد نمونه خون اسب جمع آوری شده برحسب منطقه

محل نمونه گیری	تعداد خون نریان	تعداد خون مادبان	جمع
داریاب	۱	۱	۲
دره اسپر	۱	۳	۴
پشت قلعه	۱	۲	۳
سراب	۱	۳	۴
بیشه			
جمع	۴	۹	۱۳

از متانول خالص به مدت دو دقیقه تثبیت نموده ، سپس به مدت ۴۵ دقیقه با محلول گیمسا ۵ درصد (رقت ۱ به ۲۰ از محلول آماده) رنگ آمیزی می شد (Ahmed et al., 2018). نهایتاً تمامی گسترش های خونی با میکروسکوپ نوری از نظر حضور اشکال تریپانوزومی بررسی می شد. در بررسی حاضر، مشاهده اشکال کشیده انگل تریپانوزوم در گسترش های خونی به منزله مثبت بودن آلودگی و عدم مشاهده آن در ۱۰۰ شان میکروسکوپی به منزله منفی بودن آلودگی تلقی می گردید .

تهیه بافی کوت با روش woo test : از هر نمونه خون ، ۴ عدد لوله موئین با محتوی ۵۰ میکرولیتر خون کامل تهیه کرده و دو سر آن با خمیر بسته می شد و در میکروسانتریفوژ ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ می گذاشتیم . لایه نازک و سفید میانی، لایه بافی کوت است که شامل پلاکتها و گلبولهای سفید می باشد و انگل تریپانوزوم اینجا جمع می شود. از لایه بافی کوت ، دو گسترش نازک لام تهیه و پس از رنگ آمیزی با گیمسای ۲۰ درصد ، بررسی میکروسکوپی می شد . (Woo, P.T.K. ,1970)

اندازه گیری هماتوکریت: از یک لوله موئین حاوی خون دام ، درصد هماتوکریت اندازه گیری می شد.

روش خونگیری : از هر اسب ۲۰ میلی لیتر از ورید و داج خونگیری کرده و بلافاصله به آرامی در ۳ لوله آزمایش حاوی سیترات سدیم به عنوان ضد انعقاد خالی می شد بعد یک لیبل حاوی نام دامدار و محل و تاریخ نمونه گیری روی لوله ها زده و نمونه را در کنار یخ به آزمایشگاه انگل شناسی دامپزشکی دانشگاه آزاد بروجرد ،انتقال داده می شد .روش مطالعه تهیه گسترش نازک از خون وریدی و بافی کوت بود. از نمونه خون هر اسب گسترش های نازک خون تهیه می شد ، بلافاصله با استفاده

جدول ۲- بررسی علائم درمانگاهی در اسبهای

مورد مطالعه

صفت مورد بررسی	تعداد مشاهده	موارد درصد مطلق	فراوانی
تب ± 1 $38/5$ درجه سلسیوس	۶	۴۶/۱۵	
رنگ پریدگی مخاط چشم	۳	۲۳/۰۷	
پرخونی چشم مخاط	۸	۶۱/۵۳	
تاکیکاردی	۹	۶۹/۲۳	
ادم دستگاه تناسلی	۳	۲۳/۰۷	
خستگی پس از حرکت	۳	۲۳/۰۷	
وجود پلاک پوستی	۱	۷/۶۹	



شکل ۲- پلاک پوستی در روی پای نریان آلوده به

دورین

نتایج: بررسی علائم درمانگاهی

نتایج نشان داد از ۱۳ اسب مورد مطالعه ۶ مورد دارای تب ± 1 $38/5$ درجه ، ۳ مورد دارای ادم دستگاه تناسلی (۲ مورد نریان و یک مورد مادیان) و خستگی سریع پس از دویدن با رنگ پریدگی مخاط چشم ، ۸ مورد پرخونی چشم (۶ مورد تب داشتند و ۲ مورد عفونت چشم) ، ۹ مورد تاکیکاردی قلبی (۶ مورد به خاطر تب و ۳ مورد عفونت) و در یک مورد نریان ، یک پلاک پوستی (اندازه گیری با کولیس) به قطر حدود ۵ سانتیمتر روی پا دیده شد. (جدول-۲)



شکل ۱- مادیان با لاغری مفرط و بیرون زدگی دنده ها در بیماری دورین

دره اسپر و یک مادیان از سراب بیشه ، با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی X1۰۰ و روغن امرسیون دیده شد . میانگین فراوانی مطلق بیماری ۲۳/۰۷ درصد بود . هماتوکریت در دو نریان آلوده به انگل ۲۵ و ۲۷ و در مادیان آلوده به انگل ۲۹ درصد بود.(جدول-۴)

جدول ۴- بررسی وجود اشکال تریپوماستیگوتی انگل تریپانوزوم اکوئی پر دوم در بافی کوت نمونه خون

محل نمونه	تعداد نریان	تعداد مادیان	جمع
گیری	آلوده	مادیان آلوده	
سراب بیشه	-	۱	۱
داریاب	-	-	-
دره اسپر	۱	-	۱
پشت قلعه	۱	-	۱
جمع	۲	۱	۳

براساس جدول-۳) از ۱۳ اسب مورد مطالعه ، ۷ با روش بررسی هماتوکریت مطابق موری (Murray *et al.*,1983) هماتوکریت 1 ± 32 درصد را نشان دادند. میانگین هماتوکریت در ۴ نریان 1 ± 28 ٪ و در ۳ مادیان 1 ± 30 ٪ بود.

جدول-۳- بررسی هماتوکریت (pcv) در نمونه های خون

محل نمونه	نریان آمیک	مادیان آمیک	جمع
تعداد	درصد pcv	تعداد	درصد pcv
سراب بیشه	۱	۱	۲
داریاب	۱	۱	۲
دره اسپر	۱	۱	۲
پشت قلعه	۱	-	۱
جمع	۴	۳	۷

با تهیه گسترش خونی نازک از بافی کوت با روش woo و رنگ آمیزی با گیمسای ۲۰ درصد ، اشکال تریپوماستیگوتی انگل تریپانوزوم اکوئی پر دوم ، در سه نمونه شامل دو نریان از روستاهای پشت قلعه و

تریپانوزوم به کار گرفته شده است. (Gari et al., 2010)

در مطالعه ای در شهر گنبد که روی ۷۵ اسب و ۴۴ الاغ و قاطر صورت گرفت، با بررسی خون آنها در هیچکدام انگل تریپانوزوم اکوئی پردوم ولی با تستهای فرمل ژل و مرکوریک کلرید، ۴۸ درصد اسبها و ۷۷/۲۷ درصد الاغ و قاطرها آنتی بادی ضد انگل را داشتند. (Mostafalo Y, 1990)

در یک بررسی در استان فارس ۱۰ نریان، ۵ مادپان و یک الاغ نر با علائم ورم بیضه ها و دستگاه تناسلی و وجود پلاکهای گردنی، مطالعه شدند که در هیچکدام نتوانستند انگل را جدا کنند. (Dehghani, 2002)

در یک بررسی در جنوب ایران از شستشوی پنیس یک نریان با علائم ورم چرکی بیضه و پنیس، و تهیه لام از محلول حاصل موفق به جدا شدن تریپانوزوم اکوئی پردوم شدند (Anvari et al., 2015). در مطالعات خارجی شیوع تریپانوزوم در تک سمیان مناطق مختلف متفاوت است.

در اردن میزان آلودگی به تریپانوزوم اوانسی در شتر ۳۰/۵ درصد و در اسب ۳۳/۳ درصد، گزارش گردید که شیوع نسبتاً بالایی را نشان می دهد (Clausen et al., 2014)



شکل-۳) شکل کشیده تریپانوزوم اکوئی پردوم

بحث

شناسایی دورین در ایران برمی گردد به سال ۱۹۶۰ در پی گزارش اسبهای بیمار از مناطق بختیاری نشین استان خوزستان که به زبان محلی آن را بیماری ELLEH می نامیدند. (Khalili, 1973)

تشخیص انگل شناسی بیماری دورین در اسب یا الاغ هایی که به صورت مزمن آلوده اند به علت خطا در یافتن انگل ها در بافت ها و رخداد زودگذر در جریان خون مشکل است (Alemu, et al., 1997) اگرچه علائم در مراحل پیشرفته بیماری ممکن است پاتوگونومونیک باشد اما خصوصاً در مراحل ابتدایی یا کمون معمولاً با اطمینان قابل شناسایی نیستند. امروزه آزمایش PCR به عنوان یک روش دقیق و حساس در تشخیص عفونت با

مراکش تونس و ترکیه رخ داده است. (Khalili, 1973)

بیماری دورین یک بیماری کشنده اسب است که در دهه های گذشته وجود داشته ولی امروزه مطالعه حاضر در لرستان با روش میکروسکوپی، نشان داده که مجددا در حال نوپدیدی و ظهور مجدد است که باید دامداران را آگاه نمود.

تقدیر و تشکر

با تشکر از پرسنل کلینیک دامپزشکی بخش خصوصی شهرستان دورود در معرفی نمونه های اسب مشکوک به بیماری

طی مطالعه ای که در اسب های مغولی در سال ۲۰۰۳ به روش ELISA صورت گرفت میزان شیوع تریپانوزوم اکوئی پر دوم ۶/۷ درصد گزارش گردید. در مطالعه ی بیماری دورین روی الاغ در اتیوپی، میزان آلودگی به این انگل، ۶/۲۷ درصد اعلام شد که شیوع نسبتا پائینی می باشد (Mesele, and ., Leta., 2010)

در فلسطین، با ارزیابی نمونه های اخذ شده از اسب، الاغ و شتر، مشخص گردید که ۸۰ درصد شترها (۱۰ از ۱۰)، ۴۳ درصد از اسب ها (۳ از ۷) و ۴۶ درصد از الاغ ها (۱۶ از ۱۳) به T. evansi آلوده بوده اند که با روش بافی کوت مانند روش مطالعه حاضر انجام شده است (Berlin et al., 2010)

همه گیری بیماری دورین بین سالهای ۱۹۲۹ تا ۱۹۶۲ در برزیل، الجزایر، یونان،

منابع

- Ahmed, Y., Hagos, A., Merga, B., Van Soom, A., Duchateau, L., Goddeeris, B.M. & Govaere, J. (2018). *Trypanosoma equiperdum* in the horse – a neglected threat?. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. (87):66–75.
- Alemu, T., Luckins, A.G., Phipps, L.P., Reid, S.W.J., Holmes, P.H. (1997). The use of enzyme linked immunosorbent assays to investigate the prevalence of *Trypanosoma equiperdum* in Ethiopian horses. *Veterinary Parasitology*. (71): 239
- Anvari D, Firooz-Jahantighi F, Pishadast S, Hashemi SH.(2015). First report of *Trypanosoma equiperdum* infection of horse from Sarbaz city. In: Proceedings of the 3rd national congress of equine health and diseases, 29th April–1st May, Shiraz, Iran;. p. 41
- Berlin, D., Nasereddin, A., Azmi, K., Ereqat, S., Abdeen, Z., Baneth, G. (2010). Longitudinal study of an outbreak of *Trypanosome evansi* infection in equids and dromedary camels in Israel. *Veterinary Parasitology*. (174): 317-322.
- Chin S.W., Uppal P.K., Premaalatha B., Chandrawathani P., Norazura A.H. & Ramlan M. (2013). Freedom status of
- Clausen, P.H., Chuluun, S., Sodnomdarjaa, R., Greiner, M., Cauchard J., Soldan A., Madeline A., Johnson P., Buscher P., Petry S. (2014). Inter-laboratory ring trials to evaluate serological methods for dourine diagnosis. *Veterinary Parasitology*. (205): 70-76.
- Dehghani S.(2002). Swollen testicles in horses (Dourine). In: 3rd convention of Iranian veterinary clinicians, 29th–31st October, 2002, Mashhad, Iran
- Dhollander, S., Jallow, A., Mbodge, K., Kora, S., Sanneh, S., Gaye, M., Bos, J., Leak, S., Brekvens, D., and Geerts, S., (2006). Equine *Trypanosomosis* in the central riverdivision of the Gambia: a study of veterinary gate-clinic consultation records. *Preventive veterinary medicine*. (37):152-162.
- Gari, F.R., Ashenafi, H., Tola, A., Goddeeris, B.M., Claes, F. (2010). Comparative diagnosis of parasitological, serological, and molecular tests in dourine-suspected horses, *Tropical Animal Health and Production*. 42(8),1649-54
- Hagos, A., Goddeeris, B.M., Yilkal, K., Alemu, T., Fikru, R., Yacob, H.T., Feseha, G., Claes, F. (2010). Efficacy of Cymerlarsan and Diminasan against *Trypanosoma equiperdum* infections in mice and horses. *Veterinary Parasitology*. (171): 200-206
- Khalili K. (1973). An investigation of dourine and isolation of *Trypanosoma equiperdum* in Iran. *Arch Raz Inst*.(25):69–72
- Mesele, F., Leta, S. (2010). prevalence Rate of Tseste Transmitted Donkey *Trypanosomosis* in Dale Wabera District, Western Ethiopia, *Global Veterinaria*. 5 (3): 180-183.

- Murray, M., Trail, J.C.M., Turner, D. A., and Wissococq, Y.(1983). Livestock productivity and trypanotolerance. Network Training Manual, ILCA Addis Ababa(Ethiopia). 4-10
- MostafaloY.(1990).Seroepidemiological study of dourine in equids. DVM Thesis, University of Tehran, Iran
- Suganuma, K., Yamasaki, S., Molefe, N.I., Musinguzi, P.S., Davaasuren, B., Mossaad, E., Narantsatsral, S., Batur, B., Battsetseg, B. & Inoue, N. (2017). The establishment of in vitro culture and drug screening systems for a newly isolated strain of *Trypanosoma equiperdum*. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance.(7):200 – 205.
- Woo P.T.K. (1970). The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African Trypanosomoses. Acta Tropica(27): 384-386.

The first report of Dourine's disease in horses with suspected clinical forms of the disease in the rural villages of Dorood city, Lorestan province, Iran

Saeid Hashemi^{1*}, Meisam Salarvand²

1- Department of Parasitology, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran

2- Master of parasitology, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran

*- Corresponding Author's E.Mail : sa.hashemi1351@gmail.com

(Received: Agu. 2022 Accepted: Dec. 2022)

Abstract:

Dourine is a parasitic venereal disease of horses caused by the flagellated protozoan *Trypanosoma equiperdum* from the Trypanosomatida's order. This deadly disease, which existed in the past and is emerging again in Lorestan today, has not been investigated in Lorestan despite suspected cases. Therefore, for this purpose, venous blood samples (4 stallion samples and 9 mare samples) were collected from 13 suspected horses by referring to four villages on the outskirts of Dorood city, were collected from May 2020 to May 2021. The results of the field examination of the animal include fever of 38.5 ± 1 degrees Celsius, edema of the genital tract and rapid fatigue, and paleness of the eye mucosa, eye hyperemia (6 cases of fever and 2 cases of eye infection), cardiac tachycardia, and in one case of a stallion, a skin plaque with a diameter of 5 Centimeters were seen on the leg. From each horse, 20 ml of blood was taken from the Vedic vein, and the samples were analyzed by the method of preparing a slide from a buffy coat and measuring the hematocrit in a capillary tube. Out of 13 horses studied, 7 cases showed a hematocrit of $32 \pm 1\%$. The average hematocrit was $28\% \pm 1$ in 4 stallions and $30\% \pm 1$ in 3 mares. The trypomastigote forms of the parasite *Trypanosoma equiperdum*, with an average absolute frequency of the disease of 23.07%, were seen in three samples

Keywords: Dourine, horse, Buffycoat, Dorood