14(3) 127-132, Autumn 2022

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

Original Research Paper

Molecular detection of pigeon circoviruses in liver samples of dead pigeons suspected of circovirus infection

Hadi Shabani [1], Forough Talazadeh [2*], Gholam Abbas Kaydani [3], Masoud Reza Seifi [4]

[1] Poultry Diseases and Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3]Department of Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[4]Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

Key Words
Circovirus
Pigeon
Liver sample
Ahvaz
PCR

Abstract

Introduction: Young Pigeon Disease Syndrome (YPDS) is a disorder that results in deaths in domestic and ornamental pigeons, especially after the race. Young pigeons are usually less than one year old are affected and show nonspecific symptoms such as anorexia, diarrhea, and accumulation of water and food in the crop. Pigeon circovirus (PiCV) has recently been suggested as a potential contributor to YPDS.

Materials & Methods: In this study, which was performed for the first time in Khuzestan province, 16 liver samples were collected from 16 dead pigeons in Ahvaz. The clinical symptoms of sick birds in the herd included lethargy, anorexia, weight loss with watery green and yellow diarrhea. Microtubes containing liver samples were sent to the laboratory separately. DNA was extracted for the PCR test. Nested-PCR test was used to identify pigeon circoviruses.

Result: The results of this study showed that circovirus was detected in 10 liver samples of dead pigeons (62.5%), which is the first molecular detection of PiCV in liver samples of dead pigeons in Ahvaz.

Conclusion: Due to the infection of pigeons in Ahvaz city with PiCV, this issue should be considered during clinical examinations of pigeons that have symptoms such as sudden death, vomiting, acute watery diarrhea, and weight loss, to be differentiated from similar diseases and to use fair supportive medicine and prevent useless treatments.

* Corresponding Author's email: f.talazadeh@scu.ac.ir
Received: 14 August 2021; Reviewed: 17 September 2021; Revised: 19 November 2021; Accepted: 20 December 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.318463.2700

مقاله پژوهشی

ردیابی مولکولی سیرکوویروس‌های کبوتر در نمونه‌های کبدی کبوتران تلف شده مشکوک به عفونت سیرکوویروسی

هادی شعبانی[۱]، فروغ طلازاده*[۲]، غلامعباس کایدانی[۳]، مسعودرضا صیفی[۴]

[۱] بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

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

[۳] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

[٤] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

کلمات کلیدی

سیرکوویروس
کبوتر
نمونه کبدی
اهواز
PCR

چکیده

مقدمه: سندرم بیماری کبوتران جوان (YPDS) اختلالی است که منجر به تلفات در کبوتران خانگی و زینتی به‌خصوص بعد از مسابقه می‌شود. معمولاً کبوتران جوان کم‌تر از یک سال تحت تاثیر قرار می‌گیرند و علایم غیراختصاصی مانند بی‌اشتهایی، اسهال و تجمع آب و غذا در چینه‌دان را نشان می‌دهد. اخیراً سیرکوویروس کبوتر (PiCV) به‌عنوان یکی از عوامل بالقوه در ایجاد سندرم بیماری کبوتران جوان (YPDS) درنظر گرفته می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که برای اولین بار در استان خوزستان انجام شد، ۱٦ نمونه کبدی از ۱٦ قطعه کبوتر تلف شده در سطح شهر اهواز، جمع‌آوری شد. علایم بالینی پرندگان بیمار در گله شامل بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن همراه با اسهال آبکی سبز و زرد رنگ بود. میکروتیوب‌های حاوی نمونه‌های کبدی به‌صورت جداگانه به آزمایشگاه ارسال شد. DNA نمونه‌ها، جهت تست PCR استخراج شد. جهت شناسایی سیرکوویروس‌های کبوتری از آزمون nested-PCR استفاده شد.

نتایج: نتایج این تحقیق نشان داد که در ۱۰ نمونه کبدی کبوتران تلف شده (٦۲/۵ درصد)، سیرکوویروس ردیابی شد که این مطالعه، اولین ردیابی مولکولی PiCV در نمونه‌های کبدی کبوتران تلف شده در اهواز می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به آلودگی کبوتران شهر اهواز به PiCV، 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: ۲۳ مرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۲٦ شهریور ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۲۸ آبان ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۹ آذر ۱٤۰۰
(DOI): 0.22034/AEJ.2021.318463.2700

مقدمه

بررسی بیماری‌های پرندگان به‌منظور پیشگیری و کنترل آن‌ها حائز اهمیت می‌باشد (۱، ۲). خانواده سیرکوویریده شامل ویروس‌های کوچک بدون پوشش چندوجهی با ژنوم DNA تک رشته‌ای حلقوی هستند. ویروس اعضای خانواده سیرکویریده به دو جنس سیرکوویروس و ژیروویروس طبقه‌بندی می‌شوند. ویروس کم‌خونی ماکیان (CIAV) بر مبنای بزرگ‌تر بودن ویریون و اندازه ژنوم آن و تفاوت در سازماندهی ژنوم به‌عنوان تنها گونه در جنس ژیروویروس در خانواده Anelloviridae قرار داده شده است. جنس سیرکوویروس شامل سیرکوویروس کبوتر (PiCV)- که تحت عنوان کولومبید سیرکوویروس (CoCV) نیز شناخته می‌شود- سیرکوویروس غاز (GoCV)، سیرکوویروس قناری (CaCV) و سیرکوویروس اردک (DuCV) می‌باشد. سیرکوویروس‌های دیگری که احتمالاً در جنس سیرکوویروس قرار داده می‌شوند عبارتند از سیرکوویروس سهره طلایی و سیرکوویروس کاکایی نقره‌ای. سندروم بیماری کبوتران جوان (YPDS) اختلالی است که منجر به تلفات در کبوتران خانگی و زینتی به‌خصوص بعد از مسابقه می‌شود. معمولاً کبوتران جوان کم‌تر از یک‌سال تحت تاثیر قرار می‌گیرند و علایم غیراختصاصی مانند بی‌اشتهایی، اسهال و تجمع آب و غذا در چینه‌دان را نشان می‌دهد (۳). اخیراً PiCV به‌عنوان یکی از عوامل بالقوه در ایجاد سندروم بیماری کبوتران جوان (YPDS) درنظر گرفته می‌شود. این نظریه بر این اساس بود که هر کبوتر با علائم YPDS از لحاظ حضور PiCV نیز مثبت بود. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل‌های کمی نشان داد که مقدار ماده ژنتیکی PiCV در نمونه‌های اخذ شده از کبوتران بیمار و واجد نشانه‌های بالینی نسبت به کبوترهای سالم بسیار بیش‌تر بود. این مشاهدات با استفاده از روش qPCR توسعه یافته توسط Duchatel و همکاران، تا حدی تأییدشد که نشان‌داد بار ویروسی PiCV در نمونه‌های کبدی جمع‌آوری شده از پرندگان ناشی از YPDS به‌طور قابل توجهی بیش‌تر از افراد تحت بالینی است (۴). عفونت سیرکوویروس کبوتران با نشانه‌های بالینی گوناگونی شامل کاهش وزن، اسهال، ناراحتی تنفسی و عملکرد ضعیف در مسابقه همراه می‌باشد. سرکوب ایمنی ایجاد شده توسط سیرکوویروس می‌تواند زمینه‌ساز عفونت‌های ثانویه در بعضی از پرندگان شود. به‌عنوان مثال، سرکوب ایمنی ایجاد شده توسط عفونت‌های سیرکوویروسی در غاز به‌عنوان عامل مستعدکننده برای سایر پاتوژن‌های میکروبی شامل *Reimerella anatipestifer* و *Aspergillus fumigatus* درنظر گرفته می‌شود (۵). سیرکوویروس‌ها گستره وسیعی از میزبانان مختلف را مبتلا می‌نمایند که شامل پرندگان وحشی و اهلی متعددی می‌باشد. این ویروس در کبوترها موجب کاهش وزن، از دست دادن پرها، چینه‌دان انباشته شده با مایعات زرد، ضعف در مسابقه، ضعف در رشد، تنفس غیرطبیعی، اسهال شدید و تضعیف شدید ایمنی می‌شود که موجب بروز عفونت‌های ثانویه شده و درنهایت می‌تواند تا ۲۰ درصد تلفات ایجاد نماید (۶). انتقال این ویروس به‌صورت افقی با خوردن آب و دان آلوده به مدفوع کبوتران آلوده رخ می‌دهد (۷)، هم‌چنین ویروس از طریق تنفس مواد آلوده (شامل مواد مدفوعی و پودرهای ناشی از پرها) و از طریق عمودی نیز انتقال می‌یابد (۸). به‌دلیل دشواری در رعایت اصول امنیت زیستی در کبوترهای مسابقه‌ای، این بیماری در تمام دنیا رخ می‌دهد (۹). پژوهشگران گزارش نمودند که عفونت با PiCV موجب آتروفی ارگان‌های سیستم ایمنی و آپوپتوز لنفوسیتی می‌شود. کبوتران مبتلا به این بیماری به عفونت‌های تنفسی و گوارشی حساسیت بیش‌تری دارند. هم‌چنین گزارش شده که سیرکوویروس کبوتران در بروز سندرم بیماری جوجه‌های جوان (YPDS) نیز نقش دارد (۱۰). در ایالات متحده عفونت سیرکوویروسی کبوترها اولین‌بار در سال ۱۹۹۳ گزارش شد (۱۱، ۸)، اما براساس برخی گزارشات، این ویروس قبل از آن نیز در کانادا، ایالات متحده و استرالیا وجود داشته است (۱۲). با پیشرفت تکنیک‌های مولکولی در شناسایی سریع و دقیق عفونت PiCV این بیماری در کشورهای مختلف دیگر شامل ایرلند شمالی (۱۳)، آلمان (۱۴)، ایتالیا (۱۵)، فرانسه (۱۶)، جمهوری چک (۱۷)، بلژیک (۱۸)، امارات متحده عربی (۱۹)، ایران (۲۰) و سایر کشورهای جهان تشخیص داده شد. برنامه‌های مسابقه کبوتران، نمایشگاه‌های کبوتران و سایر رخدادهای دیگر موجب گسترش سریع این بیماری در بین جمعیت کبوتران گردیده است. نقل و انتقال تعداد زیادی از پرندگان از یک منطقه جغرافیایی در طی برگزاری نمایشگاه‌های کبوتران می‌تواند منجربه انتشار عوامل بیماری بین کبوتران گردد و در ایجاد سویه‌های نوترکیب این ویروس، همانند سویه نوترکیب سیرکوویروس طوطی‌سانان می‌تواند موثر باشد (۲۱). 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 سیرکوویروس کبوتری با استفاده از تکنیک nested-PCR، در مورد نمونه‌های کبدی کبوتران تلف شده شهر اهواز صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: در این مطالعه از ۲۰ کبوترخانه در مناطق مختلف اهواز که دارای نشانه‌های بالینی و تلفات (در مجموع ۱۶ قطعه تلف شده بودند) بودند، ۱۶ نمونه کبدی اخذ شد. لازم به ذکر است علائم

بالینی در کبوتران بیمار در گله‌های مشکوک شامل بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن همراه با اسهال آبکی سبز یا زرد رنگ بودند. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

استخراج DNA: به‌منظور تعیین حضور سیرکوویروس‌ها در نمونه‌های کبدی، ابتدا استخراج DNA از بافت کبد با استفاده از کیت استخراج DNA سیناپیور (Cinnaclon Co. Iran) و بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. مقدار ۵۰ میلی‌گرم از بافت هموژن کبد در داخل میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری قرارداده شد. مراحل استخراج طبق دستورالعمل کیت استخراج انجام گرفت. درنهایت، DNA استخراج شده در داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری قرار داده شده و پس از آن واکنش PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی که در جداول ۱ و ۲ نمایش داده شده است انجام گرفت.

انجام آزمون nested-PCR: جهت شناسایی PiCV، آزمون nested-PCR با استفاده از یک زوج پرایمر مرحله اول و یک زوج پرایمر مرحله دوم انجام گرفت که زوج پرایمر مرحله دوم، قسمتی از ژن *rep* را مورد هدف قرار می‌دهد و محصولی با طول باند ۳۵۰ جفت باز تولید می‌نماید. شرح کامل توالی نوکلئوتیدی پرایمرها و سیکل دمایی تعریف شده در این دو آزمون در جداول ۱ تا ۴ نشان داده شده‌اند.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اول از تست nested-PCR و توالی آن‌ها

نام آغازگر	توالی نوکلئوتیدی آغازگر	منبع
Cv-s (Sence)	AGAGGTGGGTCTTCACNHTBAAYAA	۲۲
Cv-as (Antisence)	AAGGCAGCCACCCRTARAARTCRTC	

جدول ۲: پرایمرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرازدوم از تست nested-PCR و توالی آن‌ها

نام آغازگر	توالی نوکلئوتیدی آغازگر	منبع
Cn-s (Sence)	AGCAAGGAACCCCTCAYYTBCARGG	۲۲
Cn-as (Antisence)	ACGATGACTTCNGTCTTSMARTCACG	

جهت شناسایی PiCV، nested-PCR با استفاده از پرایمرهای فوق انجام گرفت. جهت همانندسازی اولیه، مجموعاً ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۰/۵ میکرولیتر از جفت پرایمر (هر پرایمر ۰/۲۵ میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر از DNA نمونه، ۱۳/۵ میکرولیتر آب مقطر، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس ۲X استفاده شد. شرایط دمایی با استفاده از ترموسایکلر به‌شرح زیر است:

جدول ۳: برنامه دمایی و زمانی ترموسایکلر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اول از تست nested-PCR

مراحل چرخه	دما	زمان
واسرشت اولیه	۹۵^{0}C	۵ دقیقه
واسرشت	۹۴^{0}C	۳۰ ثانیه
اتصال پرایمرها به الگو	۴۶^{0}C	۱ دقیقه
تکثیر	۷۲^{0}C	۱ دقیقه
تکرار چرخه از مرحله واسرشت به تعداد ۳۵ مرتبه		
تکثیر نهایی	۷۲^{0}C	۵ دقیقه
کاهش دما	۱۰^{0}C	بی پایان
اتمام واکنش		

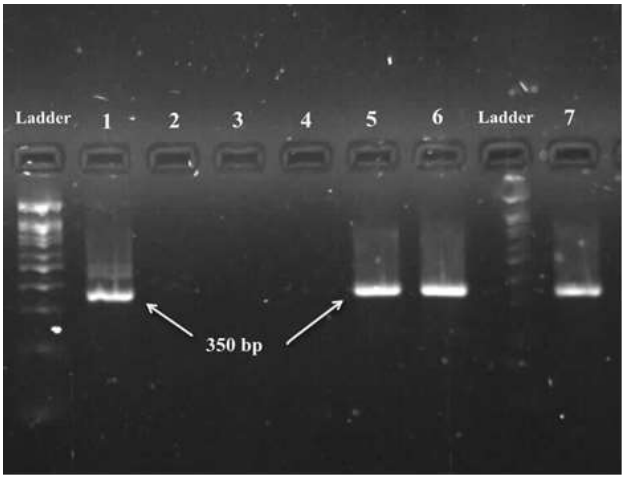
جدول ۴: برنامه دمایی و زمانی ترموسایکلر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز دوم از تست nested-PCR

مراحل چرخه	دما	زمان
واسرشت اولیه	۹۵ ^{0}C	۵ دقیقه
واسرشت	۹۴ ^{0}C	۳۰ ثانیه
اتصال پرایمرها به الگو	۵۶ ^{0}C	۱ دقیقه
تکثیر	۷۲ ^{0}C	۱ دقیقه
تکرار چرخه از مرحله واسرشت به تعداد ۳۵ مرتبه		
تکثیر نهایی	۷۲ ^{0}C	۵ دقیقه
کاهش دما	۱۰ ^{0}C	بی پایان
اتمام واکنش		

محصولات اولیه و ثانویه PCR با الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵٪ در بافر TBE (Tris-Borate-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.

نتایج

براساس جدول ۲، آغازگرهایی مورد استفاده قرار گرفتند که محصولاتی با وزن ۳۵۰ زوج باز ایجاد نمودند. از مجموع ۱۶ نمونه کبدی جمع‌آوری‌شده از کبوترهای خانگی تلف‌شده از کبوترخانه‌های درگیر، ۱۰ نمونه کبدی (۶۲/۵ درصد)، در آزمون PCR (واکنش زنجیره‌ای پلیمراز) مثبت شدند (شکل ۱).



شکل ۱: الکتروفورز در ژل آگارز جهت محصول PCR. ستون‌های Ladder: نردبان ژنی ۱۰۰ جفت‌بازی، ستون ۱: کنترل مثبت، ستون ۲: کنترل منفی، ستون‌های ۳ و ۴: نمونه منفی، ستون‌های ۵-۷: نمونه‌های مثبت و محصول PCR با اندازه ۳۵۰ جفت بازی از PiCV

بحث

در این مطالعه که برای اولین‌بار در اهواز و در استان خوزستان انجام‌شد. ۱۶ نمونه کبدی از کبوتران تلف‌شده متعلق به کبوترخانه‌های درگیر با علائم بالینی بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن، همراه با اسهال آبکی سبز و زردرنگ، جمع‌آوری شد که با استفاده از آزمایش nested-PCR بر روی ۱۶ نمونه، در ۱۰ نمونه (۶۲/۵ درصد)، PiCV ردیابی شد که حاکی از آلودگی کبوتران شهر اهواز به PiCV می‌باشد. اگرچه به‌طور قطع نمی‌توان گفت که PiCV عامل اولیه بیماری است و این امر نیاز به مطالعات تکمیلی مانند بررسی‌های هیستوپاتولوژیی دارد (۲۳)؛ اما از آن‌جاکه تضعیف سیتم ایمنی، نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های پرندگان ایفا می‌کند، در نتیجه این احتمال می‌رود که PiCV نیز، به‌طور بالقوه، نقش تضعیف‌کننده سیستم ایمنی داشته باشد (۱۴، ۲۵، ۲۶). Hattermann و همکاران، در آلمان از بین ۵۳ کبوتر بیمار و سالم با استفاده از PCR نمونه خون، وجود PiCV را در ۱۷ نمونه (۳۲٪) ثابت کردند (۲۷). Todd و همکاران، در بلژیک و شمال ایرلند، در مقایسه ۴ روش مختلف شناسایی سیرکوویروس در کبوتر، بهترین نتیجه را مربوط به PCR دانستند. وجود سیرکوویروس با استفاده از PCR در ۸۴٪ موارد اثبات شد (۲۸). در یک مطالعه در ۱۲ کبوترخانه مختلف که تلفات در جوجه‌های جوان آن‌ها وجود داشت، تلفات از نظر کالبدگشایی و آزمایش بافتی مورد بررسی قرار گرفتند و هم‌چنین از نظر آزمایش مولکولی نیز بررسی‌های لازم صورت گرفت. در تمامی ۱۲ کبوترخانه، سیرکوویروس ردیابی شد و در هیستوپاتولوژی نیز در کبد، طحال و بورس فابریسیوس گنجیدگی‌های داخل سیتوپلاسم و داخل هسته‌ای مشاهده گردید (۲۹). Raue و همکاران در آلمان، با استفاده از PCR وجود سیرکوویروس را در کبد ۴۰ کبوتر از ۴۵ کبوتر مورد آزمایش (۸۸٪) ثابت کردند. آن‌ها هم‌چنین توانستند با استفاده از PCR، وجود سیرکوویروس را در بورس فابریسیوس ۴۵ کبوتر از ۴۵ کبوتر (۱۰۰٪)، و در خون ۲ کبوتر از ۹ کبوتر (۲۲٪) ثابت کنند (۱۴). نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر درخصوص ردیابی سیرکوویروس کبوتر در درصد بالایی از نمونه‌های کبدی هم‌خوانی دارد. Duchatel و همکاران، با استفاده از آزمایش PCR، کبوتران بالغ، جنین کبوترها، پرندگان والد و پرندگان جوان را که از مسابقه کبوترها بازگشته بودند بررسی نمودند. در بررسی‌های انجام شده از ۲۰ نمونه بافتی که شامل کبوتران با سن ۱ تا ۹ سال بود، در ۱۳ مورد (۶۵ درصد) ویروس PiCV ردیابی شد. در نمونه‌های مورد بررسی، ویروس تنها از طحال، کلیه و کبد جدا گردید و در بافت‌های نای، حنجره و ریه در آزمایش PCR، ویروس شناسایی نگردید. در برخی نمونه‌ها ویروس از تخمدان و بیضه‌ها نیز ردیابی شد. هم‌چنین از ۲۲ نمونه جنین مورد بررسی در ۸ مورد DNA ویروس شناسایی گردید که نشان‌دهنده احتمال انتقال عمودی بیماری می‌باشد. نتایج بررسی سوآب‌های مدفوعی نشان داد که در جوجه‌های ۵۱ روزه در ۱۰۰ درصد موارد به PiCV آلوده بودند (۱۸). نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر درخصوص ردیابی سیرکو ویروس کبوتر در نمونه‌های کبدی هم‌خوانی دارد. Schmidt و همکاران، با مطالعه تجربی روی سیرکوویروس کبوتران (PiCV)، این ویروس را در سن ۴ تا ۸ هفتگی به‌روش داخل عضلانی تلقیح نمودند. نتایج بررسی نشان داد که ویروس در بدن همراه با ویرمی بوده و در ماکروفاژهای موجود در بورس فابریسیوس نیز ویروس حضور داشت. هم‌چنین سیرکویروس از کبد و طحال، ۱۴ روز بعد از تلقیح در آزمایش مولکولی مثبت بود (۷). Ledwoń و همکاران، در دبی با نمونه‌گیری از ۱۳۹ پر کبوتر و مدفوع آن‌ها به‌ترتیب به جستجوی سیرکوویروس و آدنوویروس توسط آزمایش PCR پرداختند. آن‌ها هم‌چنین با نمونه‌گیری از کبد ۱۸ کبوتر، همین آزمایش را برای این ویروس‌ها انجام دادند. نتایج آزمایش PCR از بین ۱۳۹ پر آزمایش شده، ۳۰ عدد (۲۱٪) برای سیرکوویروس مثبت بود و نتیجه این آزمایش برای ۱۸ کبد کبوتر، ۱۶ مورد مثبت (۸۹٪) بود (۱۹). نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر درخصوص ردیابی سیرکوویروس کبوتر در درصد بالایی از نمونه‌های کبدی هم‌خوانی دارد. Zhang و همکاران، در شرق چین، با استفاده از آزمایش PCR حضور PiCV را به‌طور میانگین در ۷۵٪ کبوتران شش استان شرقی این کشور اثبات کردند. درصدهای گزارش شده در استان‌های مختلف، بین ۶۱/۹٪ تا

۹۴/۷٪ متفاوت بود (۳۰). Cságola و همکاران در مجارستان، ۵۷٪ از ۱۱۶ کبوتر مورد آزمایش را دارای PiCV شناسایی کردند (۹). بررسی کبوتران بیمار در کشور اسلوونی نشان داد که میزان شیوع سیرکوویروس در کبوتران زیاد می‌باشد و بیش‌ترین میزان موارد ردیابی شده در سوآب‌های کلوآکی ۷۴/۳ درصد بود (۳۱). Stenzel و Pestka در لهستان با آزمایش PCR روی ۱۵۲ کبوتر مختلف، وجود PiCV را در بیش از ۷۰٪ از موارد اثبات کردند. شیوع ۷۶٪ از ویروس مربوط به کبوتران پروازی و ۶۲/۵٪ مربوط به کبوتران قفسی بوده‌است (۳۲). مطالعات Mahzounieh و همکاران، روی سیرکوویروس کبوترها در استان چهارمحال و بختیاری در ایران درخصوص ۵۰ نمونه مدفوعی نشان داد که در ۱۲ نمونه (۲۴ درصد نمونه‌ها) DNA این ویروس وجود داشت (۲۰). Zhang و همکاران در کشور چین، ۱۵۸ نمونه سرمی و بافتی از شش مزرعه نگه‌داری کبوتر جمع‌آوری گردید و با استفاده از آزمایش PCR مشخص گردید که ۸۰/۷ درصد از کبوتران بیمار و ۶۳/۳ درصد کبوتران سالم و در مجموع ۷۵/۳ درصد نمونه‌های مورد آزمایش از نظر ویروس PiCV مثبت بودند (۳۳). Wang و همکاران در چین از مجموع ۲۴۴ نمونه مدفوع کبوتری که با استفاده از آزمایش PCR مورد بررسی قرار دادند در تعداد ۴۸ نمونه (۱۹/۶۷درصد) PiCV ردیابی شد (۳۴). نتایج مطالعه پژوهشگران در کشور برزیل نشان داد که PiCV در کبوترهای اهلی درجنوب‌برزیل ردیابی شد (۳۵). نتایج بررسی ابتلا به سیرکوویروس در کبوتران در کشور استرالیا نشان‌دهنده میزان بالای موارد مثبت ابتلا به این عفونت بود، به‌طوری‌که ۷۶ درصد سوآب کلوآکی مورد آزمایش از نظر حضور ویروس PiCV در آزمایش PCR مثبت بود (۳۶). نتایج تحقیقات Stenzel و همکاران، نشان‌داد که عفونت ناشی از PiCV در کبوتران موجب تضعیف شدید سیستم ایمنی هومورال و تحریک آپوپتوز در لنفوسیت‌های B می‌شود (۳۷). نتایج یک مطالعه بر روی ۱۰۰ نمونه سوآب کلوآکی در شهر موصل کشور عراق نشان داد که ۶۶/۷ درصد از نمونه‌های مورد بررسی از نظر حضور سیرکوویروس مثبت بود (۳۸). در سندرم بیماری کبوتران جوان (YPDS) معمولاً کبوتران جوان کم‌تر از یک‌سال تحت تاثیر قرار می‌گیرند و علایم غیراختصاصی مانند بی‌اشتهایی، اسهال و تجمع آب و غذا در چینه‌دان را نشان می‌دهند. نظر به این‌که PiCV به‌عنوان یکی از عوامل بالقوه در ایجاد سندرم بیماری کبوتران جوان (YPDS) درنظر گرفته می‌شوو با توجه به آلودگی کبوتران شهر اهواز به PiCV، 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 سیرکوویروس و مطالعات کم‌تر در این حیطه، معمولاً این سندرم (YPDS) تشخیص داده نمی‌شود و به اشتباه به‌صورت سایر عفونت‌های مشابه، به‌خصوص نیوکاسل یا سالمونلوز تلقی می‌گردد و به‌همین دلیل درمان‌های غیرموثر در خصوص این بیماری‌ها اعمال می‌گردد. اگرچه تاکنون هیچ داروی اختصاصی جهت کنترل و درمان مشخص نشده است، اما در صورت تشخیص این عفونت، می‌توان درمان‌های حمایتی مناسب را هر چه 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. هم‌چنین از جناب آقای دکتر حداد مرندی که در تهیه نمونه‌های کنترل مثبت و پرایمر یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. **Talazade, F. and Mayahi, M., 2017.** The effect of probiotic including *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidbacterium* on feed conversion ratio and blood serum lipids concentration of broiler chickens. Journal of Animal Environment. 9(1): 95-98. (In Persian)
2. **Talazade, F., Mayahi, M. and Hushmandi, K., 2018.** Survey on the changes of specific antibody titre against Newcastle disease vaccine in broiler chickens after receiving of biohebal® feed supplement (contains thyme and garlic extracts). Journal of Animal Environment. 10(1): 103-106. (In Persian)
3. **Marlier, D. and Vindevogel, H., 2006.** Viral disease in pigeons. The Veterinary Journal. 172: 40-51.
4. **Duchatel, J.P., Todd, D., Willeman, C. and Losson, B., 2009.** Quantification of pigeon circovirus in serum, blood, semen and di_erent tissues of naturally infected pigeons using a real-time polymerase chain reaction. Avian Pathology. 38: 143-148.
5. **Swayne, D.E., 2013.** associate editors, John R. Glisson, et al. Diseases of poultry. USA, Lowa: Blackwell Publishing Ltd.
6. **Duchatel, J.P., Jauniaux, T., Smyth, J., Habsch, I., de Bournonville, M., Losson, B. and Todd, D., 2010.** Effect of a commercial paratyphus vaccine on the development of pigeon circovirus infection in young pigeons (*Columba livia domestica*). Journal of avian medicine and surgery. 24(2): 107-114.
7. **Schmidt, V., Schlömer, J., Lüken, C., Johne, R., Biere, B., Müller, H. and Krautwald-Junghanns, M.E., 2008**. Experimental infection of domestic pigeons with pigeon circovirus. Avian diseases. 52(3): 380-386 .
8. **Woods, L.W., Latimer, K.S., Niagro, F.D., Riddell, C., Crowley, A.M., Anderson, M.L. and Nordhausen, R.W., 1994.** A retrospective study of circovirus infection in pigeons: nine cases (1986-1993). Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 6(2): 156-164 .

9. **Cságola, A., Lőrincz, M., Tombácz, K., Wladár, Z., Kovács, E. and Tuboly, T., 2012.** Genetic diversity of pigeon circovirus in Hungary. Virus Genes. 44: 75-79.

10. **Stenzel, T. and Koncicki, A., 2017.** The epidemiology, molecular characterization and clinical pathology of circovirus infections in pigeons- current knowledge. Veterinary Quarterly. 37(1): 166-174.

11. **Woods, L.W., Latimer, K.S., Barr, B.C., Niagro, F.D., Campagnoli, R.P., Nordhausen, R.W. and Castro, A.E., 1993.** Circovirus-like infection in a pigeon. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 5(4): 609-612 .

12. **Pare, J.A., Brash, M.L., Hunter, D.B. and Hampson, R.J., 1999.** Observations on pigeon circovirus infection in Ontario. The Canadian Veterinary Journal. 40(9): 659.

13. **Todd, D., Weston, J.H., Soike, D. and Smyth, J.A., 2001.** Genome sequence determinations and analyses of novel circoviruses from goose &pigeon. Virology. 286(2):354-362.

14. **Raue, R., Schmidt, V., Freick, M., Reinhardt, B., Johne, R., Kamphausen, L., Kaleta, E., Müller, H. and Junghanns, M., 2005.** A disease complex associated with pigeon circovirus infection, young pigeon disease syndrome. Avian Pathology. 34(5): 418-425.

15. **Franciosini, M.P., Fringuelli, E., Tarhuni, O., Guelfi, G., Todd, D., Proietti, P.C. and Asdrubali, G., 2005.** Development of a polymerase chain reaction-based in vivo method in the diagnosis of subclinical pigeon circovirus infection. Avian diseases. 49(3): 340-343 .

16. **Abadie, J., Nguyen, F., Groizeleau, C., Amenna, N., Fernandez, B., Guereaud, C. and Wyers, M., 2001.** Pigeon circovirus infection: pathological observations and suggested pathogenesis. Avian pathology. 30(2): 149-158.

17. **Taras, L., Kubíček, O.; Juranova, R. and Jurajda, V., 2003.** The first demonstration of pigeon circovirus infection in the Czech Republic based on histological testing and nested PCR. Acta Veterinaria Brno. 72(4): 577-582.

18. **Duchatel, J.P., Todd, D., Smyth, J.A., Bustin, J.C. and Vindevogel, H., 2006.** Observations on detection, excretion and transmission of pigeon circovirus in adult, young and embryonic pigeons. Avian pathology. 35(1): 30-34.

19. **Ledwon, A., Bailey, T., ODonovan, D., Mckeown, S., Lloyd, C., Wieckowski, T., Kinne, J., Silvanose, C., Szeleszczuk, P. and Wernery U., 2011.** Prevalence of circovirus and adenovirus in pigeons in Dubai. Medycyna Weterynaryjna. 67: 752-756 .

20. **Mahzounieh, M., Heidari Khoei, H., Ghasemi Shamsabadi, M. and Dastjerdi, A., 2014**. Detection and phylogenetic characterization of Columbid circoviruses in Chaharmahal va Bakhtiari province, Iran. Avian pathology. 43(6): 524-528.

21. **Julian, L., Piasecki, T., Chrząstek, K., Walters, M., Muhire, B., Harkins, G.W. and Varsani, A., 2013.** Extensive recombination detected among beak and feather disease virus isolates from breeding facilities in Poland. Journal of General Virology. 94(5): 1086-1095 .

22. **Halami, M.Y., Nieper, H., Müller, H. and Johne, R., 2008.** Detection of a novel circovirus in mute swans (Cygnus olor) by using nested broad-spectrum PCR. Virus Res. 132: 208-212.

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

24. **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. 39(4): 723-728.

25. **Wang, C.H. and Chang, C.M., 2000.** Pathogenicity and gene analysis of adenovirus frompigeons with inclusion body hepatitis. Journal of Veterinary Medical Sciences. 62(9): 989-993.

26. **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 experimental infection. Vet. Immunol. Immuno pathol. 121: 130-139.

27. **Hattermann, K., Soike, D., Grund, C. and Mankertz, A., 2002.** A method to diagnose Pigeon circovirus infection in vivo. Journal of Virological Methods. 104: 55-58.

28. **Todd, D.; Duchatel, J.; Weston, J.; Ball, N.; Borghmans, B.; Moffett, D. and Smyth, J., 2002.** Evaluation of polymerase chain reaction and dot blot hybridisation tests in the diagnosis of pigeon circovirus infections. Veterinary Microbiology. 89: 1-16.

29. **Roy, P., Dhillon, A.S., Lauerman, L. and Shivaprasad, H.L., 2003.** Detection of pigeon circovirus by polymerase chain reaction. Avian diseases. 47(1): 218-222.

30. **Zhang, Z., Lu, C., Wang, Y., Wang, S., Dai, D., Chen, Z. and Fan, H., 2011.** Molecular characterization and epidemiological investigation of Pigeon circovirus isolated in eastern China. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 23(4): 665-672.

31. **Krapež, U., Slavec, B., Steyer, A.F., Pintarič, Š., Dobeic, M., Rojs, O.Z. and Dovč, A., 2012.** Prevalence of pigeon circovirus infections in feral pigeons in Ljubljana ,Slovenia. Avian diseases. 56(2): 432-435 .

32. **Stenzel, T. and Pestka, D., 2014.** Occurrence and genetic diversity of pigeon circovirus strains in Poland. Acta veterinaria Hungarica. 62: 274-283.

33. **Zhang, Z., Dai, W., Wang, S. and Dai, D., 2015.** Epidemiology and genetic characteristics of pigeon circovirus (PiCV) in eastern China. Archives of virology. 160(1): 199-206.

34. **Wang, K.C., Zhuang, Q.Y., Qiu, Y., Wang, T. and Chen, J.M., 2017.** Genome sequence characterization of pigeon circoviruses in China. Virus research. 233: 1-7.

35. **Loiko, M.R., Junqueira, D.M., Varela, A.P.M., Tochetto, C., Scheffer, C.M., Lima, D.A. and Mayer, F.Q., 2018.** Columbid circoviruses detected in free ranging pigeons from Southern Brazil: insights on PiCV evolution. Archives of virology. 163(11): 3083-3090.

36. **Sarker, S., Das, S., Ghorashi, S.A., Forwood, J.K. and Raidal, S.R., 2019**. Pigeon circoviruses from feral pigeons in Australia demonstrate extensive recombination and genetic admixture with other circoviruses. Avian pathology. 48(6): 512-520.

37. **Stenzel, T., Dziewulska, D., Tykałowski, B. and Koncicki, A., 2020.** The clinical infection with pigeon circovirus (PiCV) leads to lymphocyte B apoptosis but has no effect on lymphocyte T subpopulation. Pathogens. 9: 632.

38. **Al-Baroodi, S.Y. and Al-Attar, M.Y., 2021.** Isolation and identification of Circovirus in pigeon. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. 35(1): 207-210.