13 (2) 121-126, Summer 2021

**Journal of Animal Environment**
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

## Original Research Paper

# Molecular detection of Pigeon Adenovirus in feces of pigeons for the first time in Iran

***Elham Rahimi Sardo [1], Forough Talazadeh [1*], Ramezan Ali Jafari [1], Masoud Reza Seifi [2]***

*[1] Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*
*[2] Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*

**Key Words**

*Adenovirus*
Pigeon
PCR
Ahvaz

## Abstract

**Introduction:** The Pigeon Adenovirus is one of the pathogenic agents of pigeons that belong to the family Adenoviridae and *Aviadenovirus* genus .The virus causes two clinical illnesses called adenovirosis type I and II. Both types of disease have a great effect on the population of pigeons, resulting in losses and economic damages.

**Materials & Methods:** In this study, which was performed for the first time in Iran and Khuzestan province, 120 fecal samples were collected from healthy and sick pigeons with clinical symptoms of lethargy, anorexia, weight loss with watery green and yellow diarrhea. The microtubes containing the feces were sent separately to the laboratory. DNA samples were extracted for the PCR test. A pair of primers was used to identify positive isolates of pigeon adenoviruses.

**Result & Conclusion:** After the PCR test, PiAdV-1 was detected in 5 samples of pigeon droppings (4.16%), which is the first molecular detection of PiAdV-1 in pigeon feces in Iran. Due to the pollution of the city of Ahvaz to PiAdV-1, this should be considered during the clinical examination of pigeons that have symptoms such as sudden death, vomiting, acute watery diarrhea, and weight loss to differentiate from the same diseases and to use fair supportive medicine and prevent no useful treatments.

* Corresponding Author's email: f.talazadeh@scu.ac.ir
Received: 27 June 2020; Reviewed: 29 August 2020; Revised: 22 September 2020; Accepted: 24 October 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.135863

**مقاله پژوهشی**

# ردیابی مولکولی آدنو ویروس کبوتری در مدفوع کبوتران برای اولین بار در ایران

*الهام رحیمی‌ساردو[۱]، فروغ طلازاده[۱*]، رمضانعلی جعفری[۱]، مسعودرضا صیفی[۲]*

[۱] گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۲] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

**کلمات کلیدی**

آدنوویروس
کبوتر
PCR
اهواز

**چکیده**

**مقدمه:** آدنوویروس کبوتر یکی از عوامل بیماری‌زایی کبوتران می‌باشد که متعلق به خانواده آدنوویریده و جنس اوی آدنوویروس می‌باشد. این ویروس در کبوتران منجر به بروز دو بیماری بالینی به نام آدنوویروس تیپ ۱ و تیپ ۲ کبوتران می‌گردد. هر دو تیپ عفونت آدنوویروسی اثر زیادی را بر جمعیت کبوتران داشته و منجر به تلفات و خسارت اقتصادی در آن‌ها می‌گردد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه که برای اولین بار در ایران و در استان خوزستان انجام شد، ۱۲۰ نمونه مدفوعی از کبوتران سالم و بیمار با علائم بالینی بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن همراه با اسهال آبکی سبز و زرد رنگ، در سطح شهر اهواز، جمع‌آوری شد. میکروتیوب‌های حاوی مدفوع به‌صورت جداگانه به آزمایشگاه ارسال شد. DNA نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، جهت تست PCR استخراج شد. جهت شناسایی آدنوویروس کبوتری از یک جفت پرایمر مخصوص در آزمون PCR استفاده شد.

**نتایج:** پس از آزمایش PCR، در پنج نمونه از مدفوع کبوتران (٤/١٦ درصد)، PiAdV-1 ردیابی شد که این مطالعه، اولین ردیابی مولکولی PiAdV-1 در مدفوع کبوتران در ایران می‌باشد.

**نتیجه‌گیری و بحث:** با توجه به آلودگی کبوتران شهر اهواز به PiAdV-1، این موضوع باید در هنگام معاینات بالینی کبوترانی که دارای علائمی مانند مرگ ناگهانی، استفراغ، اسهال آبکی حاد و کاهش وزن هستند، مورد توجه قرار گیرد تا از بیماری‌های مشابه تشخیص تفریقی داده شود و درمان‌های حمایتی لازم اعمال گردد و از درمان‌های غیرسودمند پیشگیری به‌عمل آید.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: f.talazadeh@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۷ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۸ شهریور ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۱ مهر ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۳ آبان ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.135863

## مقدمه

بررسی بیماری‌های پرندگان به‌منظور پیشگیری و کنترل آن‌ها حائز اهمیت می‌باشد (طلازاده و همکاران، ۱۳۹۶؛ طلازاده و همکاران، ۱۳۹۷).آدنوویروس‌ها یکی ازعوامل بیماری‌زایی پرندگان می‌باشند که متعلق به خانواده آدنوویریده بوده و امروزه به پنج جنس طبقه‌بندی می‌شود. *Mastadenovirus* که عامل بیماری در پستانداران بوده، *Ichtdenovirus* که در ماهیان عفونت ایجاد می‌کند و آدنوویروس پرندگان که خود به سه گروه طبقه‌بندی می‌شود: گروه یک آدنوویروس پرندگان (*Aviadenovirus*) که در کبوتر، ماکیان، بوقلمون، اردک، غاز و گونه‌های مختلف پرندگان وحشی دیده شده و منجر به بروز بیماری‌هایی مانند زخم سنگدان، سندرم هیدروپریکاردیوم، هپاتیت همراه با گنجیدگی و برونشیت بلدرچین می‌گردد. گروه دو آدنوویوس پرندگان (*Siadenovirus*) که در ماکیان، بوقلمون، قرقاول و پرندگان شکاری ایجاد عفونت کرده و منجر به بروز بیماری‌هایی مانند آنتریت هموراژیک بوقلمون، طحال مرمری قرقاول و اسپلینومگالی ماکیان می‌شود و گروه سه آدنوویروس پرندگان (*Atadenovirus*) که در اردک، ماکیان، برخی پستاندارن و خزندگان گزارش شده و عامل بیماری سندروم افت تولید تخم‌مرغ در ماکیان می‌باشد (Hess، ۲۰۱۳؛ McNulty و Smyth، ۲۰۰۸).از آن‌جاکه جداسازی آدنوویروس کبوتران با موفقیت کمی همراه بوده، طبقه‌بندی آن به‌طور مشخص در دسترس نیست. تاکنون عفونت طبیعی کبوتران با سروتیپ ۲، ۴، ۵، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ آدنوویروس ماکیان (*fowl adenovirus*) و آدنوویروس کبوتری تیپ یک(pigeon adenovirus 1) تاییدشده است که همگی متعلق به گروه یک آدنوویروس پرندگان(Aviadenovirus)می‌باشند (McFerran و همکاران، ۱۹۷۶؛ Hess و همکاران، ۱۹۹۸؛ Raue و همکاران، ۲۰۰۲؛ Tesk و همکاران، ۲۰۱۷).شمار زیادی از آدنوویروس‌ها با ایجاد کم‌ترین نشانه و یا حتی بدون این که نشانه آشکاری ایجاد کنند، در بدن پرندگان سالم تکثیر می‌کنند. اگرچه همین ارگانیسم‌های ظاهراً غیرپاتوژن، می‌توانند در صورت حضور عوامل بیماری‌زای دیگر، به‌عنوان یک عامل فرصت‌طلب عمل نموده و خسارات اقتصادی قابل توجهی ایجاد کنند (McFerran و Smyth، ۲۰۰۰؛ Toro، ۲۰۰۰). در کنار این تعداد، آدنوویروس‌هایی نیز وجود دارند که خود به تنهایی یک عامل بیماری‌زای اولیه به‌حساب می‌آیند و برای تاثیرگذاری بر سلامت میزبان و ایجاد خسارت اقتصادی، به‌عوامل بیماری‌زای دیگری نیازمند نیستند (Nakamura و همکاران، ۲۰۰۰؛ Steer و همکاران، ۲۰۱۱؛ Vera-Hernandez و همکاران، ۲۰۱۶). آدنوویروس تیپ ۱ و تیپ ۲ کبوتر نیز،عامل ایجاد دو بیماری بالینی در کبوتران می‌باشد که هر دو عفونت اثر زیادی را بر جمعیت کبوتران دارند (Marlier و Vindevogel، ۲۰۰۶). طبقه‌بندی آدنوویروس تیپ ۱ و ۲ ربطی به سویه و تیپ آنتی‌ژنی نداشته و فقط براساس علائم درمانگاهی صورت گرفته است (Marlier و Vindevogel، ۲۰۰۶؛ Tesk و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر آن، این ویروس در سندرم بیماری کبوتران جوان ( Young Pigeon Disease Syndrome (YPDS) که منجر به تلفات در کبوتران خانگی و زینتی به‌خصوص بعد از مسابقه می‌شود، نیز نقش دارد. این سندرم معمولاً کبوتران جوان کم‌تر از یک‌سال را تحت تاثیر قرار می‌دهد و کبوتران بیمار علایم غیراختصاصی مانند بی‌اشتهایی، اسهال و تجمع آب و غذا در چینه‌دان را نشان می‌دهند (Freick و همکاران، ۲۰۰۸؛ Raue و همکاران ۲۰۰۵؛ Duchatel و Szeleszczuk، ۲۰۱۱). بیماری آدنوویروسی تیپ ۱ بیش‌تر در کبوتران زیر ۱ سال مخصوصاً در جوجه کبوتران ۳ تا ۵ ماهه دیده می‌شود. علائم شامل استفراغ، اسهال آبکی حاد و کاهش وزن بوده و به سرعت گسترش می‌یابد، به‌طوری‌که تا ۱۰۰٪ گله را درگیر می‌کند، اما مرگ و میر اندکی دارد، مگر این‌که با عفونت دیگری نظیر *اشرشیاکلای* همراه شود (Coussement و همکاران، ۱۹۸۴؛ Wada و همکاران، ۱۹۹۵؛ Vereecken و همکاران، ۱۹۹۸). در مواردی که بیماری پیچیده نیست، بهبودی طی دو هفته حاصل می‌شود، هرچند توانایی پرواز برای هفته‌ها و ماه‌ها ضعیف باقی خواهد ماند که باعث خسارت اقتصادی قابل توجهی به‌خصوص در پرندگان مسابقه خواهد شد (Marlier و Vindevogel، ۲۰۰۶؛ Tesk و همکاران، ۲۰۱۷). بیماری آدنوویروسی تیپ ۲ در کبوتران با هر سنی از ۱۰ روزه تا ۶ ساله ایجاد می‌شود. به‌دلیل مرگ ناگهانی ۲۴ تا ۴۸ ساعته ناشی از بیماری، به‌طور معمول علائم درمانگاهی کمی وجود خواهد داشت. استفراغ و اسهال زرد آبکی گاهی گزارش می‌شود. مرگ و میر معمولاً ۳۰٪ تا ۷۰٪ است که می‌تواند تا ۱۰۰٪ هم برسد (De Herdt و همکاران، ۱۹۹۵).در گله‌هایی که درگیر تیپ ۲ درمانگاهی آدنوویروز می‌شوند، معمولی است که بعضی کبوتران به‌صورت حاد می‌میرند، درحالی‌که بقیه سالم هستند و علائمی ندارند (Marlier و Vindevogel، ۲۰۰۶؛ Tesk و همکاران، ۲۰۱۷). در کالبدگشایی معمول‌ترین علامتی که دیده می‌شود، کبد متورم زرد رنگ و رنگ پریده است. در هیستوپاتولوژی نیز نکروز و التهاب گسترده کبد، به همراه گنجیدگی‌های ائوزینوفیلیک قابل مشاهده است (Povazsan و همکاران، ۱۹۸۷؛ Ketterer و همکاران، ۱۹۹۲؛ De Herdt و همکاران، ۱۹۹۵). استفاده از واکسن EDS که برای جلوگیری از بروز بیماری سندروم افت تخم‌مرغ ماکیان استفاده می‌گردد، ناموفق بوده و تاکنون هیچ واکسن برای پیشگیری از این بیماری تولید نشده است (Vereecken و همکاران، ۱۹۹۸).برای تایید ارتباط بین علائم بالینی و آدنوویروس‌ها نیاز به بررسی‌های بیش‌تر مانند PCR کیفی، بررسی‌های هیستوپاتولوژی (Weissenböck و Fuchsy، ۱۹۹۵)، کشت سلولی، مشاهده با میکروسکوپ الکترونی (Goryo و همکاران، ۱۹۸۸؛ Catroxo و همکاران،

۲۰۱۱) و بررسی پاتوژنز ویروس می‌باشد. با توجه به اهمیت این بیماری در کبوتران، به‌خصوص کبوتران مسابقه که از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت می‌باشند و این نکته که تاکنون مطالعه قبلی در شهر اهواز در این خصوص صورت نگرفته است، این مطالعه با هدف ردیابی مولکولی آدنوویروس کبوتری، با استفاده از تکنیک PCR، در مدفوع کبوترانی از شهر اهواز صورت گرفت که دارای علائم بالینی بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن همراه با اسهال آبکی سبز و زرد رنگ همراه با سابقه تلفات در کبوترخانه‌ها بودند.

## مواد و روش‌ها

**نمونه‌گیری:** در این مطالعه از چندین گله کبوتر سالم و بیمار با علائم بالینی بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن همراه با اسهال آبکی سبزو زرد رنگ و تلفات، در سطح شهر اهواز، ۱۲۰ نمونه مدفوعی جمع‌آوری شد و میکروتیوب‌های حاوی مدفوع به‌صورت جداگانه به آزمایشگاه بخش ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز فرستاده و تا انجام آزمایش در دمای منفی ۷۰ درجه نگه‌داری شد.

**استخراج DNA:** DNA هر ۱۲۰ نمونه با استفاده از کیت ویژه استخراج شرکت رها زیست پادتن، استخراج شدند. ابتدا ۳۰ گرم از هر نمونه مدفوع پس از ذوب شدن در میکروتیوب‌های استریل قرار گرفت. سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر لیز در هرکدام از نمونه‌ها ریخته و در بن‌ماری با دمای ۵۵ درجه به‌مدت یک‌ساعت قرار داده شد. میکروتیوب‌ها در فواصل هر ۱۵ دقیقه یک بار خارج و به‌مدت چند ثانیه ورتکس می‌شدند. سپس میکروتیوب‌های حاوی مدفوع لیز شده خارج و در دور ۱۴ هزار به‌مدت دو دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع رویی با استفاده از سمپلر و به آرامی در یک ستون فیلتر سیلیکا انتقال داده شد. سپس ستون حاوی فیلتر به‌مدت یک دقیقه در دور ۷۰۰۰ و سپس به‌مدت یک دقیقه در دور ۱۱۰۰۰ سانتریفیوژ گشت. پس از دور ریختن مایع جمع شده در لوله جمع‌کننده، ۷۵۰ میکرولیتر بافر واش در ستون فیلتر ریخته و به‌مدت دو دقیقه در دور ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از تخلیه مایه داخل لوله جمع‌کننده، مرحله شستشو یک بار دیگر تکرار و پس از تخلیه بافر شستشوی مرحله دوم، ستون حاوی فیلتر به‌مدت ۳ دقیقه در دور ۱۴ هزار جهت خشک شدن سانتریفیوژ شد. سپس ستون فیلتر در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتر استریل قرار داده شد و ۷۵ میکرولیتر بافر الوشن که از قبل در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد گرم شده بود به آن اضافه شد. پس از ۳ الی ۴ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط، ستون فیلتر با دور ۱۴ هزار به‌مدت دو دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع جمع شده در میکروتیوب‌های جدیدی ۱/۵ میلی‌لیتر به‌عنوان DNA نمونه تا زمان آزمایش در دمای منفی ۷۰ درجه نگه‌داری شد (Tesk و همکاران، ۲۰۱۷).

**شناسایی مولکولی آدنوویروس:** مطابق روش Tesk و همکاران (۲۰۱۷) جهت شناسایی PiAdV-1، PCR با استفاده از یک جفت پرایمر خارجی ژن fiber انجام گرفت که محصولاتی با ۹۶۷ جفت باز تولید می‌کردند. جهت همانندسازی اولیه، مجموعاً ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۲ میکرولیتر از جفت پرایمر خارجی ژن fiber (هر پرایمر ۱ میکرولیتر)، ۲ میکرولیتر (۲۰ نانوگرم) از DNA نمونه، ۸/۲۵ میکرولیتر آب مقطر، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس ۲X و ۰/۲۵ میکرولیتر MgCl2 استفاده شد. شرایط دمایی با استفاده از ترموسایکلر به‌شرح زیر است:

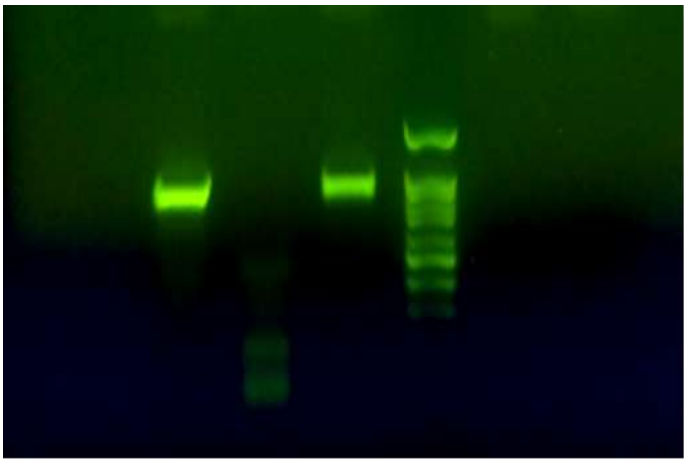
مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵°C به‌مدت ۵ دقیقه، ۴۰ سیکل شامل مرحله دناتوراسیون در دمای ۹۴°C به‌مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال در دمای ۶۰°C به‌مدت۱ دقیقه، مرحله طویل‌سازی در دمای ۷۲°C به‌مدت ۱/۵ دقیقه و مرحله طویل شدن نهایی در دمای ۷۲°C به‌مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. محصولات اولیه و ثانویه PCR با الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵٪ در بافر TAE [100 mM Tris HCl (pH 9.0), 40 mM EDTA] حاوی safe stain آنالیز شد و زیر تابش نور UV مشاهده شد. اندازه محصولات همانندسازی در مقایسه با نشانگر DNA (ladder) ۱۰۰ جفت بازی ارزیابی شد.

**جدول ۱: توالی‌های اولیه برای شناسایی PiAdV-1**

| نام آغازگر | توالی نوکلئوتیدی آغازگر | اندازه محصول (جفت باز) | رفرانس |
|---|---|---|---|
| آغازگرها | ATCAACTACGACAACGAAGGC<br>CGGTAGAGTTACGGGGAAATT | ۹۶۷ | Tesk و همکاران (۲۰۱۷) |

## نتایج

براساس جدول ۱، آغازگرها مورداستفاده قرار گرفتند که محصولاتی با ۹۶۷ زوج باز ایجاد نمودند. ۵ نمونه (۴/۱۶ درصد)، از نمونه‌های جمع‌آوری شده از کبوترهای خانگی ارجاعی به بیمارستان بخش طیور و تعدادی متعلق به فضولات کبوترهای خانگی فروشگاه‌های حیوانات خانگی اهواز و کبوترخانه‌های درگیر بودند که در آزمون PCR (واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز) مثبت شدند (شکل ۱).



**شکل ۱: الکتروفورز در ژل آگارز جهت محصول PCR. ستون ۱، نردبان ژنی ۱۰۰ جفت‌بازی، ستون‌های ۲ و ۴، محصول PCR با اندازه ۹۶۷ جفت بازی از PiAdV-1، ستون ۳، نمونه منفی**

## بحث

در این مطالعه که برای اولین بار در ایران و در استان خوزستان انجام شد، ۱۲۰ نمونه مدفوعی از کبوتران سالم و کبوتران بیمار خانگی ارجاعی به بخش طیور دانشکده دامپزشکی، فضولات متعلق به کبوترهای خانگی فروشگاه‌های حیوانات خانگی اهواز و کبوترخانه‌های درگیر با علائم بالینی بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن، همراه با اسهال آبکی سبز و زردرنگ و تلفات، جمع‌آوری شد که با استفاده از آزمایش PCR بر روی ۱۲۰ نمونه، در ۵ نمونه (۴/۱۶ درصد)، برای اولین بار در ایران PiAdV-1 ردیابی شد که حاکی از آلودگی کبوتران شهر اهواز به PiAdV-1 می‌باشد. اگرچه به‌طور قطع نمی‌توان گفت که PiAdV-1 عامل اولیه بیماری است و این امر نیاز به مطالعات تکمیلی مانند PCR کیفی و بررسی‌های هیستوپاتولوژیی دارد (Weissenböck و Fuchsy، ۱۹۹۵)، اما از آن‌جا که تضعیف سیستم ایمنی، نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های پرندگان ایفا می‌کند، در نتیجه این احتمال می‌رود که PiAdV-1 نیز مانند سایر آدنوویروس‌ها، به‌طور بالقوه، نقش تضعیف‌کننده سیستم ایمنی داشته باشد (Naeem و همکاران، ۱۹۹۵؛ Wang و Chang، ۲۰۰۰؛ Schonewille و همکاران ۲۰۰۸).بررسی ژنوم کامل آدنوویروس کبوتری(PiAdV)نشان می‌دهد که این ویروس از آدنوویروس ماکیان (FADV) متفاوت بوده و بین ۴۱/۸٪ تا ۶۱/۸٪ باسایر آدنوویروس‌هاشباهت‌دارد(Marek و همکاران، ۲۰۱۴). اگرچه در حال حاضر دو تیپ ۱و ۲ آدنوویروس کبوتر و واریانت‌هایی‌برای‌تیپ ۲ مشخص‌شده‌اند،اما بیماری‌زایی این ویروس‌ها به‌وضوح مشخص نشده است. تاکنون گزارشات کمی از آلودگی بالینی پرندگان به آدنوویروس کبوتران در ایران و سایر نقاط جهان وجود دارد. Ledwon و همکاران (۲۰۱۱) در دبی مانند مطالعه حاضر، بر روی پرندگان بیمار و سالم، ژن فایبر را ردیابی کردند که در تحقیق آن‌ها، نمونه‌گیری از ۱۸ کبد کبوتر بیمار، از سواب مدفوع و پر ۱۳۲ کبوتر سالم صورت گرفت و با کمک آزمایش PCR، به جستجوی آدنوویروس ماکیان بر پایه ژن هگزون و آدنوویروس کبوتران بر پایه ژن فایبر پرداختند که قادر به ردیابی آدنوویروس ماکیان و آدنوویروس کبوتران از سواب کلواک در پرندگان نبودند. نتایج آزمایش PCR بر خلاف مطالعه حاضر از بین ۱۳۲ مدفوع آزمایش‌شده، عدد صفر(۰٪) برای آدنوویروس ماکیان و کبوتر اعلام شد، اما نتیجه آزمایش برای آدنوویروس کبوتری از ۱۸ کبد کبوتر، ۸ مورد مثبت (۴۴٪) و برای آدنوویروس ماکیان صفر(۰٪) بود که مانند مطالعه حاضر، این مطالعه نیز اولین گزارش ردیابی آدنوویروس کبوتری در کبوتران بیمار کشور امارات بود. اگرچه این بررسی نشان داد، نمونه‌گیری از مدفوع جهت ردیابی آدنوویروس، مناسب نبوده و کبد، بافت مناسب‌تری برای این منظور می‌باشد، اما به‌نظر می‌رسد نتیجه‌گیری قطعی در این زمینه نیازمند تحقیقات دقیق‌تر و گسترده‌تر می‌باشد، زیرا برخلاف این مطالعه، نمونه‌های مدفوع از کبوتران سالم گرفته شده بود که امکان دفع ویروس در آن‌ها کم‌تر می‌باشد. Tesk و همکاران (۲۰۱۷) نیز در آلمان با بررسی سواب کلواک مدفوع ۶۰ کبوتر سالم بالغ و جوان و ۶۰ کبوتران جوان مبتلا به سندروم بیماری کبوتران جوان (YPDS) به ردیابی PiAdV-2 و PiAdV-1 پرداختند که توانستند در ۱۳ عدد از کبوتران بیمار جوان و برخلاف مطالعه Ledwon و همکاران (۲۰۱۱) در ۶ عدد از کبوتران سالم جوان و ۴ عدد از کبوتران سالم بالغ، PiAdV-2 را با استفاده ار روش PCR ردیابی کنند. با توجه به ردیابی آدنوویروس هم در کبوتران سالم و هم کبوتران بیمار، آن‌ها بیان کردند به‌طور قطع نمی‌توان گفت که آدنوویروس، عامل اولیه بروز این سندرم باشد و نیازمند اندازه‌گیری میزان دفع ویروس می‌باشد، اما با توجه‌به این‌که‌دربررسی با میکروسکوب الکترونی،میزان‌ذرات ویروسی دیده شده در مدفوع کبوتران بیمار، در مقایسه با کبوتران سالم بیش‌تر بوده، نباید نقش کمکی PiAdV-2 را در بروز بیماری در کبوتران نادیده گرفت. Freick و همکاران (۲۰۰۸) نیز در آلمان عنوان کردند که چون هر 3 ویروس آدنوویروس، سیرکوویروس و هرپس ویروس، در کبد Inclusion Body ایجاد می‌کنند، بنابراین کبد برای PCR بافت مناسبی است. برخلاف مطالعه حاضر که روی مدفوع پرندگان بیمار انجام‌گرفت و با نتایج مثبت همراه بود، آن‌ها پس ازنمونه‌گیری از کبد ۴۵ کبوتر بیمار و ۶ کبوتر سالم، درصد ابتلای کبوتران مورد آزمایش به آدنوویروس را ۰٪ بیان کردند. عدم شناسایی ویروس می‌تواند به علت عدم وجود ویروس، و یا نمونه‌گیری ناقص در این گزارشات باشد. بهروزی‌نسب (۱۳۹۴) نیز پس از نمونه‌گیری از کبد ۷۱ لاشه کبوتر

مبتلا به اسهال و بیماری تنفسی ارجاعی به بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد و انجام PCR بروی ژنوم استخراج شده از نمونه‌ها بر پایه ژن هگزون، برای اولین بار حضور آدنوویروس ماکیان را (FAdV) در ۱۵/۵٪ از کبوتران مورد آزمایش در مشهد به اثبات رساند.هم‌چنین در این تحقیق از کبد ۳۰ نمونه(۴۳٪)از جمعیت مورد آزمایش، نمونه هیستوپاتولوژی نیز گرفته شد، که تنها در یک مورد (۳۳٪) گنجیدگی ویروسی داخل هسته‌ای بازوفیلیک مشاهده گردید که مربوط به سیرکوویروس بود. نتیجه این مطالعه، نشان‌دهنده حساسیت بیش‌تر تست PCR نسبت به بررسی هیستوپاتولوژی می‌باشد، زیرا حضور ویروس در کبوتر و ابتلای به آن، همیشه با ضایعات پاتولوژیک همراه نیست و بنا به‌دلایل مختلف، امکان دارد ویروس توسط هیستوپاتولوژی یک اندام مورد شناسایی قرار نگیرد. در توافق با مطالعه بهروزی‌نسب (۱۳۹۴)، در مطالعه اخیر، حضور آدنو ویروس در پرندگان بیمار و سالم اثبات شد. با این تفاوت که در مطالعه حاضر حضور PiAdV-1در نمونه‌های مدفوعی اثبات شد. Catroxo و همکاران (۲۰۱۱) نیز در برزیل برخلاف مطالعه حاضرکه به کمک روش PCR به ردیابی ویروس پرداخته شد، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، به جستجوی آدنوویروس در مدفوع ۵۷ کبوتر شهر سائوپائولو پرداختند که از بین ۵۷ نمونه مورد آزمایش، تنها ۲ نمونه (۵/۳٪) ابتلا به آدنوویروس گزارش شد. Schrenzel و همکاران (۲۰۰۵)، در بررسی ۱۲۰ نمونه مدفوع کبوتر، ۳ مورد مثبت گزارش دادند که براساس آنالیز سکانس، هر سه متعلق به PiAdV-2 بودند که این نتایج با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد زیرا در مطالعه حاضر حضور PiAdV-1 در نمونه‌های مدفوعی اثبات شد. از آن‌جاکه بیماری آدنوویروسی تیپ ۱ دارای وقوع ناگهانی، همراه با اسهال و تهوع می‌باشد، ممکن است با پارامیکسوویروس‌ها، سالمونلوز یا عفونت هگزامیتا اشتباه گرفته شود. بیماری آدنوویروسی تیپ ۲ نیز در کبوتران با هر سنی از ۱۰ روزه تا ۶ ساله ایجاد می‌شودو همراه با علائم درمانگاهی کمی، استفراغ و اسهال زرد آبکی همراه است که در مواردی که صاحب کبوتر از مرگ ناگهانی در کبوتران در همه سنین بدون هیچ علائم بالینی و یا گه‌گاه همراه با استفراغ و اسهال کوتاه مدت شکایت می‌کند، باید از عوامل دیگری که باعث مرگ ناگهانی می‌شوند مانند مسمومیت، استرپتوکوکوس، سپتی‌سمی ایکلایی یا سالمونلوز تفریق داده شود (Vereecken و همکاران، ۱۹۹۸؛ De Herdt و همکاران، ۱۹۹۷). با توجه به آلودگی کبوتران شهر اهواز به PiAdV-1، این موضوع باید در هنگام معاینات بالینی کبوترانی که دارای علائمی مانند مرگ ناگهانی، استفراغ، اسهال آبکی حاد و کاهش وزن بوده، مورد توجه قرار گیرد. به‌خصوص این‌که به‌دلیل تشخیص کم‌تر آدنوویروس و مطالعات کم‌تر در این حیطه، معمولاً این بیماری تشخیص داده نمی‌شود و به اشتباه به‌صورت سایر عفونت‌های مشابه،به‌خصوص نیوکاسل یا سالمونلوز تلقی می‌گردد و به‌همین دلیل درمان‌های غیرموثر درخصوص این بیماری‌ها اعمال می‌گردد. اگرچه تاکنون هیچ داروی اختصاصی جهت کنترل و درمان و مشخص نشده است، اما در صورت تشخیص این عفونت، می‌توان درمان‌های حمایتی مناسب را هرچه سریع‌تر اعمال نمود و از دارودرمانی‌های غیرموثر و غیرضروری پیشگیری به‌عمل آورد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب شماره پژوهانه (SCU.VC99.372) در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع


۱. **بهروزی‌نسب، ا.، ۱۳۹۴.** تشخیص مولکولی هرپس ویروس، آدنوویروس و سیرکوویروس کبوتران در کبد لاشه‌های کبوتران ارجاعی به کلینیک دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد توسط واکنش چندگانه زنجیره‌ای پلی‌مراز. پایان‌نامه دکتری عمومی. دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

۲. **طلازاده، ف. و میاحی، م.، ۱۳۹۶.** تاثیر پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس، استرپتوکوکوس و بیفیدوباکتریوم بر ضریب تبدیل غذایی و لیپیدهای خون در جوجه‌های گوشتی. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۹، شماره ۱، صفحات ۹۵ تا ۹۸.

۳. **طلازاده، ف.؛ میاحی، م. و هوشمندی، ک.،۱۳۹۷.** بررسی تغییرات عیار آنتی‌بادی ویژه واکسن‌نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی به‌دنبال دریافت مکمل گیاهی بیوهربال حاوی عصاره سیر و آویشن. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۱۰، شماره ۱، صفحات ۱۰۳ تا ۱۰۶.

4. **Catroxo, M.; Martins, A., Petrella, S., Curi, N. and Melo, N., 2011.** Research of Viral Agent in Free-living Pigeon Feces (*Columba livia*) in the City of São Paulo SP, Brazil, for Transmission Electron Microscopy. International Journal of Morphology. Vol. 29, No. 2, pp: 628-635.

5. **Coussement, W.; Ducatelle, R.; Lemahieu, P.; Froyman, R.; Devriese, L.A. and Hoorens, J., 1984.** Pathologie van adenovirus infecties bij duiven. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift. Vol. 53, pp: 227-283.

6. **De Herdt, P.; Ducatelle, R.; Lepoudre, C.; Charlier, G. and Nauwynck, H., 1995.** An epidemic of fatal hepatic necrosis of viral origin in racing pigeons (Columba livia). Avian Pathology. Vol. 24, pp: 475-483.

7. **Duchatel, J.P. and Szeleszczuk, P., 2011.** Young pigeon disease syndrome. Medicin. Weter. Vol. 67, No. 5, pp: 291-294.

8. **Freick, M.; Muller, H. and Raue, R., 2008.** Rapid detection of pigeon herpesvirus, fowladenovirus and pigeon circovirus in young racing pigeons by multiplex PCR. Journal of Virological Methods. Vol. 148, pp: 226-231.

9. **Goryo, M.; Ueda Y.; Umemura, T.; Haruna T. and Itakura, C., 1988.** Inclusion body hepatitis due to adenovirus in pigeons. Avian Pathology. Vol. 17, No. 2, pp: 391-401.

10. **Hess, M., 2013.** Aviadenovirus Infection. in: Swayne, D.E., (ed.) Disease of poultry. 13th ed. Wiley- Blackwell. pp: 290-301.

11. **Hess, M.; Prusas, C.; Vereecken, M. and De Herdt, P., 1998.** Isolation of fowladenoviruses serotype 4 from pigeons with hepatic necrosis. Berl. Munch.Tierarztl. Wochenschr. Vol. 111, No. 4, pp: 140-142.

12. **Ketterer, P.J.; Timmins, B.J.; Prior, H.C. and Dingle, J.G., 1992.** Inclusion body hepatitis associated with an adenovirus in racing pigeons in Australia. Australian Veterinary Journal. Vol. 69, pp: 90-91.

13. **Ledwon, A.; Bailey, T., Odonovan, D.; Mckeown, S.; Lloyd, C.; Wieckowskt, T.; Kinne, J., Silvanose, C.; Szeleszczuk, P. and Wernery, U., 2011.** Prevalence of circovirus and adenovirus in pigeons in Dubai. Medycyna Wet. Vol. 67, No. 11, pp: 752-756.

14. **Marek, A.; Kaján, G.; Kosiol, C.; Harrach, B.; Schlötterer, C. and Hess, M., 2014.** Complete genome sequences of pigeon adenovirus 1 and duck adenovirus 2 extend the number of species within the genus Aviadenovirus. Virology. pp: 107-114.

15. **Marlier, D. and Vindevogel. H., 2006.** Viral disease in pigeons. The Veterinary Journal. Vol. 172, pp: 40-51.

16. **McFerran, J.B.; McCracken, R.M.; Connor, T.J. and Evans, R.T., 1976.** Isolation of virusesfrom clinical outbreaks of inclusion body hepatitis. Avian Pathology. Vol. 5, No. 4, pp: 315-324.

17. **McFerran, J.B. and Smyth, J.A., 2000.** Avian adenoviruses. Scientific and Technical Review.Oie. Vol. 19, No. 2, pp: 589-601.

18. **Naeem, K.; Niazi, T.; Malik, S.A. and Cheema, A.H., 1995.** Immunosuppressive potentialand pathogenicity of an avian adenovirus isolate involved in hydropericardium syndrome in broilers. Avian Disease. Vol. 39, No. 4, pp: 723-728.

19. **Nakamura, K.; Mase, M.; Yamaguchi, S. and Yuasa, N., 2000.** Induction ofhydropericardium in one-day-old specific pathogen-free chicks byadenoviruses from inclusion body hepatitis. Avian Disease. Vol. 44, No. 1, pp: 192-196.

20. **Povazsan, J.; Ratz, F. and Nagy, E., 1987.** Inclusion body hepatitis in Hungarian pigeon flocks. Magyar Allatorvosok Lapja. Vol. 42, pp: 269-271.

21. **Raue, R.; Hafez, H.M. and Hess, M., 2002.** A fiber gene based polymerase chain reactionfor specific detection of pigeon adenovirus. Avian Pathology. Vol. 31, No. 1, pp: 95-99.

22. **Raue, R. and Hess, M., 1998.** Hexon based PCRs combined with restriction enzyme analysis for rapid detection and differentiation of fowl adenoviruses and egg drop syndrome virus. Journal of Virological Methods. Vol. 73, pp: 211-217.

23. **Raue, R.; Schmidt, V.; Freick, M.; Reinhardt, B.; Johne, R.; Kamphausen, L.; Kaleta, E.F.; Muller, H. and Krautwald Junghanns, M.E., 2005.** A disease complex associated with pigeon circovirus infection, young pigeon disease syndrome. Avian Pathology. Vol. 34, No. 5, pp: 418-425.

24. **Schonewille, E.; Singh, A.; Gobel, T.W.; Gerner, W.; Saalmuller, A. and Hess, M., 2008.** Fowl adenovirus (FAdV) serotype 4 causes depletion of B and T cells inlymphoid organs in specific pathogen-free chickens following experimentalinfection. Vet. Immunol. Immuno pathol. Vol. 121, pp: 130-139.

25. **Schrenzel, M.; Oaks, J.L.; Rotstein, D.; Maalouf, G.; Snook, E.; Sandfort, C. and Rideout, B., 2005**. Characterization of a new species of adenovirus in falcons. Journal of Clinical.Microbiology. Vol. 43, No. 7, pp: 3402-3413.

26. **Smyth, J.A. and McNulty M.S., 2008.** Adenoviridae. In: Jordan, F. (ed.) poultry Disease. Sixth Edition. pp: 367-382.

27. **Steer, P.A.; O'Rourke, D.; Ghorashi, S.A. and Noormohammadi, A.H., 2011**. Applicationof high-resolution melting curve analysis for typing of fowl adenoviruses infield cases of inclusion body hepatitis. Australian Veterinary Journal. Vol. 89, No. 5, pp: 184-192.

28. **Teske, L.; Rubbenstroth, D.; Meixner, M.; Liere, K. and Bartels, H., 2017.** Identification of a novel aviadenovirus, designated pigeon adenovirus 2 in domestic pigeons (*Columba livia*). Virus Research. Vol. 227, pp: 15-22.

29. **Toro, H.; Gonzalez, C.; Cerda, L.; Hess, M.; Reyes, E. and Geisse, C., 2000.** Chicken anemiavirus and fowl adenoviruses: association to induce the inclusion body hepatitishydropericardium syndrome. Avian Disease. Vol. 44, No. 1, pp: 51-58.

30. **Vera-Hernandez, P.F.; Morales-Garzon, A.; Cortes Espinosa, D.V.; Galiote-Flores, A.; Garcia-Barrera, L.J.; Rodriguez-Galindo, E.T.; Toscano-Contreras, A.; Lucio Decanini, E. and Absalon, A.E., 2016.** Clinicopathological characterizationand genomic sequence differences observed in a highly virulent fowlAviadenovirus serotype 4. Avian Pathology. Vol. 45, No. 1, pp: 73-81.

31. **Vereecken, M.; de Herdt, P. and Ducatelle, R., 1998.** Adenovirus infections in pigeons: a review. Avian Pathology. Vol. 27, pp: 333-338.

32. **Wada, Y.; Kondo, H.; Nakazawa, M. and Kubo, M., 1995.** Natural infection with attaching and effacing *E. coli* and adenovirus in the intestine of a pigeon. Journal of Veterinary Medical Sciences. Vol. 57, pp: 531-533.

33. **Wang, C.H. and Chang, C.M., 2000.** Pathogenicity and gene analysis of adenovirus frompigeons with inclusion body hepatitis. Journal of Veterinary Medical Sciences.Vol. 62, No. 9, pp: 989-993.

34. **Weissenböck, H. And Fuchs, A., 1995.** Histological and ultrastructural characterisation of hepatic intranuclear inclusion bodies in psittacine birds and pigeons. Avian Pathology. Vol. 24, pp: 507-521.