



Case report

## Occurrence of severe mucosal form of contagious ecthyma in mature sheep

**• Bakhshesh, Mehran** \*

Department of Animal Virology, Research and Diagnosis, Razi Vaccine and Serum Research Institute (AREEO), Karaj, Iran.

**• Erfani, Amir Mahdi**

Veterinary Organization, Zanjan Province, Zanjan, Iran.

**• Yarigholi, Majid**

Veterinary Organization, Zanjan Province, Abhar, Iran.

**• Javadi, Amir**

Veterinary Organization, Qazvin Province, Qazvin, Iran.

**• Rabiee, Mohammad Hasan** 

Department of Epidemiology, Razi Vaccine and Serum Research Institute (AREEO), Karaj, Iran.

Received: 2024-04-14      Accepted: 2024-05-15

Revised: 2024-06-09      Published: 2024-12-02

\*Email: M.Bakhshesh@rvsri.ac.ir

### Abstract

Contagious Ecthyma (Orf), a worldwide distributed zoonotic viral disease of sheep and goat, has significant economic impacts. The disease is frequently referred to by the term "proliferative skin lesions outside the buccal cavity of young animals". This report details the occurrence of the severe mucosal form of contagious ecthyma in mature sheep. The disease was observed in a number of mature animals in a sheep flock that exhibited increased heart and respiratory rates, as well as highly disseminated erosive lesions on the tongue, dental pad, gums and interior face of the lips. Given the clinical indications of contagious ecthyma, sample specimens from the mucosal lesions was collected and subjected to molecular virology test (PCR) that tentatively confirmed diagnosis of contagious ecthyma in the sheep flock. The sick sheep that were treated with supportive therapy and care eventually recovered from the disease.

Investigations revealed the affected sheep grazed on poor pasture containing thorny *Astragalus* and *Rosa persica*, which may have facilitated the mucosal form of the disease manifested. This was likely exacerbated by the drought. This report underscores the significance of the contagious ecthyma virus in pathogenesis of oral mucosal lesions, which must be distinguished from those of similar mucosal diseases.

**Key words:** *Contagious Ecthyma; Oral Erosion; Thorny Plants; PCR*



گزارش موردی

## رخداد فرم شدید مخاطی اکتیمای واگیر در گوسفندان بالغ

### • مهران بخشش \*<sup>ID</sup>

بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های ویروسی دام، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج.

### • امیرمهدی عرفانی

اداره کل دامپزشکی استان زنجان؛ زنجان

### • مجید یاری‌قلی

اداره کل دامپزشکی استان زنجان؛ ابهر

### • امیر جوادی

اداره کل دامپزشکی استان قزوین؛ قزوین

### • محمدحسن ربیعی <sup>ID</sup>

بخش اپیدمیولوژی و کارآزمایی بالینی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج.



تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۰۱-۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۰۳-۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳-۰۳-۰۶ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳-۱۰-۰۱

\*Email: M.Bakhshesh@rvsri.ac.ir

### چکیده

اکتیمای واگیر (آرف) بیماری ویروسی شایع گوسفند و بز در سرتاسر جهان با اهمیت اقتصادی بسیار بالاست که قابلیت سرایت به انسان را نیز دارد. بیماری غالباً با ضایعات پرولیفراتیو پوستی اطراف دهان در دام‌های جوان شناخته می‌شود. در این گزارش وقوع فرم مخاطی شدید اکتیمای واگیر در گوسفندان بالغ ارائه می‌گردد. بیماری در تعدادی از دام‌های بالغ یک گله گوسفند با علائم افزایش تعداد تنفس و ضربان قلب و ظهور ضایعات مخاطی روزیو بسیار گسترده بر روی زبان، پد دندان، لثه و قسمت‌های داخلی لب و مشاهده گردید. با توجه به تشخیص بالینی مبنی بر وقوع احتمالی بیماری اکتیما در گله، از ضایعات مخاطی دام‌های مبتلاء نمونه‌برداری که با انجام آزمایش ویروس شناسی مولکولی (PCR)، ابتلاء گوسفندان به اکتیما واگیر مورد تأیید آزمایشگاهی نیز قرار گرفت. با اقدامات درمانی حمایتی که در گله صورت گرفت، تمام دام‌های مبتلاء نهایتاً بهبود یافتند.

بررسی‌های انجام گرفته مشخص نمود که تغذیه گوسفندان مبتلاء از مراتع فقیر واجد گیاهان خاردار ورک (رز ایرانی) و گون احتمالاً به‌عنوان عامل مستعد در بروز شکل مخاطی بیماری مؤثر بوده است. این گزارش اهمیت ویروس اکتیمای واگیر در ایجاد ضایعات مخاطی درون حفره دهان و در نتیجه تفریق آن از سایر بیماری‌های مخاطی مشابه را مورد تأکید قرار می‌دهد.

کلمات کلیدی: اکتیما واگیر؛ روزیون دهانی؛ گیاهان خاردار؛ پی سی آر.

دهانی ۱۰ رأس از دام‌های گله در ناحیه پد دندان، لثه، قسمت داخلی لب و بویژه زبان مشاهده گردید (شکل ۱). کاهش نسبی اشتها در تمام مبتلایان و ریزش بزاق متعاقب جراحات دهانی به درجات مختلف در تعدادی از مبتلایان دیده شد. تب (حداکثر ۴۰٫۲ درجه سانتی‌گراد) در ۳ رأس از مبتلایان متعاقب پیشرفت ضایعات دهانی ثبت گردید. تمام مبتلایان به درجاتی علائم افزایش ضربان قلب و تنفس را نشان داده و در یک مورد نیز ادم ناحیه صورت مشاهده شد. هیچگونه ضایعه پوستی مشکوک به بیماری آبله در نواحی کم موی بدن نظیر کشاله ران، زیر دنبه و زیر بغل دام‌های گله مبتلاء مشاهده نگردید. همچنین بیماری در بره‌های شیرخوار که چرای مرتعی نداشتند علیرغم مشترک بودن محل نگهداری دام‌های بالغ و شیرخوار، مشاهده نشد.

به دلیل خشکسالی گوسفندان از مرتع فقیر حاوی گیاهان خشن و خار دار نظیر ورک (رز ایرانی) (*Rosa persica*) و گون (*Astragalus*) تغذیه می‌کردند. تغذیه با این گیاهان، می‌تواند با بروز زخم‌های سرسوزنی در دهان، ورود ویروس به لایه اپیتلیال مخاط دهان را تسهیل و در نتیجه بعنوان فاکتور خطر در آسیب‌شناسی بیماری در نظر گرفته شوند. شکل ۲ تصویر گیاهان خاردار ورک (رز ایرانی) و گون که مورد تغذیه گوسفندان مبتلا قرار می‌گرفت را نشان می‌دهد.

با اقدامات درمانی حمایتی صورت گرفته شامل استفاده از آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین ۲۰ درصد، فلونکسین مگلو مین، محلول موضعی میرتوت و ویتامین A تزریقی، مبتلایان طی ۴ هفته پس از مشاهده اولین مورد بیماری در گله، تمام مبتلایان بهبود یافتند.

### تائید آزمایشگاهی

متعاقب بررسی‌های بالینی انجام گرفته نمونه بافتی از ضایعات مخاطی برداشت و در محیط تامپون بافر فسفات واجد آنتی‌بیوتیک و با رعایت شرایط زنجیره سرد برای بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های ویروس دام مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ارسال گردید.

در آزمایشگاه ژنوم ویروس با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن (DNPTM Kit) High yield DNA purification Kit انجام گرفت.

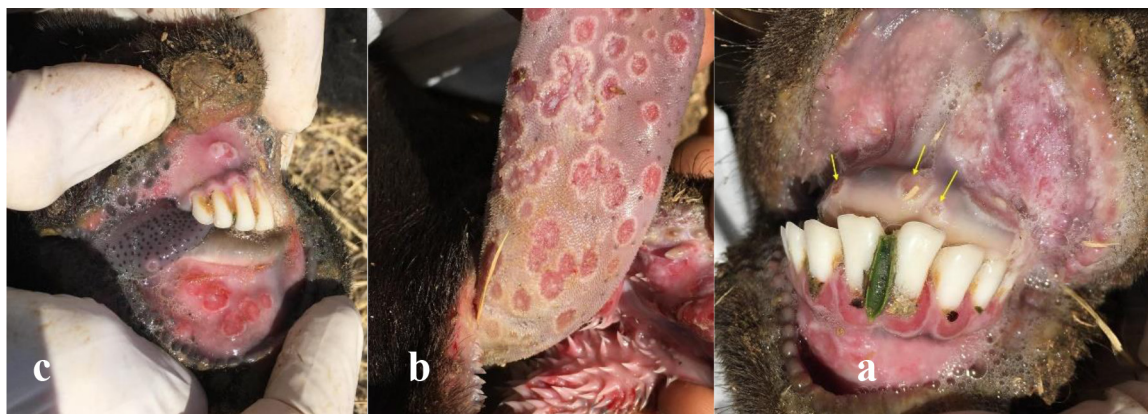
### مقدمه

اکتیمای واگیر (*Contagious Ecthyma*) یا اُرف (*Orf*) یک بیماری ویروسی با گسترش جهانی و اهمیت اقتصادی بسیار بالا در گوسفند و بز و بعضاً سایر نشخوارکنندگان نظیر شتر می‌باشد که قابلیت سرایت به انسان را نیز دارد (۱). ویروس عامل بیماری که در جنس پاراپاکس ویروس (*Parapoxvirus*) از خانواده پاکس ویریده (*Poxviridae*) طبقه‌بندی می‌شود بشدت بیماریزا است و در شرائط خارج از بدن دام مدت‌ها دوام داشته و قابلیت سرایت به دام‌های حساس را دارد (۲). بیماری در کشور ایران بومی است و مطالعاتی در زمینه تشخیص و فیلوژنی ویروس عامل آن در کشور انجام شده است (۳-۷).

ویروس غالباً از طریق خراش‌های پوستی منتقل می‌شود. ضایعات اولیه که معمولاً غیر قابل رؤیت هستند بصورت پاپول و سپس پوستول بروز می‌کنند و بتدریج بصورت افزایشی (*Proliferative*) گسترش یافته و بشکل گرانولوم (*Granulation*) و آماس که با پوسته‌های مقاوم (*Scab*) احاطه می‌شود، جلب توجه می‌کنند. ضایعات بطور کلاسیک ابتدا در ناحیه بین مخاط دهان و اپیتلیوم لب‌ها شروع و به سمت پوزه و منخرین گسترش می‌یابد (۸-۱۱). ضایعات پرولیفراتیو درون حفره دهان بویژه بر روی لثه، زبان و همچنین مرز لثه و دندان‌ها که بعضاً بصورت زخم و اروزیون در می‌آید نیز در بره‌های شیرخوار گزارش شده است (۱). در این گزارش، ظهور ضایعات دهانی غیر معمول و شدید ناشی از اکتیمای واگیر در گوسفندان بالغ ارائه می‌شود. اهمیت گزارش به دلیل مشاهده ضایعات اروزیو در حفره دهانی و بویژه زبان غالب مبتلایان بود که بعلت شباهت با سایر بیماری‌های مخاطی نظیر تب برفکی، طاعون نشخوارکنندگان کوچک (PPR)، آبله، زبان آبی و ... بایستی در تشخیص تفریقی مورد توجه کلینیسین‌های دامپزشک قرار گیرد.

### توصیف بیماران

بیماری در یک گله گوسفند ۵۲ رأسی نژاد افشاری در شهرستان ابهر واقع در استان زنجان در شهریور ماه سال ۱۴۰۰ مشاهده گردید. در معاینات بالینی، وجود ضایعات اروزیو (*Erosive*) غیر معمول و گسترده در محوطه



شکل ۱- تصویر ضایعات اروزیو ناشی از ویروس اکتیما، (a) در سطح زبان، (b) پد دندان، لثه و (c) قسمتهای داخل لب مشاهده می‌گردد.



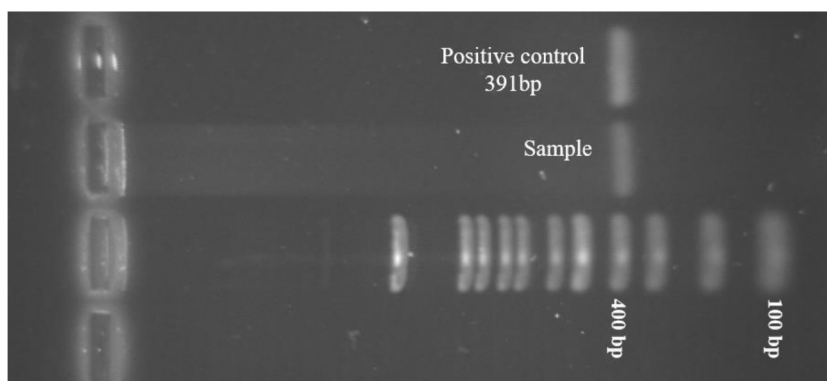
سانتی‌گراد مدت ۳۰ ثانیه صورت گرفت. محصول PCR بدست آمده همراه با نمونه کنترل مثبت بر روی ژل آگاروز ۱٫۲٪ حاوی (Safe stain biotechrabbit, Germany)، همراه مارکر bp ۱۰۰ بار گزاری و الکتروفورز گردیدند.

پس از الکتروفورز و قرار دادن ژل در معرض اشعه UV در دستگاه ژل داک، قطعه DNA تکثیر شده به طول مورد انتظار ۳۹۱ bp در کنار قطعه کنترل مثبت موجود در بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های ویروسی دام مؤسسه رازی مشاهده گردید (شکل ۳).

آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای معرفی شده توسط Kottaridi و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت (۱۲). توالی پرایمرهای طراحی شده بر روی ژن ۱-VLTF عبارتند از: Forward: CCACTTCTCGGAGTTCAGC و Reverse: GCAGCACTTCTCCTCGTAG که هر یک به میزان ۱۰ pmol همراه با ۲ μL از DNA تخلیص شده و ۱۲٫۵ μL از ماستر میکس شرکت سیناژن در حجم نهائی ۲۵ μL انجام شد. برنامه حرارتی PCR فوق با شروع ۹۵ درجه سانتی‌گراد مدت ۲ دقیقه و ۳۰ سیکل حرارتی شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد مدت ۴۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد مدت ۱۵ ثانیه و تکثیر نهائی ۷۲ درجه



شکل ۲- تصویر گیاهان خاردار مورد استفاده گوسفندمن مبتلاء، (a) گون و (b) ورک (رز ایرانی).



شکل ۳- محصول PCR ایجاد شده بر روی ژن ۱-VLTF نمونه ضایعات دهانی ناشی از اکتیمای واگیر بطول ۳۹۱ bp در کنار نمونه کنترل مثبت مشاهده می‌گردد.

## منابع مورد استفاده

1. Constable PD, Hinchcliff KW, Stanley HD, Gruenberg W. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 11th Edition, Missouri, USA: Elsevier. 2017.
2. Maclachlan NJ, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR. *Fenner's veterinary virology*. 5th Edition. London, UK: Academic Press/ Elsevier, 2017.
3. Esmacili H, Ghorani M, Arani EB, Shakeri AP. Detection of contagious ovine ecthyma (orf) and risk factors for infection in small ruminants in Iran. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2021;79:101714.
4. Oryan A, Mosadeghesari M, Zibae S, Mohammadi A. Identification and phylogenetic analysis of contagious ecthyma virus from camels (*Camelus dromedarius*) in Iran. *The Onderstepoort J Vet Res*. 2017;84(1):e1-e5.
5. Ehsan Saeidi FK. Contagious Puſtular Dermatitis in a Wild Sheep (*Ovis orientalis*) in Iran. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2023;29(3):311-5.
6. Kazemi Asl SA, Aslani MR, Mohebbi A, Mokhtari A. Hematological and biochemical evaluation of goats naturally infected with contagious ecthyma. *IJVST*. 2018;10(2):43-7.
7. Gharib Mombeni E, Mombeini M, Varshovi HR, Khalaj M, Kearnakohi M, Goudarzi M. Outbreak of contagious ecthyma in camels (*Camelus dromedarius* and *Camelus bactrianus*) in Southwest Iran. *Rev Elev Med Vet Pays Trop*. 2013;66:113-5.
8. Spyrou V, Valiakos G. Orf virus infection in sheep or goats. *Vet Microbiol*. 2015;181(1-2):178-82.
9. McElroy MC, Bassett HF. The development of oral lesions in lambs naturally infected with orf virus. *TVJ*. 2007;174(3):663-4.
10. Lawan Z, Bala J, Bukar A, Balakrishnan K, Mangga H, Jesse A FF, et al. Contagious ecthyma: how serious is the disease worldwide? *Anim Health Res Rev*. 2021;22:1-16.
11. Baird AN, Baird DK. Oral-Esophagal diseases. 'In: *Sheep and Goat Medicine*' 2nd Edition. Edited by Pugh DG, Baird AN, Missouri, USA: Saunders/Elsevier, 2012.
12. Kottaridi C, Nomikou K, Lelli R, Markoulatos P, Mangana O. Laboratory diagnosis of contagious ecthyma: comparison of different PCR protocols with virus isolation in cell culture. *J Virol Methods*. 2006;134(1-2):119-24.
13. Kinley GE, Schmitt CW, Stephens-Devalle J. A Case of Contagious Ecthyma (Orf Virus) in a Nonmanipulated Laboratory Dorset Sheep. *Case reports vet med*. 2013;2013:210854.
14. Nazir QUA, Goswami PG, Yatoo MI, Amin U, Bashir SH, Sheikh GN and Dar A.A. Contagious ecthyma associated patho-

## بحث و نتیجه گیری

در این مقاله گزارش تأیید شده رخداد شدید و غیر معمول ضایعات اروزیو (Erosive) درون حفره دهان در اثر ویروس اکتیمای واگیر گله گوسفندان بالغ ارائه گردید. بروز ضایعات اروزیو همراه با ضایعات پرولفراتیو (Proliferative) و زخم (Ulcer) درون حفره دهان در اثر ابتلاء به ویروس اکتیمای واگیر در بره‌ها در مراجع علمی محتمل دانسته شده است (۱۰، ۸، ۱). و در این راستا تظاهرات بالینی ناشی از ویروس اکتیما بصورت ضایعات پرولفراتیو درون حفره دهان که غالباً در بره‌ها و با بروز ضایعات در نواحی خارج از حفره دهانی همراه است، مورد توجه محققین بوده و موارد آن در قالب مقالات گزارش گردیده است (۱۷-۱۳، ۹). در انطباق با این گزارشات، در یک مطالعه تجربی نیز تلقیح ویروس وحشی اکتیما بصورت درون جلدی (Intradermal inoculation) در نواحی لب‌ها و لته بره‌ها موجب ظهور ضایعات پرولفراتیو در مخاط دهان گردید. در حالی که تلقیح زیر جلدی (Subcutaneous) ویروس در ناحیه گوشه لب و تلقیح به روش تخریش (Scarification) در ناحیه لب‌ها موجب گسترش ضایعات به درون حفره دهان نگردید (۱۸). با در نظر گرفتن این مستندات، علائم بالینی ذکر شده در این گزارش که بطور غیر عادی در گوسفندان بالغ مشاهده گردید پدیده‌ای مهم و قابل ملاحظه است که ایجاب می‌نماید در صورت بروز موارد مشابه، عارضه از جنبه‌های مختلف توسط متخصصین اهل فن و مسئولین ذیربط مورد تبیین و بررسی قرار گیرد.

همچنین با توجه به شباهت بسیار زیاد ضایعات اروزیو (Erosive) درون حفره دهان به سایر بیماری‌های مخاطی، تشخیص تفریقی بیماری‌های با علائم درمانگاهی مشابه با در نظر گرفتن تاریخچه و اپیدمیولوژی بیماری و نهایتاً تأیید قطعی آزمایشگاهی صورت پذیرد. در بررسی نقش عوامل مستعدکننده احتمالی، عواملی نظیر خشکسالی و بالتبع آن تغذیه با گیاهان خشن و خاردار در بروز و شدت این نوع ضایعات در دام‌های مبتلا بایستی در تجزیه و تحلیل‌های بالینی و اپیدمیولوژیکی و تشدید خسارات اقتصادی ناشی از ویروس اکتیمای واگیر در سطح ملی مورد تأمل و تحقیق قرار گیرد.

کشور ایران واجد جمعیت قابل ملاحظه‌ای از دام‌های حساس به ویروس اکتیما شامل گوسفند و بز و شتر می‌باشد و در نتیجه وقوع آنزوتوتیک و در مواردی اپیزوتوتیک بیماری اکتیمای واگیر، دامداران روستائی و در نتیجه اقتصاد کشور در سطح کلان متحمل خسارت سنگین ناشی از بیماری می‌گردند. لذا انجام مطالعات جامع در زمینه تعیین هویت ویروس یا ویروس‌های عامل، آسیب‌شناسی و اپیزوتولوژی بیماری اکتیمای واگیر در کشور و سپس ارائه راهکار در جهت پیشگیری و کنترل آن پیشنهاد می‌گردد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از اداره کل دامپزشکی استان زنجان و بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های ویروسی دام مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی بابت همکاری در نمونه‌برداری و انجام آزمایشات تأییدی اعلام می‌نمایند.

logical changes in sheep and goats in Jammu & Kashmir, India. J Pharmacogn Phytochem 2021;10(3S):40-4.

15. Sonawane G, Tripathi BN, Riyesh, Barua S, Singh F, Obli Rajendran V, et al. Clinico-Pathological features and management of an outbreak of contagious ecthyma in an organized goat farm in Rajasthan. Indian J Small Rumin. 2015;21:264-8.

16. Bouznach A, Hahn S, Stram Y, Menasherov S, Edery N, Shicaht N, et al. Case Report: Contagious Ecthyma - Deviations in the Anatomical Appearance of Lesions in an Outbreak in Lambs in

Israel. Isr J Vet Med. 2013;68:246-51.

17. Shivaraju s, Mohan D, E K, Maiti S, Gv P. Successful clinical management of contagious ecthyma (Orf) in goat: A case report. Int. J Vet Sci Anim Husb. 2021;6:40-2.

18. Lacařta D, Cuadra M, Gómez A, Ortín A, Ruiz de Arcaute M, Ramos JJ, et al. Comparative study of three different routes of experimental inoculation of the orf virus. Small Rumin Res.. 2024;233:107248.

