"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2023.1968840.1386

Detection of reoviruses in proventriculitis of broiler chickens in Isfahan province by RT-PCR method and pathological evaluation of related lesions

Karimi, S.[1], Gholami Ahangaran, M.[2*]

1- D.V.M. Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2- Associate Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
*Corresponding author's email: mgholamia1388@yahoo.com
(Received: 2022\10\11 Accepted: 2023\2\19)

Abstract

Proventriculitis is a disease characterized by enlargement of the proventriculus. Several factors including infectious and non-infectious agents play a role in its development. Reoviruses could be considered as a main causal agent of proventriculitis in chickens. Based on clinical evidence and reports of the prevalence of reovirus infection in poultry farms in Iran, the enlargement of proventriculus and proventriculitis may be related to the reovirus infections. In the present study, to detect reoviruses in the proventriculus samples, the S1 gene was amplified by RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction). According to the findings, out of 75 proventriculus samples collected from 15 broiler farms with large proventriculus in Isfahan province, 46 samples (61.33% of the samples) and 10 farms (66.66% of the studied farms) were positive for reovirus based on the amplification of the 532 bp fragment related to the S1 gene. The collected proventriculi were all macroscopically larger than normal and had more thickness. The area connecting the proventriculus to the gizzard was loose and lacked sufficient consistency. In addition, the mucosal layer of the proventriculus was slimy and contained yellow secretions. In all the histopathological sections related to positive samples, necrosis along with inflammatory cells were visible in the superficial and deep glands of the proventriculus. In general, it seems that there is infection with reoviruses in broiler chickens of Isfahan province and this infection can play a role in causing the inflammation and enlargement of the proventriculus, therefore, necessary measures should be taken to control and prevent this infection in broiler chickens.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Broiler chickens, Histopathology, Molecular detection, Proventriculitis, Reovirus.

"مقاله پژوهشی"

DOI: 10.30495/JVCP.2023.1968840.1386

جستجوی رئوویروس‌ها در موارد پیش‌معده التهابی جوجه‌های گوشتی استان اصفهان به روش مولکولی RT-PCR و ارزیابی پاتولوژیکی ضایعات مربوطه

سارا کریمی[۱]، مجید غلامی‌آهنگران[۲*]

۱-دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲-دانشیار علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات : mgholamia1388@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۷/۱۹ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۱/۳۰)

چکیده

التهاب پیش‌معده با بزرگ‌شدگی این ارگان مشخص می‌شود و عوامل متعدد عفونی و غیرعفونی در ایجاد آن نقش دارند و از جمله این عوامل رئوویروس‌ها، هستند. براساس شواهد درمانگاهی و گزارشاتی از شیوع رئوویروس‌ها در مزارع پرورش طیور در ایران، می‌توان بزرگ‌شدگی و التهاب پیش‌معده در جوجه‌های گوشتی را با عفونت‌های رئوویروسی مرتبط دانست. در بررسی حاضر، به منظور شناسایی و ردیابی رئوویروس‌ها در بافت پیش‌معده، ژن S1 به‌روش RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) مورد تکثیر قرار گرفت. براساس یافته‌ها، از ۷۵ نمونه پیش‌معده جمع‌آوری‌شده از ۱۵ فارم جوجه گوشتی استان اصفهان با علایم بزرگی و التهاب پیش‌معده، ۴۶ نمونه (۶۱/۳۳ درصد نمونه‌ها) و ۱۰ فارم (۶۶/۶۶ درصد فارم‌های بررسی‌شده)، بر اساس تکثیر قطعه ۵۳۲ جفت بازی مربوط به ژن S1، از نظر حضور رئوویروس‌ها مثبت ارزیابی شدند. همچنین پیش‌معده‌های جمع‌آوری‌شده، همگی از لحاظ ماکروسکوپی بزرگ‌تر از حالت عادی بوده و ضخامت بیشتری داشتند. ناحیه اتصال به سنگدان هم شل و فاقد قوام کافی بود. علاوه بر آن، بافت مخاطی پیش‌معده لزج و حاوی ترشحات زرد رنگ بود. در تمامی مقاطع هیستوپاتولوژی مربوط به نمونه‌های مثبت از لحاظ رئوویروس نیز، نکروز به همراه سلول‌های التهابی در غدد سطحی و عمقی پیش‌معده قابل مشاهده بود. به نظر می‌رسد آلودگی با رئوویروس‌ها در جوجه‌های گوشتی استان اصفهان وجود دارد و این آلودگی می‌تواند در ایجاد عارضه التهاب و بزرگ‌شدگی پیش‌معده نقش داشته باشد. لذا اقدامات لازم برای کنترل و پیشگیری از این آلودگی در جوجه‌های گوشتی ضروری است.

کلیدواژه‌ها: جوجه گوشتی، التهاب پیش‌معده، رئوویروس، ردیابی مولکولی، هیستوپاتولوژی.

مقدمه

رئـوویروس از جملـه ویروس‌هـای شـناخته‌شـده دخیل در عفونت دستگاه گوارش طیور می‌باشد که تاثیر منفی بر تولید طیور دارد. این ویروس علاوه بر ضایعات گوارشـی می‌توانـد بیماری‌هـایی در خـارج از دسـتگاه گوارش ایجاد کند (Guy *et al*., 1998). رئوویروس‌هـا عامل ایجاد آرتریت/تنوسینوویت ویروسی در جوجـه‌ها و بوقلمون‌ها هستند و باعـث تـورم مفصـل خرگوشـی همراه با ضایعات در عضله دوقلو و تانـدون خـم‌کننـده انگشـتان می‌شـوند. عـلاوه بـر آن، انتریـت، هپاتیـت، میوکاردیت، هیدروپریکارد و تضعیف سیسـتم ایمنـی از سایر عوارض این عفونت است و در سندرم سوء جذب و توقـف رشـد نقـش دارد (Sellers *et al*., 2017). تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهند، عفونت رئوویروسـی پرندگان ممکن است در هر جائی‌که پرورش جوجه‌های گوشتی انجام می‌گیـرد، مشـاهده شـود (Jeong *et al*., 2019). یک مقاومت سنی در مورد این ویـروس مطـرح است و معمولاً پرندگان مسن تر نسبت به ایـن بیمـاری مقاوم تر هستند و کمتر علایم را نشان می دهند. اگرچه مرگ‌ومیر ناشی از این بیماری کم اسـت، امـا ضـررهای اقتصادی آن منجر به کاهش عملکرد و رانـدمان غـذایی می‌شود (Troxler *et al*., 2013). همچنـین رئـوویروس می‌تواند باعث التهاب پیش‌معده قابـل انتقـال ویروسـی در جوجـه‌های گوشـتی شـود (Cătană *et al*., 2012). البته از دیگر عوامل ایجادکننده عارضه مـذکور، می‌تـوان به برناویروس‌ها (Hauck *et al*., 2012)، روتاویروس‌ها، کروناویروس‌هـا، انتـرو ویروس‌هـا، آدنوویروس‌هـا، آستروویروس‌ها و ژیروویروس‌هـا اشـاره کـرد (Gu *et al*., 1998).

رئوویروس پرندگان متعلق به خانواده رئوویریده و یکی از ۵ جنس ارتورئویروس مـی باشـد. ژن S1 در تمـامی سـویه‌های رئـوویروس پرنـدگان از تـوالی نسـبتاً ثـابتی برخوردار است و در آزمون‌های مولکولی برای شناسایی سویه‌های مختلف رئوویروس‌های پرندگان کـاربرد دارد (Sellers, 2022). ژن S1 دارای ۳ تحت ژنوم است کـه در القای خصوصیات بیولوژیکی ویروس شـامل اتصـال سلولی، امتزاج و ادغام سلولی و حتی تولید آنتـی‌بـادی-های اختصاصی خنثی‌کننده نقش دارد (Benavente and Martínez-Costas, 2007).

جداسـازی ویـروس، آزمـون‌هـای مولکـولی و بهره‌گیری از مقاطع هیستوپاتولوژی از روش‌های ارجـح در شناسایی رئوویروس‌ها هستند. بـا ایـن حـال، بـرای شناسایی و بررسی وضعیت اپیـدمیولوژیک آلـودگی بـا رئوویروس‌ها روش سریع و دقیـق مولکـولی بـر سـایر روش‌ها ارجحیت دارد و می‌توانـد نسـبت بـه وضـعیت آلودگی در منطقه، یک پیش‌زمینـه مناسـبی فـراهم کنـد (Souza *et al*., 2018). لـذا در مطالعـه اخیـر از روش ردیابی ژن S1 در نمونه‌های بـافتی پـیش‌معـده اسـتفاده شد.

اگرچه علیه عفونت رئوویروسی، واکسـن موجـود می‌باشد، اما مجوز اسـتفاده از آن در حـال حاضـر فقـط برای گله‌های مرغ مادر بوده و جوجـه‌هـای گوشـتی از طریق مـادری ایمنـی کسـب می‌کننـد. در ایـن ارتبـاط، هرچند گزارش شده که ایمنی مادری می‌تواند محافظـت مطلـوبی در فارم‌هـای گوشـتی تـا پایـان دوره پـرورش حاصـل کنـد (Hafner and Guy, 2013)، امـا شـواهد بالینی نشان می‌دهند که ایمنی مادری برای جلـوگیری از عفونت به طور کامل موثر نیست.

از آنجایی‌که شواهد درمانگاهی از وجود عارضه بزرگی پیش‌معده در جوجه‌های گوشتی وجود دارد و از طرفی گزارشاتی از شیوع رئوویروس‌ها در مزارع پرورش طیور در ایران دیده می‌شود (Hedayati *et al.*, 2013)، لذا می‌توان بزرگ‌شدگی و التهاب پیش‌معده را که در برخی فارم‌های پرورش جوجه گوشتی مشاهده می‌شود با عفونت‌های رئوویروسی مرتبط دانست. البته هرچند در خصوص ایجاد التهاب پیش معده در جوجه‌های گوشتی در اثر آلودگی با رئوویروس‌ها گزارشات اندکی وجود دارد، اما تاکنون در ایران مطالعه‌ای در خصوص نقش آلودگی با رئوویروس‌ها در ایجاد التهاب پیش‌معده انجام نشده است. لذا تحقیق پیش رو برای پی بردن به این موضوع انجام شده تا در صورت مشاهده شواهدی از حضور و دخالت رئوویروس‌ها، برنامه‌های کنترلی مناسب از جمله واکسیناسیون توصیه شود.

مواد و روش‌ها

- **نمونه‌گیری**: در فاصله زمانی فروردین ۱۴۰۰ تا فروردین ۱۴۰۱ از ۱۵ فارم جوجه گوشتی مبتلا به سندرم بزرگ‌شدگی پیش‌معده واقع در استان اصفهان، مطالعه مقطعی حاضر انجام شد که در طی آن، در حین کشتار و بر روی خط کشتار، از هر فارم حداقل ۵ نمونه پیش‌معده جمع‌آوری شده و به صورت انفرادی کدگذاری گردید. در ادامه هر نمونه به دو قسمت تقسیم شد، به این شکل که نمونه‌های بافتی قرارگرفته در فرمالین ۱۰ درصد (Merk, Germany) برای بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیکی در دمای اتاق و نمونه‌های لازم جهت انجام آزمایش RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)، تا زمان انجام آن، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس (Azma Ferdous, Iran) نگه‌داری شدند (Gholami-Ahangaran *et al.*, 2019).

- **استخراج RNA از نمونه‌های پیش‌معده**: RNA رئوویروس‌ها از نمونه‌های بافت پیش‌معده با استفاده از کیت استخراج و تخلیص RNA (دنا زیست، ایران) به روش ستونی و طبق دستوالعمل توصیه‌شده، استخراج گردید. بدین منظور پس از یکنواخت‌سازی نمونه‌ها با اضافه‌سازی ۲- مرکاپتواتانول (دنا زیست، ایران)، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق گرم‌خانه‌گذاری شد. در ادامه برای اتصال RNA به ستون، محلول بافر به همراه اتانول (دنا زیست، ایران)، به نمونه‌ها اضافه شده و ضمن سانتریفیوژ (شیمی‌آزما، ایران) در دور ۱۳۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه، RNA با عبور از محلول به غشای سیلیکا متصل شد. در مرحله شستشو، با اضافه‌سازی بافر (دنا زیست، ایران) و سانتریفیوژ مجدد در ۱۳۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه، ناخالصی‌های باقی‌مانده از غشا خارج و RNA به غشا متصل باقی ماند. در مرحله نهائی بافر شستشو (دنا زیست، ایران) به ستون اضافه شده و مجدداً در ۱۳۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در پایان، بافر شستشو RNA استخراج‌شده از غشاء سیلیکا، از انتهای ستون جمع‌آوری گردید (Asadi *et al.*, 2018).

- **ساخت DNA الگو (cDNA)**: به‌منظور سنتز cDNA لازم جهت انجام آزمایش RT-PCR، مطابق دستورالعمل کیت ترانس‌کریپتاز معکوس (Accu Power RT Master Mix Kit Bioneer, South Korea) عمل شد. به طور خلاصه، پس از مخلوط‌سازی RNA الگو و پرایمر، به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سلسیوس

انکوبه شد. سپس، ۱۰ میکرولیتر از مستر میکس برای انجام واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر استفاده شد. مخلوط پس از ورتکس، به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سلسیوس انکوبه شد. cDNA سنتزشده پس از سردسازی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

- **مراحل انجام RT-PCR**: به‌منظور ردیابی رئوویروس‌ها در بافت پیش‌معده، از تکثیر ژن S1 براساس آزمایش RT-PCR به‌کمک پرایمرهای مربوطه (جدول ۱) و دستگاه ترموسیکلر اپندورف آلمان استفاده شد. پرایمر مورد نظر توسط شرکت تکاپوزیست مورد سنتز قرار گرفت. مواد واکنش‌گر آزمایش مذکور هم شامل ۲/۵ میکرولیتر PCR بافر ۱۰X (سیناژن، ایران)، ۱/۵ میلی‌مول کلریدمنیزیم (سیناژن، ایران)، ۰/۲ میلی‌مول dNTP (سیناژن، ایران)، ۲۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۰/۵ میکرومول از هر پرایمر (سنتز تکاپوزیست) و ۲ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase (سیناژن، ایران) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر بود. همچنین از آب مقطر دوبار تقطیر استریل به عنوان کنترل منفی و از واکسن رئوویروس سویه S1133 (Reomune, Ceva) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برنامه دمایی واکنش RT-PCR نیز شامل واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس برای ۵ دقیقه، واسرشت سازی اصلی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه، همسرشت سازی در دمای ۵۵ درجه سلسیوس برای ۶۰ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سیلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه در ۳۵ سیکل. همچنین گسترش نهایی هم در دمای ۷۲ درجه سیلسیوس طی مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. در پایان هم محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد (۰/۳ گرم آگاروز حل شده در ۲۵ میلی‌لیتر بافر Tris biorate EDTA (TBE)الکتروفورز شده و با DNA سیف استین (کیاژن، ایران) رنگ آمیزی گردید و در نهایت با استفاده از دستگاه UV doc (Bio Tech, China) مشاهده و عکس‌برداری شد (Shabani *et al.*, 2017).

- **تهیه مقاطع هیستوپاتولوژی از نمونه‌های پیش‌معده**: بدین منظور ابتدا از نمونه‌های اخذ شدهٔ بافت پیش‌معده که در فرمالین ۱۰درصد (Merk, Germany) تثبیت شده بودند، بلوک‌های پارافینی تهیه گردید و سپس با استفاده از میکروتوم (Leica, Germany)، برش‌هایی عرضی با ضخامت ۵ میکرومتر از آن‌ها تهیه شد. در نهایت مقاطع تهیه شده با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (Sigmam, USA) رنگ‌آمیزی شده و ضایعات موجود در هریک با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) مشاهده و ثبت گردید (Bancroft and Gamble, 2008).

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن S1 رئوویروس‌ها

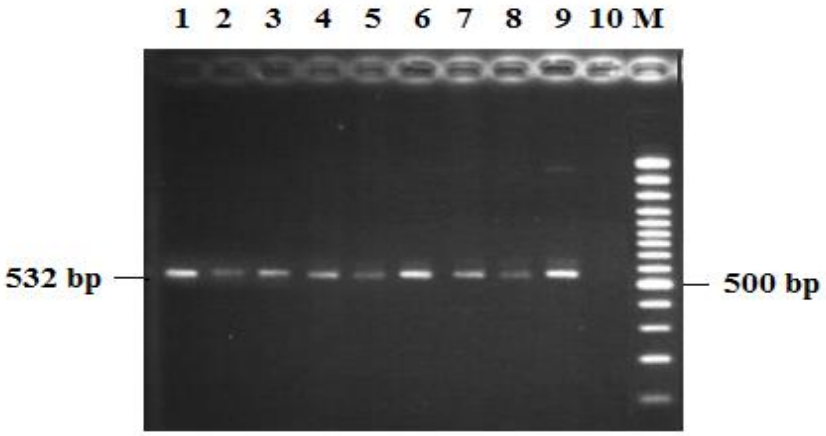
ژن هدف	توالی پرایمرها (′3→′5)	اندازه محصول PCR	منبع
S1	F: GGTGCGACTGCTGTATTTGGTAAC R: AATGGAACGATAGCGTGTGGG	۵۳۲ جفت باز	Xie *et al.*, 1997

یافته‌ها

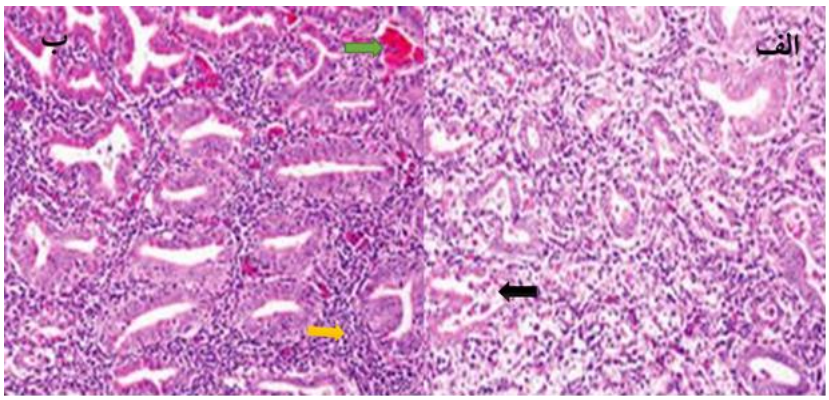
- **نتیجه ردیابی رئوویروس‌ها در نمونه‌های پیش‌معده**: در بررسی حاضر از مجموع ۷۵ نمونه پیش‌معده جمع‌آوری شده از ۱۵ فارم جوجه گوشتی با علایم بزرگ‌شدگی و التهاب، به ترتیب ۴۶ نمونه (۶۱/۳۳ درصد) و ۱۰ فارم (۶۶/۶۶ درصد) از لحاظ تکثیر قطعه ۵۳۲ جفت بازی

ژن S1 رئوویروس (تصویر ۱) مثبت ارزیابی شدند. در جدول ۲ فراوانی نمونه‌های واجد ژن S1 رئوویروس‌ها در هر فارم جوجه گوشتی، به تفکیک ارائه شده‌است.

- نتیجه بررسی ضایعات پاتولوژیکی در نمونه‌های بافتی پیش‌معده: پیش‌معده‌های جمع‌آوری‌شده، همگی از لحاظ ماکروسکوپی بزرگ‌تر از حالت عادی بوده و دارای ضخامت بیشتر بودند. همچنین ناحیه اتصال به سنگدان شل و فاقد قوام کافی بود. علاوه بر آن، بافت مخاطی پیش معده لزج و حاوی ترشحات زردرنگ بوده و فاقد قوام کافی بود. از طرف دیگر در تمامی مقاطع هیستوپاتولوژی مربوط به نمونه‌های مثبت از لحاظ وجود رئوویویروس، نکروز و سلول‌های التهابی در غدد سطحی و همچنین غدد عمقی پیش‌معده مشاهده گردید (شکل ۲).



شکل ۱- تصویری از ژل الکتروفورزشده محصول PCR مربوط به قطعه ۵۳۲ جفت بازی ژن S1 رئوویروس‌ها که در آن ستون‌های ۱ تا ۸ نشان‌دهنده نمونه‌های مثبت، ستون ۹ مربوط به کنترل مثبت، ستون ۱۰ نشان‌دهنده کنترل منفی و ستون M مربوط به مارکر ۱۰۰ جفت بازی(دنازیست، ایران) می‌باشد.



شکل ۲- تصویر میکروسکوپیک ضایعات در نمونه‌های پیش‌معده: الف) نکروز بافت پوششی غدد پیش‌معده (پیکان مشکی)، ب) حضور سلول‌های التهابی (پیکان زرد) و پرخونی (پیکان سبز) در غدد پیش‌معده (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین –ائوزین، درشت نمایی ×۱۰).

جدول ۲- وضعیت فارم‌های بررسی‌شده از لحاظ تعداد نمونه‌های واجد ژنS1 رئوویروس‌ها

کد فارم بررسی‌شده	تعداد نمونه‌های مثبت در فارم	فراوانی موارد مثبت در فارم (درصد)
A	۵	۱۰۰
B	۵	۱۰۰
C	۴	۸۰
D	صفر	۰
E	۴	۸۰
F	صفر	۰
G	۵	۱۰۰
H	۵	۱۰۰
J	صفر	۰
K	۴	۸۰
L	۵	۱۰۰
M	صفر	۰
N	۴	۸۰
O	صفر	۰
P	۵	۱۰۰

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر به ارزیابی آلودگی رئوویروسی در ضایعات پیش‌معده جوجه‌های گوشتی استان اصفهان به روش‌های مولکولی و پاتولوژیکی پرداخته شد که نتایج حاصله از آزمایش مولکولی RT-PCR، حاکی از شیوع آلودگی حدود ۶۶ درصدی با رئوویروس‌ها در فارم‌های جوجه گوشتی استان اصفهان، در موارد التهاب پیش‌معده بود.

در خصوص آلودگی با رئوویروس‌ها در جوجه‌های گوشتی گزارشات متعددی وجود دارد، از جمله آل-ابشای و همکاران به بررسی شیوع سرمی عفونت‌های رئوویروسی در جوجه‌های گوشتی در چند استان مصر در سال‌های ۲۰۱۷ و ۲۰۱۸ پرداختند که ۸۰/۶ درصد موارد، براساس تیتر سرمی و ۳۳/۳ درصد موارد، از لحاظ مولکولی مثبت ارزیابی شدند (Al-Ebshahy *et al.*, 2020). همچنین در مطالعه‌ای که در مصر جهت بررسی رئوویروس‌ها در فارم‌های جوجه‌های گوشتی انجام شده بود، جوجه‌هایی که تیتر بالائی در آزمایش الایزا داشتند، ضایعات مختلفی در کبد، پانکراس و پیش‌معده نشان دادند که باعث کاهش سرعت رشد و آرتریت در میان گله‌های طیور شده‌بود (Mohamed *et al.*, 2016). در پژوهشی هم دانشمندان با القای چالش تجربی رئوویروس‌ها به جوجه‌ها، موارد التهاب پیش‌معده و حضور پلاک‌های بافتی در پیش‌معده را مشاهده نمودند (Kutkat *et al.*, 2010). لذا یافته‌های مطالعه حاضر در خصوص ارتباط بین ردیابی رئوویروس و حضور التهاب در پیش‌معده با گزارشات

قبلی تطابق دارد و با توجه به ردیابی بالای رئـوویروس در گله‌های جوجه گوشتی مبتلا به التهاب پیش‌معده بـه نظر می‌رسد این عامل یکی از عوامل اصـلی ایجادکننـده التهاب در پیش‌معده در منطقه مورد بررسی باشد.

از طرف دیگر، در مطالعه حاضر علاوه بر ارزیـابی مولکـولی نمونـه‌هـا از لحـاظ حضـور رئوویروس‌هـا، نمونه‌های مثبت از نظر پاتولوژیکی نیز بررسی شدند که مشخص شد در تمامی مقاطع هیستوپاتولوژی مربوط به نمونه‌های مثبت از لحاظ حضور رئوویروس، نکروز بـه همـراه سـلول‌های التهـابی در غـدد سـطحی و عمقـی پیش‌معده قابل مشاهده می‌باشد. همچنین پیش‌معـده‌های جمع‌آوری شده، همگی از لحاظ ماکروسکوپی بزرگ‌تـر از حالت عادی بوده و ضخامت بیشتری داشـتند. ناحیـه اتصال به سنگدان هم شل و فاقد قوام کافی بود. عـلاوه بر آن، بافت مخاطی پیش‌معده لزج و حـاوی ترشـحات زرد رنگ بود. در این ارتباط گزارش شده کـه ضـایعات مشاهده‌شده در التهاب پیش معده ناشی از رئوویروس‌ها اختصاصی نیستند چرا کـه در بررسـی‌های دیگـری کـه مشکلات گوارشی مورد ارزیابی قـرار گرفتـه، ضـایعات مشابهی گـزارش شـده‌اسـت. بـرای مثـال کوونهـوون و همکـاران در سـال ۱۹۷۸ در ضـایعات مطالعـه‌شـده در گله‌های مبتلا به سندرم سوء جذب، بزرگ‌شدگی پـیش معده با کانون خونریزی در غدد پیش بطنـی را مشـاهده کرده بودند (Kouwenhoven *et al*., 1978). لذا بررسی ضایعات پاتولوژیک در پیش‌معـده بـه تنهـایی قـادر بـه تشخیص قطعی آلودگی رئوویروسـی نمـی‌باشـد و ایـن ضایعات اختصاصی نیستند (Lenz *et al*., 1998). علاوه بـر آن، اگرچـه وجـود ضـایعات پـاتولوژی و ردیـابی رئوویروس می‌تواند دلیلی بر بیمـاری‌زایـی رئـوویروس در ایجاد این ضایعات باشد، اما در این تحقیق صرفاً بـه آلـودگی رئوویروسـی پرداختـه‌شـده و سـایر عوامـل ایجادکننده التهاب پیش‌معده مورد بررسـی قـرار نگرفتـه است. حال آن‌که این ضـایعات مـی‌تواننـد در اثـر سـایر عوامل و یا به صورت مشترک با رئوویروس‌هـا حاصـل شوند. گزارشات متعددی وجـود دارد کـه بیـان می‌کنـد سایر عوامل ویروسی، تغذیه‌ای و حتی مایکوتوکسـین‌ها نیز در ایجاد التهاب پیش‌معـده نقـش دارنـد، مخصوصـاً ویروس عامل نکروز پیش‌معده جوجه، در ایجاد نکـروز پیش‌معده، تخریب اپیتلیوم غدد پیش‌معده همراه با زخـم در لایه مخاطی نقش دارد که منجر به اخـتلال در هضـم و جـذب و رشـد جوجـه‌ها می‌گـردد (Taha *et al*., 2017). در فارم‌های جوجه‌های گوشتی در کره جنـوبی تنوع ویروس‌های موجود در نمونه‌های پیش‌معـده مبـتلا به التهاب را در بـین سـال‌های ۲۰۰۳ تـا ۲۰۱۲ گـزارش کردند (Kim *et al*., 2015). در مطالعـه‌ای کـه در کـرهٔ جنوبی انجام شده، به بررسـی ۳ گونـه ژیروویـروس در پیش‌معده جوجه‌هایی که مبتلا به ضـایعات پـیش‌معـده بودند، پرداخته‌شده‌است (Yan *et al*., 2022). همچنـین مطالعات دیگری هم در خصوص ایجاد التهاب گوارشی و سـندرم سـوء جـذب در اثـر ژیروویروس‌هـا، سیرکوویروس‌ها و آدنو ویروس‌ها وجود دارد (Guy *et al*., 1998).

نتیجه نهائی بـر اسـاس یافتـه‌هـای تحقیـق حاضـر این‌که، به نظـر مـی‌رسـد آلـودگی بـا رئوویروس‌هـا در جوجه‌های گوشـتی اسـتان اصـفهان وجـود دارد و ایـن آلـودگی می‌توانـد در ایجـاد عارضـه التهـاب و بزرگـی پیش‌معده نقش داشته باشد. لذا انجام اقدامات لازم برای

کنتـرل و پیشـگیری از آلـودگی مـذکور در جوجـه‌های گوشتی الزامی است.

سپاسگزاری

این مقاله مسـتخرج از پایـان‌نامـه دانشـجویی (کـد پایان‌نامه: ۱۴۰۱-۵۴) است. نویسـندگان از خـانم دکتـر الهام مقتـدایی خوراسـگانی بـه دلیـل بررسـی و تفسـیر مقاطع هیستوپاتولوژی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسـندگان اعـلام می‌دارنـد کـه هیچ‌گونـه تضـاد منافعی ندارند.

منابع

- Allawe, A.B., Abbas, A.A. and Taha, Z.H. (2017). Detection of transmissible viral proventriculitis in Iraq. Journal of Entomology and Zoology Studies, 5 (3): 974-978.
- Asadi, J., Gholami-Ahangaran, M. and Momtaz, H. (2018). Molecular detection of Ornithobacterium rhinotracheale in quails of Isfahan province. Veterinary Clinical Pathology, 12(45): 1-7. [In Persian]
- Al-Ebshahy, E., Mohamed, S. and Abas, O. (2020). First report of seroprevalence and genetic characterization of avian orthoreovirus in Egypt. Journal of Tropical Animal Health and Productio, 52 (2): 1049-1054.
- Bancroft, J.D. and Gamble, M. (2008). Theory and practice of histological techniques. 6th ed., Churchill Livingstone: Elsevier Health Sciences, pp: 100-110.
- Benavente, J. and Martínez-Costas, J. (2007). Avian reovirus: structure and biology. Virus Research, 123(2): 105-119.
- Cătană, N., Coman, A. and Fodor, I. (2012). Research on the role of avian reovirus in transmissible viral etiology proventriculitis. Lucrari Stiintifice-Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara, 45(3): 23-26.
- Dormitorio, T.V, Giambrone, J.J. and Hoerr, F.J. (2007). Transmissible proventriculitis in broilers. Avian Pathology, 36(2): 87-91.
- Li, G., Yuan, S., He, M., Zhao, M., Hao, X., Song, M., *et al*. (2018). Emergence of gyrovirus 3 in commercial broiler chickens with transmissible viral proventriculitis. The 16th World Veterinary Poultry Association Transboundary and Emerging Diseases, 65(5): 1170-1174.
- Gholami-Ahangaran, M., Moghtadaiee, E. and Ahmadi, A. (2019). Molecular detection of Marek,s virus in backyard fowl with nodular lesions in visceral organs. Veterinary Clinical Pathology, 13(50): 151-161. [In Persian]
- Grau-Roma, L., Schock, A., Nofrarías, M., Ali Wali, N., de Fraga, A.P., Garcia-Rueda, C., *et al*. (2020). Retrospective study on transmissible viral proventriculitis and chicken proventricular necrosis virus (CPNV) in the UK. Avian Pathology, 49(1): 99-105.
- Guy, J.S. (1998). Virus infections of the gastrointestinal tract of poultry. Poultry Science, 77(8): 1166-1175.
- Hafner, S. and Guy, J.S. (2013). Proventriculitis and proventricular dilatation of broiler chickens. In: Diseases of Poultry. Swayne, D.E., Glisson, J.R., McDouglald, L.R., Nolan, L.K., Suarez, D.L. and Nair, V.L. editors. 13th ed., Ames, IA: Wiley-Blackwell Publishing, pp: 1328-1332.
- Hauck, R., Stoute, S., Senties-Cue, C.G., Guy, J.S. and Shivaprasad, H. L. (2020). A retrospective study of transmissible viral proventriculitis in broiler chickens in California: 2000–18. Avian Diseases, 64(4): 525-531.

- Hedayati, M., Shojadoust, B. and Peyghambari, M. (2012). Identification of reoviruses causing tenosynovitis in birds from Iranian mother hen flocks by RT-PCR and RFLP methods. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 7(2): 135-142.
- Jeong, J.K., Jeong, H., An, E. and Han, S. (2019). The prevalence of avian reovirus infection in poultry farms of Jeonbuk province, Korea. Korean Journal of Veterinary Service, 42(4): 237-243.
- Jones, R.C. and Georgiou, K. (1984). Reovirus-induced tenosynovitis in chickens the influence of age at infection. Avian Pathology, 13(3): 441-457.
- Kim, H.R., Yoon, S.J., Lee, H.S. and Kwon, Y.K. (2015). Identification of a picornavirus from chickens with transmissible viral proventriculitis using metagenomic analysis. Archives of Virology, 160(3): 701-709.
- Kouwenhoven, B., Vertommen, M. and Goren, E. (1988). Investigations into the role of reovirus in the malabsorption syndrome. Avian Pathology, 17(4): 879-892.
- Kutkat, M.A., Hoda, M.A., Khalil, S.A., El-Fatah, M.A. and Torky, H.A. (2010). Studies on proventriculitis in broilers with molecular characterization of its viral causes. Journal of American Science, 6(9): 582-592.
- Lenz, S.D., Hoerr, F.J., Ellis, A.C., Toivio-Kinnucan, M.A. and Yu, M. (1998). Gastrointestinal pathogenicity of adenoviruses and reoviruses isolated from broiler chickens in Alabama. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 10(2): 145-151.
- Marusak, R.A., West, M.A., Davis, J.F., Fletcher, O.J. and Guy, J.S. (2012). Transmissible viral proventriculitis identified in broiler breeder and layer hens. Avian Diseases, 56(4): 757-759.
- Mohamed, S., Al-Ebshahy, E.M., Khalil, S.A., AbdelHady, H.A. and Elbestawy, A.R. (2019). Molecular identification and pathogenicity assessment of avian reovirus in Egypt. Alexandria Journal for Veterinary Sciences, 63(1): 100-110.
- Pantin-Jackwood, M.J., Brown, T.P. and Huff, G.R. (2004). Proventriculitis in broiler chickens: immunohistochemical characterization of the lymphocytes infiltrating the proventricular glands. Veterinary Pathology, 41(6): 641-648.
- Robertson, M.D. and Wilcox, G.E. (1986). Avian reovirus. Veterinary Bulletin, 56 (4): 154-174.
- Sellers, H.S. (2017). Current limitations in control of viral arthritis and tenosynovitis caused by avian reoviruses in commercial poultry. Veterinary Microbiology, 206: 152-156.
- Sellers, H.S. (2022). Avian reoviruses from clinical cases of tenosynovitis: An overview of diagnostic approaches and 10-year review of isolations and genetic characterization. Avian Diseases, 66(4): 420-426.
- Shabani, A.A., Gholami-Ahangaran, M. and Momtaz, H. (2017). Molecular detection of Ornithbacterium rhinotracheale and Newcastle disease virus in ostriches of Isfahan province. Veterinary Clinical Pathology, 11(42): 97-105. [In Persian]
- Souza, S.O., De Carli, S., Lunge, V.R., Ikuta, N., Canal, C.W., Pavarini, S.P., *et al*. (2018). Pathological and molecular findings of avian reoviruses from clinical cases of tenosynovitis in poultry flocks from Brazil. Poultry Science, 97(10): 3550-3555.
- Troxler, S., Rigomier, P., Bilic, I., Liebhart, D., Prokofieva, I., Robineau, B., *et al*. (2013). Identification of a new reovirus causing substantial losses in broiler production in France, despite routine vaccination of breeders. Veterinary Record, 172(21): 556-556.
- Xie, Z., Fadl, A.A., Girshick, T. and Khan, M.I. (1997). Amplification of avian reovirus RNA using the reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Avian Diseases, 18(2): 654-660.
- Yan, T., Li, G., Zhou, D., Hu, L., Hao, X., Li, R. and Cheng, Z. (2022). Long read sequencing revealed proventricular virome of broiler chicken with transmission viral proventriculitis. BMC Veterinary Research, 18(1): 1-7.