دانشکده دامپزشکی

پایان‌نامه دکتری تخصصی در رشته پاتولوژی دامپزشکی

مطالعه آسیب شناسی و تشخیص مولکولی بیماری اکتیمای واگیر در گوسفند و بز در استان فارس

به کوشش

سیده آیدا داوری

استادان راهنما

دکتر منصور سیاری

دکتر علی محمدی

شهریور ماه ۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

بنام خدا

اظهارنامه

اینجانب سیده آیدا داوری دانشجوی رشته دامپزشکی گرایش پاتولوژی دانشکده دامپزشکی اظهار می کنم که این پایان نامه حاصل پژوهش خودم بوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده ام، نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته ام. همچنین اظهار می کنم که تحقیق و موضوع پایان نامه ام تکراری نیست و تعهد می نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق با آیین نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام خانوادگی: سیده آیدا داوری

تاریخ و امضا: ۱۳۹۲/۶/۱۶

به نام خدا

مطالعه آسیب شناسی و تشخیص مولکولی بیماری اکتیمای واگیر در گوسفند و بز در استان فارس

به کوشش

سیده آیدا داوری

پایان نامه

ارائه شده به معاونت تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی

از فعالیت های تحصیلی لازم جهت اخذ درجه دکترای تخصصی

در رشته ی:

پاتولوژی دامپزشکی

از دانشگاه شیراز

شیراز- جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته پایان نامه با درجه ی: عالی

دکتر منصور سیاری، دانشیار پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز (استاد راهنما و رئیس کمیته داوران).....

دکتر علی محمدی، دانشیار ویروس شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز (استاد راهنما و رئیس کمیته داوران).....

دکتر عزیزاله خداکرم تفتی، استاد پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز (استاد مشاور).....

دکتر مهرداد پورجعفر، دانشیار بیماری های داخلی دامهای بزرگ دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز (استاد مشاور).....

دکتر احمد عریان، استاد پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز (داور).....

دکتر محمد معتمدی فر، استاد میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز (داور).....

شهریور ماه ۱۳۹۲

تقدیم به:

پدر عزیز، دوست داشتنی و پشتیبان همیشگیم که دقت، درست نگریستن و صبر کردن در سختی ها را از پیشگاه او آموخته و می آموزم.

مادر مهربان و عزیزم که قلبم سرشار از محبتش است و با صبر و حوصله ای وصف ناپذیر و دلسوزی های مادرانه اش شیوه صحیح زندگی را به من آموخته و می آموزد.

همسر عزیز و مهربانم، دکتر امیر فامیلی که گرمای عشق او انگیزه زندگی را همواره در من زنده نگه می دارد و با تمام وجود پشتیبان من در رسیدن و پیمودن پله های ترقی بوده است.

خواهر مهربانم، مهندس سیده درسادا وری که یار و یاور من بوده و موفقیت و پیشرفت او در تمامی مراحل زندگی آرزوی همیشگی من است.

دایی بزرگوار و عزیزم، جناب آقای دکتر فرزین هروی و همسر پر مهرشان که همواره مشوق، راهنما و الگوی زندگی من بوده اند. موفقیت روز افزونشان را از خداوند منّان خواستارم.

سپاسگزاری

با تقدیر و تشکر فراوان از :

استاد عزیز و گرامی **جناب آقای دکتر منصور سیاری** که علاوه بر استادی بنده در تمامی این سال ها به مانند پدری مهربان همواره راهنمای من بوده اند.

استاد عزیز و گرانقدر **جناب آقای دکتر علی محمدی** که شاگردی ایشان آموختنی های علمی و اخلاقی بسیاری را برایم به ارمغان آورد و بعنوان راهنما هدایت این پایان نامه را بر عهده داشته اند.

استاد عزیز و ارجمند **جناب آقای دکتر عزیز الله خدا کرم تفتی** که زحمت مشاوره این پایان نامه را بر عهده داشته و سال های طولانی است که افتخار شاگردی در محضرشان را دارم.

استاد گرامی **جناب آقای دکتر مهرداد پورجعفر** که با اخلاق نیکو و دانش فراوانشان مشاورت این پایان نامه را بر عهده گرفتند.

استاد گرامی و محقق **جناب آقای دکتر احمد عریان** که پذیرش داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند و سال های طولانی است که افتخار تلمذ در محضرشان را دارم.

استاد بزرگوار **جناب آقای دکتر محمد معتمدی فر** به پاس بذل توجه ایشان در تصحیح و داوری پایان نامه اینجانب.

با سپاس از جناب آقای شیروانی، جناب آقای یوسفی، جناب آقای زارع، جناب آقای شمشیری و سایر پرسنل مهربان و دوست داشتنی بخش پاتوبیولوژی.

کارمندان محترم اداره کل دامپزشکی استان فارس و شبکه دامپزشکی شیراز

کلیه مسئولین، اساتید و کارکنان دانشکده دامپزشکی و دانشگاه شیراز

چکیده

مطالعه آسیب شناسی و تشخیص مولکولی بیماری اکتیمای واگیر در گوسفند و بز در استان فارس

به کوشش
سیده آیدا داوری

این پژوهش به منظور مطالعه آسیب شناسی و تشخیص مولکولی بیماری اکتیمای واگیر با روش PCR و تفریق آن از بیماری های آبله گوسفندی– بزی و طاعون نشخوارکنندگان کوچک، تعیین توالی نوکلئوتیدی محصول PCR و مقایسه آن با بانک ژن در ۵۰ راس گوسفند و بز (به تعداد مساوی) مشکوک به اکتیمای واگیر در مناطق درگیر استان فارس انجام گرفت. ۵۰ نمونه بافتی جمع آوری شده از گوسفندان و بزهای مشکوک به این بیماری همگی به صورت ضایعات پوستی (در پوزه و یا بر روی لثه) بودند که هر نمونه به دو قسمت تقسیم گردید و با حفظ مشخصات میزبان، نیمی از نمونه به منظور مطالعه آسیب شناسی در فرمالین بافر ۱۰٪ و نیم دیگر به منظور انجام PCR در فریزر $-۷۰^{\circ}C$ نگهداری شد. سپس نمونه های داخل فرمالین پس از طی مراحل لازم جهت تهیه مقاطع، مورد ارزیابی هیستوپاتولوژیک قرار گرفتند و نتایج حاصل از آن حاکی از مثبت بودن کلیه نمونه های مشکوک به اکتیمای واگیر از لحاظ این بیماری بود. نمونه های فریز شده نیز پس از پودر شدن توسط ازت مایع مجددا به دو بخش تقسیم شدند که بخشی از آن ها جهت استخراج DNA و بخش دیگر برای استخراج RNA مورد استفاده قرار گرفتند و تا زمان انجام PCR مجددا در فریزر $-۷۰^{\circ}C$ قرار داده شدند. به این ترتیب، برای هر نمونه پروتکل های جداگانه PCR جهت تشخیص ویروس های ارف، آبله و طاعون نشخوارکنندگان کوچک انجام گرفت. نتایج حاصل از بررسی مولکولی، وجود ۲۵ نمونه مثبت از ۵۰ نمونه (۵۰٪) از لحاظ بیماری اکتیمای واگیر با طول باند ۳۹۳ bp بود. همچنین تعداد ۴ نمونه از ۵۰ نمونه (۸٪) از لحاظ بیماری آبله گوسفندی و بزی مثبت تشخیص داده شدند و باند ۴۴۶ bp ایجاد نمودند که از این بین، ۲ نمونه از لحاظ ویروس ارف نیز مثبت شدند. تنها یک نمونه از ۵۰ نمونه (۲٪) با باند ۳۵۳ bp طاعون نشخوارکنندگان کوچک (PPR) تشخیص داده شد. بنابراین نتایج حاصل از بررسی مولکولی، نیمی از نمونه های اکتیما مثبت توسط روش هیستوپاتولوژی را تایید نمود اما در هیستوپاتولوژی شاخص های تشخیصی بیماری های آبله و PPR مشاهده نشد و نمونه های مثبت حاصل از PCR مربوط به این دو بیماری

اکتیما تلقی شدند. بنابراین قادر به تفریق این بیماری ها از اکتیما نبود. کلیه نمونه های مثبت آبله و PPR همراه با ۵ نمونه مثبت قطعی از لحاظ ویروس ارف (توسط PCR با آغازگرهای 045) و نیز ۱۰ نمونه مثبت ویروس ارف (توسط PCR با آغازگرهای 059) جهت تعیین توالی نوکلئوتیدی بررسی شدند و نتایج حاصل از آن ها با اطلاعات موجود در بانک ژن مقایسه گردید. بدین ترتیب ۵ ایزوله مختلف از ۵ نمونه اکتیما مثبت توسط آغازگرهای 045 حاصل شدند که ایزوله های Orf-Shiraz1-5 نام گرفتند و در بانک ژن نیز ثبت گردیدند و سپس مطالعه فیلوژنتیکی بر روی آن ها انجام پذیرفت. هر چهار نمونه مثبت آبله نیز در سویه ای تحت عنوان Pox- Shiraz 1 قرار گرفتند و تنها نمونه PPR مثبت نیز در سویه ای به نام PPR-Shiraz 1 قرار گرفت و در بانک ژن ثبت شدند. سویه ای تحت عنوان Orf-059-Shiraz نیز از تعیین توالی ۱۰ نمونه مثبت اکتیما توسط PCR با آغازگرهای 059 حاصل شد که در بانک ژن ثبت گردید و مورد مطالعه فیلوژنتیکی قرار گرفت. ویروس های ارف، آبله و PPR نقش مهمی در ایجاد دلمه ها و ضایعات پرولیفراتیو در ناحیه دهانی نشخوارکنندگان کوچک در ایران از جمله استان فارس دارند. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر سهم ویروس ارف، در این زمینه در دام های زیر یکسال بیشتر از دو ویروس دیگر می باشد. همچنین آنالیزهای فیلوژنتیکی پژوهش حاضر وجود تعدد سویه و موتاسیون در ژن 045 ویروس ارف را تایید نمود. استفاده از روش های مولکولی نظیر PCR در کنار هیستوپاتولوژی می تواند به تشخیص سریع، دقیق و کم هزینه ویروس ارف و تفریق ان از بیماری های مشابه در نمونه های کلینیکی مناطق اندمیک کمک نماید.

کلید واژه: اکتیمای واگیر، ضایعات هیستوپاتولوژی، تشخیص مولکولی، بز و گوسفند

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه **۲**

فصل دوم : کلیات

۲-۱- تعریف بیماری ۵

۲-۲- تاریخچه ۶

۲-۳- اهمیت اقتصادی ۸

۲-۴- اهمیت بهداشت عمومی ۱۰

۲-۵- اتیولوژی (سبب شناسی) ۱۱

۲-۵-۱- رده بندی ویروس ۱۱

۲-۵-۲- ساختار ویروس ۱۲

۲-۵-۳- ژنوم ویروس ارف و پروتئین ها ۱۳

۲-۵-۴- خصوصیات ویروس ارف ۱۵

۲-۵-۵- همانندسازی ویروس ارف ۱۶

۲-۶- اپیدمیولوژی ۱۸

۲-۷- بیماری زایی ۱۹

۲-۸- نشانه های بالینی ۲۱

۲-۹- نشانه های کالبدگشایی ۲۴

عنوان **صفحه**

۲-۱۰- نشانه های هیستوپاتولوژیک ۲۵

۲-۱۱- تشخیص تفریقی ۲۸

۲-۱۲- تشخیص ۳۰

۲-۱۳- کنترل و پیشگیری ۳۲

۲-۱۴- درمان ۳۴

۲-۱۵- کلیاتی در رابطه با بیماری آبله گوسفندی و بزی ۳۵

۲-۱۶- کلیاتی در رابطه با بیماری طاعون نشخوارکنندگان کوچک (PPR)..... ۳۹

فصل سوم : مواد و روش کار

۳-۱- مواد و وسایل مورد نیاز ۴۵

۳-۱-۱- مواد و وسایل اولیه مورد نیاز برای انجام آزمایش ها ۴۵

۳-۱-۲- مواد و وسایل لازم جهت تهیه اسلایدهای هیستوپاتولوژی ۴۶

۳-۱-۳- مواد و وسایل لازم جهت استخراج DNA از نمونه های پوستی ۴۶

۳-۱-۴- مواد و وسایل لازم جهت رسوب DNA های استخراج شده ۴۶

۳-۱-۵- مواد و وسایل لازم جهت استخراج RNA از نمونه های پوستی ۴۷

۳-۱-۶- مواد و وسایل لازم جهت مرحله RT ۴۷

۳-۱-۷- مواد و وسایل لازم جهت مرحله PCR ۴۷

۳-۱-۸- مواد و وسایل لازم جهت الکتروفورز محصول PCR ۴۸

۳-۲- روش کار ۴۸

۳-۲-۱- جمع آوری نمونه ۴۸

۳-۲-۲- روش کار برای بررسی هیستوپاتولوژی ۴۹

۳-۲-۳- روش کار برای واکنش زنجیره پلی مراز ۵۰

۳-۲-۳-۱- استخراج DNA ۵۰

عنوان **صفحه**

۳-۲-۳-۲- رسوب DNA با استات سدیم و اتانول ۵۱

۳-۲-۳-۳- واکنش زنجیره پلی مراز (PCR) جهت تشخیص مولکولی ویروس..... ۵۲

۳-۲-۳-۳-۱- الکتروفورز ۵۴

۳-۲-۳-۳-۱-۱- طرز ساخت بافر الکتروفورز TAE با غلظت 5X ۵۴

۳-۲-۳-۳-۱-۲- آماده سازی ژل آگارز ۱٪ ۵۴

۳-۲-۳-۳-۱-۳- الکتروفورز محصول PCR ۵۵

۳-۲-۳-۴- PCR جهت تشخیص مولکولی ویروس آبله گوسفندی و بز ۵۵

۳-۲-۳-۵- استخراج RNA ۵۷

۳-۲-۳-۶- مرحله رونویسی معکوس (RT) ۵۷

۳-۲-۳-۷- PCR جهت تشخیص مولکولی ویروس طاعون
نشخوارکنندگان کوچک (PPR) ۵۸

۳-۲-۳-۸- تعیین توالی نوکلئوتیدی محصولات PCR ۵۹

۳-۲-۳-۸-۱- PCR با استفاده از آغازگرهای ۰۵۹ ..... ۶۰

۳-۲-۳-۸-۲- ارسال نمونه ها جهت تعیین توالی محصول PCR ۶۱

۳-۲-۳-۸-۳- تطبیق دادن توالی های نوکلوتیدی بدست آمده ۶۲

فصل چهارم : نتایج

۴-۱- ضایعات میکروسکوپی ۶۴

۴-۲- یافته های هیستوپاتولوژیک ۶۷

۴-۳- نتایج آزمون PCR و تعیین توالی نوکلئوتیدی جهت شناسایی ویروس..... ۷۲

۴-۴- نتایج آزمون PCR و تعیین توالی نوکلئوتیدی جهت شناسایی ویروس آبله
گوسفندی- بزی ۷۹

۴-۵- نتایج آزمون PCR و تعیین توالی نوکلئوتیدی جهت شناسایی PPR ۸۲

عنوان **صفحه**

فصل پنجم : بحث ۸۶

فهرست منابع و مآخذ ۱۰۱

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱- رده بندی ویروس های خانواده پاکس ویریده ۱۲

جدول ۲- مشخصات کلیه آغازگرهای مورد استفاده در PCR های پژوهش حاضر ۵۳

جدول ۳- برنامه دمایی واکنش PCR جهت تشخیص مولکولی ویروس ارف ۵۳

جدول ۴- برنامه دمایی واکنش PCR جهت تشخیص مولکولی
ویروس آبله گوسفندی-بزی ۵۶

جدول ۵- برنامه دمایی واکنش RT-PCR جهت تشخیص مولکولی ویروس PPR ۵۹

جدول ۶- برنامه دمایی واکنش PCR با استفاه از آغازگرهای 059 جهت تعیین توالی
نوکلئوتیدی ۶۱

جدول ۷- توزیع گونه و جنسیت در دام های مشکوک به درگیری
با بیماری اکتیمای واگیر ۶۶

جدول ۸- توزیع گروه سنی بر اساس گونه در دامهای مشکوک به درگیری
با بیماری اکتیمای واگیر ۶۶

جدول ۹- گروه بندی نمونه های مشکوک به اکتیمای واگیر در گوسفند و بز
بر اساس منطقه جغرافیایی، سن، جنس و محل وجود ضایعات ۶۶

جدول ۱۰- گروه بندی نمونه های مشکوک به اکتیمای واگیر بر اساس یافته های
هیستوپاتولوژی در گوسفند و بز ۶۹

جدول ۱۱- مقایسه توالی نوکلئوتیدی ۵ ایزوله ارف PCR شده توسط آغازگرهای ۰۴۵
با دو سویه مشابه موجود در بانک ژن..... ۷۴

عنوان **صفحه**

جدول ۱۲- مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن F1L سویه Orf-059-Shiraz
با دو سویه مشابه موجود در بانک ژن ۷۷
جدول ۱۳- مقایسه توالی نوکلئوتیدی سویه Pox-Shiraz 1 با دو سویه مشابه موجود در
بانک ژن ۸۱
جدول ۱۴- مقایسه توالی نوکلئوتیدی سویه PPR-Shiraz 1 با سه سویه مشابه موجود در
بانک ژن ۸۳
جدول ۱۵- گروه بندی تعداد نمونه های مثبت از نظر بیماری های اکتیما، آبله و PPR بر
اساس یافته های هیستوپاتولوژی و PCR در گوسفند و بز ۸۴

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱- تصویر شماتیک ویریون ویروس های جنس پاراپاکس ۱۳

شکل ۲- تصویر شماتیک روند همانندسازی ویروس ارف ۱۷

شکل ۳- ساختار میکروسکوپ الکترونی ویریون ویروس ارف ۲۸

شکل ۴- تصویر شماتیک ساختار ویروس طاعون نشخوارکنندگان کوچک ۳۹

شکل ۵- وجود دلمه های خشک به صورت چندتایی در لب بالا و پایین و نیز
در محل شکاف لب ها در یک بز بالغ ۶۵

شکل ۶- فرم زگیل مانند و پرولیفراتیو شدید اکتیمای واگیر در لثه بره ای
۳ ماهه در مرودشت ۶۵

شکل ۷- افزایش ضخامت پوست تا چندین برابر حالت طبیعی در گوسفند بالغ
مبتلا به اکتیمای واگیر همراه با هیپرپلازی سلول های بازال و کشیدگی انشعابات
طویل از اپیدرم به داخل درم ۶۷

شکل ۸- هیپرپلازی سلول های خاردار(آکانتوز)همراه با دژنرسانس آبکی
و واکوئله شدن این سلول ها در پوست بزغاله دو ماهه مبتلا به اکتیمای واگیر ۶۸

شکل ۹- افزایش ضخامت بافت پوششی در اثر هیپرپلازی سلول های اپیدرم
همراه با دژنرسانس آبکی و تجمع کانونی نوتروفیل ها به صورت پوستول.....۶۹

شکل ۱۰- تجمع سلول های آماسی تک هسته ای با غالبیت لنفوسیت
و ماکروفاژ همراه با ادم که جایگزین ناحیه درم پوست بز مبتلا به اکتیمای واگیر شده اند..... ۷۰

عنوان **صفحه**

شکل ۱۱- وجود سلول های دجنراتیو متورم(پیکان)در لایه خاردار پوست بره سه ماهه همراه با گنجیدگی های ائوزینوفیلیک درون سیتوپلاسمی متعدد در کراتینوسیت های درگیر ۷۰

شکل ۱۲- وجود گنجیدگی ائوزینوفیلیک درون سیتوپلاسمی در کراتینوسیت های دچار دژنرسانس آبکی همراه با نکروز و آپپتوز شدید این سلول ها ۷۱

شکل ۱۳- الکتروفورز (ژل آگارز 1%) قطعه تکثیر شده از DNA ویروس ارف با آغازگرهای 045 ..... ۷۲

شکل ۱۴- درخت فیلوژنی رسم شده بر طبق روش Neighbor – Joining و بر اساس توالی های ژن 045 ویروس ارف ۷۳

شکل ۱۵- الکتروفورز(ژل آگارز 1%) قطعه تکثیر شده از DNA ویروس ارف با آغازگرهای 059 ..... ۷۶

شکل ۱۶- درخت فیلوژنی رسم شده بر طبق روش Neighbor – Joining و بر اساس توالی های ژن F1L سویه Orf-059-Shiraz ۷۹

شکل ۱۷- الکتروفورز(ژل آگارز 1%) قطعه تکثیر شده از DNA ویروس آبله با آغازگرهای CPV ۸۰

شکل ۱۸- الکتروفورز(ژل آگارز 1%) قطعه تکثیر شده از cDNA ویروس PPR با آغازگرهای NP3-NP4 ..... ۸۳

فصل اول

مقدمه

بیماری اکتیمای واگیر که در انسان ارف نامیده می شود، یک بیماری ویروسی پوستی شایع با گسترش جهانی می باشدکه توسط ویروس ارف از جنس پاراپاکس، زیر خانواده کوردوپاکس ویرینه و خانواده پاکس ویریده ایجاد می گردد (Zhao et al., 2010, Bora et al., 2011).

این بیماری طیف میزبانی وسیعی داشته، در گوسفند، بز، شتر، نشخوارکنندگان وحشی، انسان و به ندرت گاو و سگ گزارش شده است اما میزبان معمول آن گوسفند و بز می باشد (de la Concha-Bermejillo et al., 2003, Chan et al., 2009).

ویروس های خانواده پاکس ویریده از لحاظ مورفولوژی و بیماری زایی بسیار مشابه یکدیگر بوده، تشخیص تفریقی آن ها از هم دشوار است (Zhang et al., 2010).

اکتیمای واگیر به علت قدرت انتشار سریع و درگیری فراوان، ایجاد واکنش های متقاطع بین دام های درگیر و عدم وجود ایمنی متقاطع بین گونه های دامی، وجود نوترکیبی در ژنوم ویروس عامل، تعدد سویه، فرار از سیستم ایمنی میزبان، زئونوز بودن و سختی در تشخیص تفریقی آن از بیماری های مشابه نظیر آبله، تب برفکی، طاعون نشخوارکنندگان کوچک و بیماری زبان آبی، حائز اهمیت می باشد

(Haig, 2001, Hosamani et al., 2006, Zhao et al., 2010, Bora et al., 2011).

این بیماری در دام های جوان با شدت بیشتری بروز می یابد و شرایط استرس زا نظیر ازدحام در گله ها، نقل و انتقال طولانی مدت دام ها، تغییر ناگهانی جیره غذایی به علوفه خشبی خشن و نیز وجود نواقص سیستم ایمنی در دام ها زمینه بروز و افزایش شدت بیماری را فراهم می نمایند (Gallina et al., 2006, Nandi et al., 2011). ضایعات اولیه بیماری پس از ۷-۶ روز از ورود ویروس به پوست خراش یافته، به صورت پرولیفراتیو و زگیل مانند بر روی پوزه و شکاف لب ها (در بالغین) و یا بر روی کام و لثه (در نوزادان) ایجاد می شود. این

ضایعات ممکن است در اندام های حرکتی سبب لنگش موقت گردند و یا در پستان ایجاد آماس های حاد و مزمن نمایند. فرم پوستی این بیماری معمولا خوش خیم بوده و پس از مدت ۶-۴ هفته دلمه های ایجاد شده التیام یافته و بر روی زمین می افتند که خود منبع غنی ویروس عفونت زا می باشند. در فرم بدخیم که در موارد نادر رخ می دهد، ضایعات ناشی از بیماری به صورت سیستمیک بوده، نوزادان و یا دام های دچار ضعف سیستم ایمنی را گرفتار می کنند. در این فرم، ویروس به ارگان های داخلی بدن نظیر مری، پیش معده ها، معده، روده ها، دستگاه تنفس و گاهی دستگاه تولید مثل هجوم می آورد

(Jubb et al., 1993, Jones et al., 1996, MacLachlan and Dubovi, 2011).

در برخی موارد ، بیماری اکتیمای واگیر در اثر عفونت های ثانویه باکتریایی و میاز پیچیده می شود و سبب ایجاد بیماری " ارف مقاوم" می گردد که ممکن است برای مدت مدیدی گریبان گیر دام ها باشد و به علت پیچیدگی، تشخیص را با مشکل مواجه سازد

(Housawi and Abu Elzein, 2000). اکتیمای واگیر بسته به محل ایجاد ضایعات، سبب لاغری، کاهش تولیدات دامی، لنگش، ورم پستان های حاد و مزمن و در موارد نادری مرگ و میر می گردد. همچنین پایدار بودن ویروس نسبت به شرایط محیطی، وجود دام های حامل و مخزن و فرار از سیستم ایمنی میزبان به علت ایجاد نوترکیبی و واکنش های متقاطع، کنترل و ریشه کنی این بیماری را با مشکل مواجه ساخته است و موارد متعددی از شکست واکسیناسیون در رابطه با این بیماری گزارش شده است (Ueda et al., 2003, Lojkic et al., 2010, Nandi et al., 2011).

با توجه به اندمیک بودن این بیماری در ایران و مضرات اقتصادی ناشی از آن و نیز ضرورت تفریق آن از بیماری های مشابه، مطالعه آسیب شناسی و تشخیص مولکولی بیماری اکتیمای واگیر در گوسفند و بز در استان فارس، ضروری تشخیص داده شد. خصوصا این که تاکنون مطالعه جامع و دقیقی درباره این بیماری در استان انجام نگرفته است. لذا این پژوهش به منظور کار بری روش PCR جهت تشخیص سریع و دقیق ویروس ارف و تفریق آن از ویروس های آبله گوسفندی- بزی و طاعون نشخوارکنندگان کوچک، تعیین توالی نوکلئوتیدی محصول PCR و مقایسه آن با بانک ژن و نیز مطالعه آسیب شناسی این بیماری در ۵۰ راس گوسفند و بز مشکوک به اکتیمای واگیر در دامداری های مناطق درگیر انجام پذیرفت.