ردیابی مولکولی ویروس عامل بیماری مارک درطیورگوشتی کشتار شده درکشتارگاه شهرستان سمنان

جعفری،ف.[۱] ، کفشدوزان،خ.*[۲]، قلیان‌چی لنگرودی،آ.[۳]، عمادی چاشمی،ح.[۱]

دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۱

خلاصه

بیماری مارک نوعی بیماری نئوپلاستیک و بسیار واگیر در پرندگان اهلی‌ست .ویروس عامل بیماری نوعی هرپس ویروس است که موجب تضعیف سیستم ایمنی و افزایش حساسیت پرندگان نسبت به سایر عوامل بیماریزا می‌گردد. اگرچه بیماری بیشتر در پرندگان مولد رخ می‌دهد، اما وقوع آن در جوجه‌های گوشتی نیز رو به افزایش است. با توجه به احتمال حضور ویروس مارک در گله‌های گوشتی و اهمیت آن، بررسی حضور ویروس مارک در گله‌های طیورگوشتی شهرستان سمنان تعیین شد. به منظور ردیابی ملکولی ویروس علمل مارک، فولیکول‌های پر و بافت طحال مربوط به ۱۵ گله مرغ گوشتی با سن ۸-۶ هفته ارجاع شده به کشتارگاه طیور شهرستان سمنان به طور تصادفی جمع آوری شده و حضور ژن meq به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در ۲ گله از ۱۵ گله مورد بررسی (۱۳/۶ درصد)، ویروس عامل بیماری حضور داشته است. در هیچ‌یک از گله‌های مورد بررسی، ضایعات ماکروسکوپیک مشاهده نشد. حضور ویروس، بدون مشاهده هیچگونه علائم بالینی و عوارض ماکروسکوپیک در گله‌های گوشتی حاکی از آن است که واکسیناسیون گله‌های مولد نتوانسته موجب توقف بیماری در طیور تجاری ایران شود. با توجه به ماهیت سرکوبگر ایمنی ویروس مارک، به نظر می‌رسد این ویروس به همراه سایر عوامل سرکوبگر ایمنی نظیر آدنوویروس‌ها نقش بسیار زیادی در سندروم تضعیف سیستم ایمنی پرندگان در ایران دارد. به همین دلیل پیشنهاد می‌شود به منظور کاهش خسارات اقتصادی ناشی از این بیماری، اتخاذ اقدامات پیشگیرانه مورد توجه سیاستگزاران بهداشتی کشور قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: جوجه‌های گوشتی، خسارت اقتصادی، سرکوب ایمنی، مارک، ژن meq

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
* نویسنده مسئول kafshdouzan@semnan.ac.ir

مقدمه

یکی بیماری مارک (Marek's Disease) نوعی عفونت ویروسی لنفوپرولیفراتیو، همراه با ضایعات نئوپلاستیک است که معمولا در پرندگان اهلی رخ می دهد. ویروس عامل این بیماری متعلق به جنس Mardivirusتحت خانواده Alphaherpes virinae می‌باشد و تاکنون سه سروتیپ از این ویروس شناسایی شده است. سروتیپ یک یا گالید هرپس ویروس ۲ (GaHV_2)، تنها سروتیپی است که قادر به ایجاد ضایعات نئوپلاستیک بوده و عامل بیماری مارک است (Ijeoma و همکاران، ۲۰۲۰؛ Othman و همکاران، ۲۰۱۹). پاتوتیپ‌های این سروتیپ به سه دسته بسیار حاد، حاد و ملایم تقسیم می‌شوند که قادرند درجات مختلفی از بیماری را ایجاد نمایند (Kozdrun و همکاران، ۲۰۲۰؛ Mohammadi و همکاران، ۲۰۰۵). سروتیپ دو به طور طبیعی قادر به ایجاد بیماری نبوده و تومورزا نیست و سروتیپ سه شامل سویه‌هایی است که از بوقلمون جدا شده اند. بیماری گسترش جهانی دارد و در پرندگان با سن بالاتر از ۴-۳ هفته مشاهده می‌شود. اما غالبا پرندگان در سنین ۱۲ تا ۳۰ هفتگی درگیر می‌شوند. این بیماری بسیار مسری بوده و بهترین راه انتقال آن دستگاه تنفس است. اگرچه ویروس در ترشحات دستگاه تنفس نظیر بینی و نای و همچنین در مدفوع وجود دارد اما، سلول‌های اپیتلیال فولیکول های پر و پر ریزه ها (dander) منبع اصلی عفونت محسوب می‌شوند (Saravanajayam و همکاران، ۲۰۲۱). ویروس به صورت زایا در این مناطق وجود دارد و تا یک سال در محیط باقی مانده و از طریق گرد و غبار حاوی پر ریزه‌ها از راه دستگاه تنفس به بدن پرنده راه می‌یابد. شواهدی از انتقال بیماری به صورت عمودی وجود ندارد. این بیماری در سراسر جهان گزارش شده و معمولا به دو شکل کلاسیک و حاد بروز می‌کند (Othman و همکاران، ۲۰۱۹؛ Farhoodi و همکاران، ۲۰۰۷). علائم عمدتا شامل ضعف و بی اشتهایی، رنگ پریدگی تاج، ریش، ملتحمه و گاه آماس در این نواحی است. در شکل کلاسیک عدم تطابق در حرکت و فلجی پاها مشاهده می شود. درگیری بیشتر در بافت هایی نظیر اعصاب محیطی، عنبیه، گنادها، طحال، قلب، شش، کبد و عضلات رخ می‌دهد (Mete و همکاران، ۲۰۱۶). عواملی که در اپیدمیولوژی و وقوع بیماری موثرند عبارتند از سن، جنسیت، ژنوتیپ میزبان، سویه ویروس بیماریزا و واکسیناسیون. تا پیش از بکارگیری واکسن مارک در سال ۱۹۷۱، این بیماری یکی از بیماری‌های بسیار خطرناک در سراسر جهان محسوب می‌شد. استفاده از واکسن مارک، مرگ و میر ناشی از این بیماری و خسارت‌های اقتصادی ناشی از آن را به طور چشمگیری کاهش داد (Ijeoma و همکاران، ۲۰۲۰). اما پیدایش سویه‌های جدید که به صورت دوره‌ای رخ می دهد، یکی از معضلاتی ست که موجب شده است واکسن‌های موجود محافظت مطلوبی در مقابل این بیماری ایجاد نکنند و این بیماری همچنان به عنوان یک تهدید جدی در صنعت طیور محسوب شود (Chauhanو همکاران، ۲۰۲۱). تشخیص بیماری از طریق مشاهده علائم بالینی، بررسی ضایعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی، شناسایی آنتی‌ژن، ارزیابی پادتن های ضد MDVبا استفاده از الیزا و یا انتشار در ژل آگارز (AGID) و همچنین روش‌های ملکولی صورت می‌گیرد. اما به دلیل وجود واکنش‌های متقاطع بین سروتیپ‌های مختلف ویروس با روش‌های مبتنی بر آنتی‌بادی نظیر الیزا و AGID نمی‌توان ویروس را به طور دقیق تشخیص داد. همچنین به دلیل خنثی شدن ویروس‌های تیپ ۲و ۳ به وسیله آنتی بادی‌های سروتیپ ۱، حتی پس از جداسازی ویروس و کشت در سلول‌های فیبروبلاست جوجه هم تشخیص قطعی ویروس مقدور نیست. به همین خاطر بهترین روش تشخیص این ویروس، استفاده از روش‌های ملکولی نظیر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است (Mohammadi و همکاران، ۲۰۰۵).

علیرغم اینکه به دلیل واکسیناسیون بیماری در پرندگان به طور چشمگیری کاهش یافته، اما به دلیل ظهور سویه‌های جدید و کارایی ناکافی واکسن، بیماری همچنان یکی از معضلات بزرگ صنعت طیور محسوب می‌شود (Chauhan و همکاران، ۲۰۲۱). با توجه به دوره کوتاه پرورش جوجه‌های گوشتی نسبت به طیور تخمگذار، و ماهیت پیشرونده بیماری در این دسته از پرندگان معمولا علائم بیماری به صورت تحت بالینی خواهد بود و تخریب لنفوسیتی متعاقب عفونت با این ویروس موجب کاهش کفایت سیستم ایمنی و حساسیت به سایر عفونت‌ها خواهد شد. به همین خاطر عواقب ناشی از تضعیف سیستم ایمنی و حساسیت به سایر بیماری‌های عفونی، کاهش نرخ رشد، حذف فرآورده‌های فرعی طیور به‌دلیل وجود ضایعات نئوپلاستیک و کاهش بازارپسندی به‌دلیل ضایعات جلدی موجب بروز خسارت‌های اقتصادی فراوان به صنعت طیور می‌گردد (Bertzbach و همکاران، ۲۰۲۰). به دلیل ماهیت این بیماری دستیابی به آمار دقیق میزان شیوع بیماری، خسارات اقتصادی و اثربخشی واکسیناسیون بسیار

دشوار است. به همین خاطر اطلاعات موجود در این رابطه اگرچه بسیار محدود است اما ارزشمند تلقی می‌گردد. بررسی ملکولی بیماری مارک در استان‌های مختلف ایران می‌تواند به تخمین شیوع بیماری، کیفیت مدیریت، وضعیت آینده واکسیناسیون این بیماری و مدیریت بیماری‌های تضعیف کننده سیستم ایمنی، کمک کند.

استان سمنان یکی از اصلی‌ترین مراکز پرورش طیور گوشتی کشور محسوب می‌شود. تاکنون مطالعه‌ای پیرامون وضعیت بیماری مارک در این استان صورت نگرفته است. از اینرو هدف از تحقیق حاضر مطالعه مقدماتی ردیابی ملکولی ویروس عامل بیماری مارک در تعدادی از گله‌های طیورگوشتی کشتار شده در یکی از کشتارگاه‌های شهرستان سمنان تعیین شد.

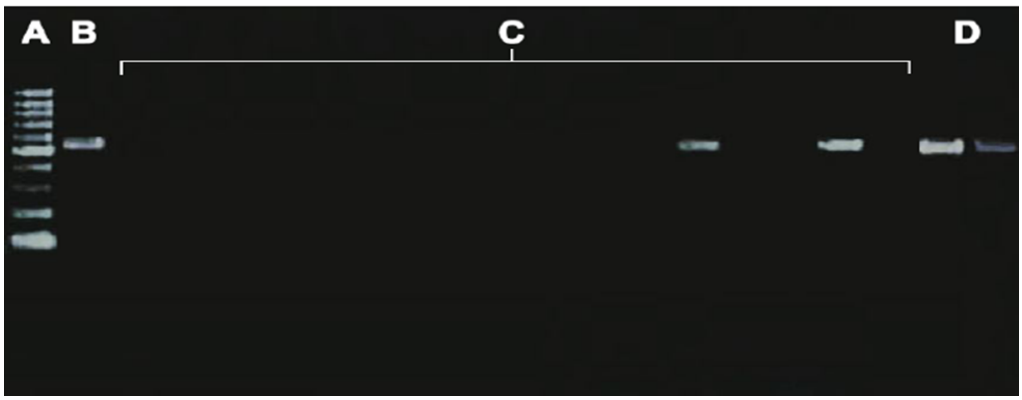
مواد و روش کار

به منظور ردیابی مولکولی ویروس مارک در طیور گوشتی شهرستان سمنان طی مراجعات متعدد به کشتارگاه در مهرماه سال ۱۳۹۸ از تعداد ۱۵ گله مرغ گوشتی با سن تقریبی ۸-۶ هفته، ارجاع شده به کشتارگاه گلچین طیور سمنان نمونه‌گیری به عمل آمد. پرندگان از نظر وجود ضایعات ماکروسکوپی نظیر برآمدگی فولیکول‌های پر، وجود ضایعه در طحال و کبد به طور کامل مورد ارزیابی قرار می گرفتند. از هر گله ۱۰ قطعه پرنده انتخاب شد. نمونه ها از فولیکول‌های پر و همچنین طحال هر ۱۰ پرنده اخذ و جهت انجام مراحل بعدی کار، در مجاورت یخ به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان ارسال گردید. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری استخراج DNA شرکت سیناژن صورت گرفت. از DNA استخراج شده از واکسن دوگانه Rispens + HVT (شرکت IZO، ایتالیا) به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد. از آنجاییکه آلودگی فولیکول‌های پر پس از آلودگی طحال ایجاد می-شود، استخراج DNA از فولیکول‌های پر در موارد مثبت آلودگی طحال صورت گرفت.

واکنش PCR به جهت بررسی حضور ژن *meq* با طول ۵۷۷ bp با استفاده از آغازگرهای اختصاصی انجام پذیرفت (Wajid و همکاران، ۲۰۱۳). مشخصات آغازگرهای مورد استفاده و برنامه حرارتی مورد استفاده در جدول یک درج شده است. واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲۰۰ میکرومول مخلوط dNTP، ۱/۵میکرومول MgCl، ۲/۵ میکرولیتر بافر ، ۲/۵ واحد Taq DNA پلی‌مراز، ۲/۵ میکرولیتر DNA الگو و ۰/۲ میکرومول از هرآغازگر بود. واکنشگرهای مورد استفاده همگی از شرکت سیناژن تهیه شدند. محصول نهایی واکنش در ژل آگارز ۱درصد مورد ارزیابی قرار گرفت (تصویر شماره یک).

جدول ۱. توالی آغازگر و شرایط دمایی مورد استفاده در واکنش زنجیره ای پلیمراز

منبع	ژن هدف	اندازه فرآورده (bp)	شرایطPCR			توالی (5′-3′)	پرایمر
			دمای گسترش، اتصال و واسرشت				
۲	*meq*	577	72°C, 20 s	54°C, 10 s	۹۵°C, 10 s	ATTCCGCACACTGATTCC AGCAATGTGGAGCGTTA G	meq-F meq -R



تصویر ۱. تصویر به دست آمده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز. چاهکA : مارکر با وزن ملکولی ۱۰۰bp. چاهک B: کنترل مثبت. چاهک C : نمونه‌های طحال مربوط به ۱۵گله مورد بررسی. چاهک D: نمونه‌های فولیکول‌های پر مربوط به گله‌های مثبت.

نتایج

در از تعداد ۱۵ گله مورد بررسی در این مطالعه، نمونه‌های طحال مربوط به دوگله (۱۳/۳٪) از نظر وجود ژن *meq* مثبت ارزیابی شدند. با در نظر گرفتن این نتیجه و با توجه به این‌که آلودگی فولیکول‌های پر پس از آلودگی طحال رخ می‌دهد، DNA اپی‌تلیوم فولیکول پر این دو گله استخراج شده و از نظر حضور ژن ذکر شده با استفاده از پرایمر اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مربوط به فولیکول‌های پر این پرندگان نیز نشانگر آلودگی فولیکول-های پر این پرندگان به ویروس مارک بود. در هیچ یک از نمونه های مورد بررسی ضایعات ماکروسکوپیک در فولیکول های پر، طحال و کبد مشاهده نشد.

بحث

بیماری مارک یکی از بیماری‌های ویروسی مهمی است که سالیانه خسارت‌های اقتصادی زیادی به صنعت طیور وارد می‌کند. گزارش‌ها نشان می‌دهد این بیماری در آمریکا موجب خسارت سالیانه ۲-۱ بیلیون دلار می‌شود (Ozan و همکاران، ۲۰۲۱). اما به نظر می‌رسد تخمین دقیقی از میزان ضررهای اقتصادی ناشی از این بیماری در ایران وجود نداشته باشد. خسارت‌های ناشی از این بیماری منحصر به ضایعات قابل مشاهده بیماری نیست و عوارض ناشی از سرکوب سیستم ایمنی و همچنین همراهی و هم-افزایی اثرات آن با عواملی نظیر رئوویروس‌ها، آدنوویروس-ها و ویروس عامل بیماری کم‌خونی عفونی جوجه‌ها از چالش‌های بسیار مهم این بیماری به خصوص در جوجه-های گوشتی محسوب می‌شود (Farhoodi و همکاران، ۲۰۰۷).

درحال حاضر استفاده از روش‌های ملکولی بهترین روش تشخیص بیماری مارک به شمار می‌رود. در میان بیش از ۲۰۰ ژن موجود در ژنوم GaHV_2، ژن meq (Marek's Eco RI-Q)پروتئینی به طول ۳۳۹ اسیدآمینه کد می‌کند که در هسته سلول‌های لنفوما و سلول‌های توموری بیان می‌شود. از آنجاییکه این ژن منحصر به سروتیپ ۱ (GaHV_2) می‌باشد و سایر سروتیپ‌ها واجد این ژن نیستند، حضور این ژن به منظور ردیابی ملکولی بیماری مارک مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Kozdrun و همکاران، ۲۰۲۰؛ Mescolini و همکاران، ۲۰۱۹).

این بیماری در کشورهای مختلف دنیا گزارش شده و حضور پاتوتیپ‌های حاد و بسیار حاد در کشورهای همسایه نظیر ترکیه و عراق، ضرورت مطالعه بیشتر و دقیق‌تر این بیماری را افزایش می‌دهد. در مطالعه Ozan و همکاران در سال ۲۰۲۱، تعیین توالی ژن *meq* جدا شده از ۱۶ پرنده تلف شده در گله بوقلمون مشکوک به مارک در ترکیه نشان داد توالی اسیدهای نوکلئیک این ژن بیش از ۹۹ درصد با توالی ژنی سویه‌های حاد و فوق حاد جدا شده از ایتالیا و لهستان شباهت دارد (Ozan و همکاران، ۲۰۲۱). Wajid و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ با بررسی ۱۰۹ نمونه، شامل ۵۲ نمونه غبار سالن پرورش مرغ گوشتی، ۳۰ نمونه طحال مرغ گوشتی و ۲۷ نمونه طحال مرغ تخمگذار محلی، حضور ویروس مارک را به ترتیب در ۵۹/۱، ۴۶/۷ و ۴۸/۱ درصد از نمونه‌های غبار سالن، طحال مرغ‌های گوشتی و طحال مرغ محلی تخمگذار گزارش کردند. تعیین توالی ۹ ژن *meq* جدا شده نشان داد کلیه موارد متعلق به پاتوتیپ بسیار حاد بودند (Wajid و همکاران، ۲۰۱۳).

در مطالعه حاضر ۱۵۰ نمونه از طحال و فولیکول پر متعلق به ۱۵ گله مرغ گوشتی ارجاع شده به کشتارگاه طیور شهرستان سمنان اخذ و حضور ژن *meq* در دوگله (۱۳/۶ درصد) با استفاده از روش PCR مورد تائید قرار گرفت. در هیچ یک از موارد مثبت مشاهده شده علائم ماکروسکوپیک ناشی از درگیری مشاهده نگردید. این مساله احتمالا به علت طول دوره پرورش طیور گوشتی است که موجب میشود فرصت کافی برای تکوین و بروز علائم فراهم نگردد. تاکنون مطالعات زیادی در رابطه با وضعیت بیماری مارک در ایران به چاپ نرسیده است. در مطالعه‌ای که توسط محمدی و همکاران در سال ۱۳۸۴ صورت گرفت، تعداد ۴۰ نمونه خون از طیور تخمگذار فاقد علائم بالینی با سن ۱۹ هفته و ۴۲ نمونه بافت توموری از پرندگان تجاری مورد بررسی قرار گرفت. هیچ‌یک از نمونه-های خون واجد ویروس، حتی سویه‌های واکسینال نبودند. اما در ۴۷/۶ درصد بافت‌های مورد بررسی، اسیدنوکلئیک ویروس مارک حضور داشت (Mohammadi و همکاران، ۲۰۰۵). در مطالعه مشابه دیگری که توسط فرهودی و همکاران در سال ۱۳۸۶ صورت گرفت، ۲۲ گله مرغ گوشتی استان‌های خراسان، تهران و اصفهان از نظر حضور ویروس مارک مورد مطالعه ملکولی و هیستوپاتولوژی قرار گرفتند.۲۷ درصد گله‌های مورد بررسی در این مطالعه از نظر ملکولی مثبت ارزیابی شدند. تعدادی از موارد مثبت در گله‌هایی مشاهده گردید که هیچ‌گونه علائم میکروسکوپی و ماکروسکوپی در آنها وجود نداشت (Farhoodi و همکاران، ۲۰۰۷). در همین راستا در مطالعه‌ای که توسط نصیری و همکاران با بررسی حدود ۱۲۰۰۰ قطعه مرغ گوشتی با سن تقریبی ۱۰-۷ هفته در شهرستان ارومیه صورت گرفت، ضایعات ماکروسکوپیک بیماری مارک در ۸ قطعه پرنده به ثبت رسید. بررسی

هیستوپاتولوژی کبد، طحال، چشم، بورس فابریسیوس و عصب سیاتیک این پرندگان نشان داد که، فقط طحال و کبد دچار ضایعات لنفوپرولیفراتیو شده و در هیچ‌یک از اندام‌های دیگر ضایعه مشاهده نمی‌شود (Nassiry و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج این مطالعات موید این مطلب است که علیرغم حضور ویروس در گله‌های گوشتی، ظهور علائم بالینی بسیار نادر است و به همین خاطر این بیماری در سطوح کلان مدیریتی و بهداشتی سازمان دامپزشکی، مورد توجه قرار نمی‌گیرد. این مساله با توجه به عوارض مرتبط با سرکوب سیستم ایمنی و نیز قدرت سرایت بسیار زیاد ویروس موجب خسارت‌های اقتصادی زیادی به صنعت طیور مولد و گوشتی می‌گردد. از سوی دیگر مروری بر مطالعات صورت گرفته در سراسر دنیا نشان می‌دهد؛ ویروس عامل بیماری مارک در طول سالیان گذشته دچار جهش‌های متعددی شده که این مساله موجب افزایش حدت ویروس،کاهش کارآمدی واکسن‌های رایج و نیز تغییر در واکسن های مصرفی شده است (Chauhan و همکاران، ۲۰۲۱). با توجه به اینکه انتقال ویروس فقط به صورت افقی صورت میگیرد، آگاهی از وضعیت بیماری در منطقه، اجرای دقیق اصول امنیت زیستی، انتخاب نژادهای مقاوم و برنامه صحیح واکسیناسیون در کنترل بیماری بسیار موثر است (López و همکاران، ۲۰۱۹).

نتیجه‌گیری نهایی: بررسی‌ها نشان می‌دهد ویروس عامل بیماری مارک در گله‌های گوشتی کشورمان حضور دارد. حضور MDV-1 تومورزا (حاوی ژن meq) در جوجه‌های گوشتی بدون سابقه واکسیناسیون، تهدید بزرگی در انتقال بیماری بین انواع مختلف طیور منطقه محسوب می‌شود. اگرچه به دلیل دوره کوتاه پرورش جوجه‌های گوشتی، ضایعات پاتولوژیک به ندرت مشاهده می‌شود، اما پرریزه ها به عنوان منبع اصلی ویروس نقش بسزایی در انتقال بیماری دارند. به همین خاطر با توجه به عوارض تحت بالینی این بیماری به ویژه نقصان ایمنی در جوجه‌های گوشتی و شیوع فزاینده ویروس‌های سرکوبگر ایمنی نظیر آدنوویروس‌ها، بیماری مارک باید به عنوان یکی از معضلات جدی صنعت طیور مورد توجه سیاستگزاران بهداشتی قرار گیرد. از آنجاییکه تاکنون بررسی جامعی در رابطه با سویه‌های در گردش این ویروس در استان‌های مختلف کشور صورت نگرفته است، پیشنهاد می‌شود جداسازی ویروس در مناطق مختلف جغرافیایی و تعیین پاتوتیپ هر منطقه به منظور تدوین استانداردهای امنیت زیستی و توسعه استراتژی‌های کنترل موثر بیماری نظیر واکسیناسیون جوجه‌های گوشتی و همچنین ارزیابی اثربخشی واکسن درطیور تخمگذار و اجداد در دستور کار سازمان دامپزشکی کشور قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را از جناب آقای دکتر سید حسین حسینی به جهت همکاری صمیمانه در انجام مراحل آزمایشگاهی این تحقیق ابراز می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می نمایند هیچگونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی:

این مطالعه در قالب پایان نامه دوره دکتری عمومی دامپزشکی دانشجو انجام شده است.

Journal of Veterinary Laboratory Research 14 (2022) 5-12

Molecular detection of the Marek disease virus in slaughtered broiler in Semnan slaughterhouse

jafari,F.[1], Kafshdozan,kh.[2*], Ghalyanchi langroudi,A.[3], Emadi Chashmi,H.[1]

Received: 13.04.2021 Accepted: 02.09.2022

Abstract

Marek's disease (MD) is a highly contagious neoplastic disease in poultry. The causative virus is an alphaherpesvirus that causes immunosuppression and predisposes poultry to other pathogens. Although the MD is more common in laying, the incidence of the disease is also increasing in broilers. Due to the increasing rate of infection with the marker virus in broiler chickens, this study aimed to investigate the occurrence of MD in broiler poultry farms in Semnan, Iran. The feather follicle epithelium and spleen tissues were collected randomly from 15 broilers flocks at 6-10 weeks old in Semnan slaughterhouse and were subjected to polymerase chain reaction by amplifying the *meq* gene. The results of this study showed of 15 flocks, two (13.6%) had a positive reaction. There was no evidence of macroscopic lesions among the studied flocks. Considering the infection of 13.6% of the studied flocks, without any macroscopic complications, it seems the MD virus is circulating in broilers and could transmit to the other birds. It is indicated that the current national vaccination has not stopped the disease in commercial chickens. Due to the immunosuppressive properties of the virus, it is considered that the MD virus, along with other immunosuppressive agents such as adenoviruses, has an essential role in the development of immunosuppression syndrome in broilers in Iran, and to reduce the economic losses caused by this disease, effective prophylactic measures should be considered by the country's health officials.

Keywords: Boilers, Economic losses, Immunosuppression, Marek, meq

1- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

2-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

3-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran

*Corresponding author: kafshdouzan@semnan.ac.ir

منابع

Bertzbach, L.D., Conradie, A.M., You, Y., Kaufer, B.B. 2020. Latest insights into Marek's disease virus pathogenesis and tumorigenesis. Cancers. **12(3)**, 1-11.

Chauhan, R., Singh, A., Singh, P.K., Teja, E.S., Varshney, R. 2021. Dynamics of Marek's disease in poultry industry. The Pharma Innovation Journal. **10(1)**, 80-83.

Farhoodi, M., Toroghi, R., Bassami, M.R., Kianizade, M., Charkhkar, S. 2007. Marek's disease among broiler's chicken flocks in khorasan, Esfahan and Tehran. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences. **4(2)**, 133-138.

Ijeoma, U.J., Chioma, I.S., Andrew, O. 2020. Age-Infection Model and Control of Marek Disease. Applied and Computational Mathematics. **9(5)**, 165-174.

Kozdruń, W., Styś-Fijol, N., Czekaj, H., Piekarska, K., Niczyporuk, J.S., Stolarek, A. 2020. Occurrence of Marek's disease in Poland on the basis of diagnostic examination in 2015–2018. Journal of veterinary research. **64(4)**, 503-507.

López, O.S., Villar, A.D., Chaparro, G.J. 2019. Challenges in the diagnosis and control of Marek's disease virus in Colombia. Revista MVZ Córdoba. **24(1)**, 7157-7165.

Mescolini, G., Lupini, C., Felice, V., Guerrini, A., Silveira, F., Cecchinato, M., Catelli, E. 2019. Molecular characterization of the meq gene of Marek's disease viruses detected in unvaccinated backyard chickens reveals the circulation of low- and high-virulence strains. Poultry science. **98(8)**, 3130-3137.

Mete, A., Gharpure, R., Pitesky, M.E., Famini, D., Sverlow, K., Dunn, J. 2016. Marek's disease in backyard chickens, a study of pathologic findings and viral loads in tumorous and nontumorous birds. Avian diseases. **60(4)**, 826-836.

Mohammadi, A., Keyvanfar, H., Hematzadeh, F., Bozorg, M.M. 2005. Molecular Diagnosis of Marek Disease Virus (MDV) in Iran. Journal of Veterinary Research. **60(2)**, 125-130.

Nassiry, M., Sohrabi Haghdoost, I., Sadrkhanlou, R.A., Talebi, A. 2007. A histopathologic study of Marek's disease (MD) lesions in slaughtered Broilers in Urmia slaughterhouse. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences. **18(4)**, 179-186.

Othman, I., Aklilu, E. 2019. Marek's disease herpesvirus serotype 1 in broiler breeder and layer chickens in Malaysia. Veterinary World. **12(3)**, 472-476.

Ozan, E., Muftuoglu, B., Sahindokuyucu, I., Kurucay, H.N., Inal, S., Kuruca, N., Yazici, Z. 2021. Marek's disease virus in vaccinated poultry flocks in Turkey: its first isolation with molecular characterization. Archives of Virology. **166(2)**, 559-569.

Saravanajayam, M., Palanivel, K.M., Selvaraju, G., Srinivasan, P., Balasubramaniam, A. 2021. Molecular detection of Marek's disease virus-1 (MDV-1) in the commercial broiler chicken of Tamil Nadu, India. Journal of Entomology and Zoology Studies. **9(1)**, 1571-1574.

Wajid, S.J., Katz, M.E., Renz, K.G., Walkden-Brown, S.W. 2013. Prevalence of Marek's disease virus in different chicken populations in Iraq and indicative virulence based on sequence variation in the EcoRI-Q (meq) gene. Avian diseases. **57(2)**, 562-568.