

برنامه بررسی و مراقبت بیماری های اولویت دار ماهیان دریایی و پرورش ماهی در قفس

در راستای اجرای بند الف و ب ماده ۳ و ماده ۵ قانون سازمان دامپزشکی کشور و آیین نامه مبارزه با بیماری های دامی و جلوگیری از سرایت و انتشار آنها، به منظور بررسی سلامت مولدین و ماهیان دریایی در برابر بیماریهای خطرناک لیست شده سازمان بهداشت جهانی دام (OIE) طرح مراقبت از بیماریهای اولویت دار ماهیان دریایی کشور در سطح مراکز تکثیر، تکثیر و پرورش و پرورش کشور تهیه و اسفند ۱۴۰۰ به روزرسانی شده است.

۱. مقدمه :

برنامه بررسی و مراقبت از بیماری های اولویت دار ماهیان دریایی کشور هر ساله اجرا گردیده است و دست اندرکاران تکثیر و پرورش ماهیان دریایی کشور با چگونگی و اهمیت اجرای این برنامه آشنایی پیدا کرده اند. پس از تحلیل و بررسی گزارشات استانی و نتایج حاصل از انجام آزمایشات غربالگری در طی این مدت، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های آبزیان در نظر دارد این برنامه را در سال ۱۴۰۰، از طریق اجرای مراقبت فعال در مراکز تکثیر و اجرای مراقبت غیرفعال در مزارع پرورش عملیاتی نماید. از این رو، بازدیدهای ادواری بایستی با زمان بندی مناسب صورت گرفته و گزارشات استانی از طریق سامانه GIS آبزیان کشور ارائه گردد.

مکاتبات لازم بایستی با مراکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر و مراکز پرورش در قفس آبهای داخلی و نیز ساحلی صورت گرفته و الزام گردد که هر گونه بروز علایم بالینی و یا تلفات، در اسرع وقت به دامپزشکی اطلاع داده شود. همچنین بایستی به اطلاع مراکز بازسازی ذخایر رسانده شود که هر گونه رهاسازی بدون مجوز دامپزشکی ممنوع بوده و این مراکز موظف هستند که یک ماه قبل از رهاسازی، نمونه های لازم را جهت انجام آزمایشات در اختیار دامپزشکی قرار دهند.

۲. تعاریف :

۲.۱. **بررسی بیماری (Survey) :** جمع آوری اطلاعات در خصوص وضعیت یک بیماری و عوامل موثر در رخداد آن با هدف ارایه فرضیه مشخص و یا پاسخ به یک سوال پژوهشی خاص جهت دستیابی به یافته علمی و اکتشافی می باشد.

۲.۲. **مراقبت (Surveillance) :** بررسی مداوم و سیستماتیک که بر روی یک جمعیت آبی هدف به منظور ردیابی وقوع بیماری با اهداف کنترلی که ممکن است نیازمند نمونه برداریهایی برای آزمایش کردن نیز باشد.

۲.۳. **مراقبت فعال (Active) :** بر اساس روش جمع آوری داده ها، مراقبت فعال به جمع آوری داده هایی مربوط می شود که بر اساس نمونه برداری جمعی با اهداف تعریف شده مشخص حمایت می شود. مراقبت فعال بررسی شیوع بیماری و مراقبت مخاطره محور و دیده‌وری را در بر می گیرد.

۲,۴. **مراقبت غیر فعال (Passive)** : جمع آوری منفعل داده ها شامل گزارش موارد بالینی یا تحت بالینی مشکوک و گزارشات آزمایشگاهی توسط متخصصین، کلینیسین‌ها، پرورش‌دهندگان و سایر افراد به صلاحدید خودشان به مسئولین بهداشت و سلامت است.

۲,۵. **پایش (Monitoring)** : پایش بیماری، برنامه مداوم و سیستماتیک جهت تعیین وضعیت بیماری و سلامت یک جمعیت آبی و به منظور تشخیص تغییرات و گرایش‌ها در وقوع بیماری اطلاق می‌شود که ممکن است نیازمند نمونه برداری نیز باشد.

۲,۶. **درجه شیوع (Pervallence)** : به نسبت یک جمعیت آلوده (Infected) شده به کل جمعیت هدف، در یک زمان و منطقه مشخص، درجه شیوع اطلاق می‌گردد. شیوع بیماری به معنی وقوع بیماری در یک دوره زمانی مشخص و در یک جمعیت معین در یک منطقه می‌باشد.

۲,۷. **بهر (Lot)** : گروهی از آبزیان که دارای ویژگیهای مشترک (پرورش در یک مرکز آبی پروری، از یک گونه یکسان، دارای مولد یکسان و دارای منبع آبی مشترک) هستند.

۲,۸. **امنیت زیستی (Biosecurity)** : مجموعه اقدامات پیشگیرانه‌ای است که به منظور حفاظت از موجودات زنده در برابر مخاطرات (بیماری‌ها و حوادث) و جهت جلوگیری از ورود عامل بیماریزا به جمعیت هدف و جلوگیری از گسترش بیماری از استخرهای مزارع آلوده به استخرها و مزارع همجوار انجام می‌شود و به عبارتی شیوه‌ای پیشگیرانه است که نقش موثری در تأمین سلامتی آبزیان زنده ایفا میکند.

۲,۹. **مراقبت بر پایه علایم بالینی (Clinical Base)** : در این مدل، مراقبت بر اساس علایم بالینی مشکوک به بیماری و تلفات پایه ریزی می‌گردد، نمونه برداری فقط از موارد مشکوک رصد شده انجام می‌شود.

اهداف :

۲,۱۰. تعیین وضعیت بیماریهای مهم ویروسی(بوئژه)، باکتریایی و انگلی در مزارع تکثیر و پرورش دریایی و شناسایی کانونهای اندمیک بیماری و پیش بینی وضعیت آینده بیماری.

۲,۱۱. تشخیص به موقع عوامل بیماریزا به منظور پیشگیری از رخداد و شیوع گسترده بیماری در مراکز تکثیر و پرورش دریایی.

۲,۱۲. شناسایی مولدین حامل بیماری و حذف آنها از چرخه تولید و تکثیر و جایگزینی آنها با گونه‌های سالم و غیر حامل عامل پاتوژن با همکاری ارگانهای ذیربط.

۳. مراحل اجرا :

عملیات اجرایی در قالب مراقبت فعال و مراقبت غیرفعال صورت می گیرد.

۴,۱. برنامه مراقبت فعال:

با توجه به عدم ردیابی ویروس عامل بیماری مورد اشاره در دو سال گذشته در برنامه پایش و مراقبت صورت گرفته، در سال آتی مراقبت بر پایه علائم بالینی مدل "Clinical Base" انجام می گردد، این برنامه بر اساس بازرسی، معاینه و مشاهده علائم بالینی و ارزیابی بهداشتی مراکز انجام می شود و در صورتی که علائم متناسب به بیماری و یا حالت های مشکوک به بیماری وجود داشته باشد، اقدام به نمونه برداری و ارسال به آزمایشگاه مربوطه گردد.

در مراقبت فعال، تمامی مراکز تکثیر ماهیان دریایی و خاویاری دو بار در سال مورد بازدید و ارزیابی بهداشتی و تکمیل فرم ارزیابی بهداشتی در سامانه GIS قرار گرفته و در صورت مشاهده علائم بالینی و یا تلفات مشکوک به بیماری، نمونه مرضی اخذ می گردد.

۴,۲. برنامه مراقبت غیرفعال (Passive Surveillance) :

سیستم مراقبت غیرفعال مبتنی بر دریافت گزارش بروز علائم بالینی، رخداد تلفات و یا جداسازی عوامل بیماریزا به منظور کنترل هدفمند بیماری های بومی (اندمیک) در کشور به اجرا در می آید. مراقبت غیرفعال از کلیه مراکز تکثیر، پرورش و قفس و منابع آبی بر اساس دریافت گزارش از ذی نفعان، دامپزشکان بخش خصوصی و ... مبنی بر مشاهده علائم بالینی و یا تلفات و همچنین آزمایشگاههای بخش دولتی و خصوصی و آموزشی-تحقیقاتی مبنی بر جداسازی عوامل بیماریزا می باشد. پس از دریافت گزارش مربوطه بخش دولتی اقدام به بازدید و نمونه برداری می نماید.

برنامه مراقبت فعال از مزارع پرورش در استخر و قفس (آبهای داخلی و ساحلی) :

در مراکز پرورش برنامه مراقبت به صورت غیرفعال مبتنی بر دریافت گزارش بروز علائم بالینی، رخداد تلفات و نیز یک بار بازدید در سال و بررسی بالینی می باشد.

بیماریهای با اهمیت در کشور که بایستی در این بخش تحت مراقبت باشند شامل :

IPN(Infectious pancreatic necrosis)

۱- بیماریهای ویروسی

IHN(Infectious hematopoietic necrosis)

VHS(Viral heamorrhagic septicemia)

VNN(Viral nervous necrosis)

RSIVD(Red sea bream iridoviral disease)

KHVD(Koi herpes virus disease)

SVC(Spring viraemia of carp)

Lymphocytis

Infectious Salmon Anemia(ISAV)

Infection with infectious salmon anemia virus

Epizootic Hematopoietic Necrosis

۲- بیماریهای باکتریایی (مایکوباکتریوزیس، ویبریوزیس، فورونکولوزیس، استرپتوکوکوزیس، پاستورلوزیس، اپیتلیوسیستیس، بیماری باکتریایی کلیه و...)

Epizootic ulcerative syndrome

۳- بیماریهای قارچی

Branchiomycosis

۴- بیماریهای انگلی شامل تک یاخته ایها و پریاخته ایها

۴. نمونه برداری و محدوده عملیات :

۱- مراکز تکثیر و پرورش ماهیان دریایی

۲- مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری

۵. نمونه برداری تشخیصی جهت آزمایشات مراقبت غیرفعال :

در هنگام نمونه برداری جهت انجام آزمایشات تشخیصی، بایستی ضمن رعایت اصول امنیت زیستی و بهداشت فردی، اصول نمونه برداری رعایت شده و مشخصات نمونه (بیومتری، گونه، جنس، سن و ...) ثبت شود و نمونه برداری به منظور انجام آزمایشات انگلی، قارچی، باکتریایی، ویروسی و هیستوپاتولوژی صورت می گیرد. پس از اخذ تعداد لازم نمونه جهت انجام آزمایشات تشخیصی (۱۰ عدد ماهی دارای علائم بالینی) نمونه ها به شرح ذیل آماده سازی و مورد آزمایش قرار می گیرد.

در ابتدا، بازبینی ظاهری ماهی صورت گرفته و سطح بدن ماهی و آبشش ها از نظر وجود جراحات جلدی، انگل های ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد آزمایش قرار می گیرند. عضلات، دستگاه گوارش و اندامهای داخلی بایستی، از نظر وجود انگل های ماکروسکوپی و میکروسکوپی، مورد بازبینی قرار گیرند.

سپس برای انجام آزمایش باکتریایی، با یک آنس استریل یا پیپت پاستور بلند از سطوح پوست، باله، آبشش و یا محل جراحی نمونه تهیه شده و بر روی محیط های نوترینت آگار (NA)، Ordal agar، TCBS و TSA (با افزودن ۲٪ نمک) و یا محیط کشتهای اختصاصی کشت داده شود و محیط های کشت در دمای مطلوب تا زمان رشد کلنی های مشکوک نگهداری شده و در صورت رشد کلنی، آزمایشات تفریقی انجام شده و در صورت عدم امکان آزمایشات تفریقی، تا زمان ارسال در یخچال ۴ درجه سانتی گراد نگهداری و با حفظ زنجیره سرد به سازمان ارسال گردد.

پس از آن در شرایط استریل اقدام به کالبدگشایی نموده و ضمن بازبینی ظاهری اندام های داخلی، از اندام های هدف، گسترش تهیه شده و رنگ آمیزی گرم انجام می شود و همچنین بر روی محیط های کشت گفته شده، کشت باکتریایی داده می شود.

سپس از تعداد ۱۰ قطعه ماهی بسته به نوع بیماری مورد نظر اندام های کلیه قدامی، کبد، طحال، قلب، آبشش، چشم و مغز هر ماهی را جدا ساخته و قسمتی از هر یک را در اتانول ۹۰٪ (جهت انجام آزمایشات S.N.T و PCR) به مقدار ۵ گرم و به نسبت ۱ به ۵ قرار داده، در اسرع وقت به مرکز ارسال گردد.

نکته: در صورت نیاز به انجام آزمایش کشت سلولی، نمونه ها بایستی در محیط (*Viral Transfer VTM*)

(*Media*) قرار گرفته و در مدت کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه ارسال گردد.

به منظور انجام آزمایشات هیستوپاتولوژی، از اندام های کلیه، کبد، قلب و طحال، آبشش، چشم و مغز (بسته به نوع بیماری) به حجم یک سانتیمتر مکعب و یک عدد چشم (که به دو نیم تقسیم شده باشد و یا به داخل آن فرمالین تزریق شده باشد) و قسمتی از مغز که به طور سالم برداشته شده است، بایستی، به نسبت ۱ به ۱۰ در محلول فرمالین سالین بافر شده ۱۰٪ قرار گرفته و ارسال شود.

نمونه برداری در زمان مشکوک بودن به بیماری مایکوباکتریازیس:

نکته مهم: در صورت مشکوک بودن به بیماری مایکوباکتریوزیس، ماهی بایستی به طور کامل

منجمد شده و به سازمان ارسال گردد.

نکته (۱): نمونه برداری نبایستی از ماهیان تلف شده، صورت گیرد (به جز مواردی که نمونه دیگری در دسترس

نباشد).

نکته (۲): هر یک از ظروف بایستی دارای برچسب جداگانه باشد و بر روی آن مشخصات نمونه، محیط نگهدارنده، تاریخ نمونه برداری، نام استان و محل یا مرکز نمونه برداری قید شود.

۶. چگونگی مدیریت موارد مثبت آزمایشگاهی:

به دنبال حصول نتیجه مثبت آزمایشهای برنامه مراقبت و یا گزارش و مشاهده علایم بالینی و تلفات، قرنطینه موقت برقرار گردیده و نمونه برداری لازم جهت آزمایشات تأییدی و یا انجام آزمایشات تشخیصی صورت می گیرد. متذکر می گردد که روش های ردیابی و تشخیص آزمایشگاهی بیماری ها و عوامل مولد آن ها، بر اساس روشهای تشخیصی OIE، انتخاب و اجرا می شوند.

چنانچه نتیجه آزمایشات تأییدی یا تشخیصی مثبت باشد، عملیات قرنطینه سازی پایدار تا زمان حذف بیماری اجرا می گردد. در صورتی که بیماری اگزوتیک باشد، عملیات ریشه کنی اجرا می گردد و چنانچه بیماری اندمیک باشد، در صورتی که بیماری قابل درمان باشد، درمان اختصاصی صورت گرفته و کنترل های بهداشتی متعاقباً اجرا می گردد و در صورتی که بیماری غیرقابل درمان باشد، در مراکز تکثیر، عملیات ریشه کنی اجرا می گردد و در مزارع پرورش در صورتیکه با رعایت شرایط قرنطینه کامل و مدیریت بهداشتی و تحت نظارت ادارات کل دامپزشکی استانها با هماهنگی با دفتر آبریان سازمان تصمیم گیری خواهد شد.

ضرورت برقراری دوره آیش (Following) و مدت زمان آن پس از عملیات ریشه کنی در مراکز تکثیر و پرورش حداقل یک ماه و در سایت های پرورش در قفس حداقل دو ماه می باشد.

۷. نکات بهداشتی لازم در حین بازدید از مراکز تکثیر و پرورش دریایی

- حداقل ۴۸ ساعت پیش از بازدید از مراکز تکثیر ماهیان دریایی هیچ بازدیدی از مراکز تکثیر و یا پرورش آبریان انجام نشده باشد. همچنین تردد و بازدید در آزمایشگاه نیز صورت نگرفته باشد لذا امکان بازدید دو و یا چند مرکز در یک روز امکان پذیر نخواهد بود.
- در زمان بازدید از کلیه مراکز تکثیر، پرورش، پرورش در قفس و ... الزاماً بایستی از پوشش های یک بار مصرف و یا لباس و کفش مرکز استفاده شود.
- خودروهای مربوط به اکیب بازدید و نمونه برداری در خارج از محوطه مربوط به مراکز متوقف شود.
- در صورت بازدید از دو مرکز پرورش در یک روز کلیه وسایل مربوط به نمونه برداری و ارسال نمونه اختصاصی باشد.

جدول شماره ۱- دامنه فعالیت و لیست استان ها، تعداد مراکز تکثیر و پرورش خاویاری کشور

تکثیر خاویاری (دو بار بازدید در سال)	تکثیر و پرورش خاویاری (دو بار بازدید در سال)	پرورش خاویاری (یکبار بازدید در سال)	استان	ردیف
		۳	آ شرقی	۱
			آ غربی	۲
		۲	اردبیل	۳
		۳	اصفهان	۴
	۱		البرز	۵
			ایلام	۶
			بوشهر	۷
		۱	تهران	۸
			چ و ب	۹
			خ شمالی	۱۰
		۶	خ رضوی	۱۱
			خ جنوبی	۱۲
	۱	۳	خوزستان	۱۳
			زنجان	۱۴
		۱	سمنان	۱۵
		۱	س و ب	۱۶
		۳	فارس	۱۷
			قزوین	۱۸
		۴	قم	۱۹
			کردستان	۲۰
		۴	کرمان	۲۱
			کرمان جنوب	۲۲
		۵	کرمانشاه	۲۳
		۲	ک و ب	۲۴
	۱	۶	گلستان	۲۵
۲	۵	۳۸	گیلان	۲۶
		۳	لرستان	۲۷
۲		۲۱	مازندران	۲۸
		۳	مرکزی	۲۹
		۷	هرمزگان	۳۰
			همدان	۳۱
	۱	۲	یزد	۳۲

جدول شماره ۲ - دامنه فعالیت و لیست استان ها، تعداد مراکز تکثیر و پرورش دریایی

کشور

ردیف	استان	پرورش دریایی (یکبار بازدید در سال)	تکثیر و پرورش دریایی (دو بار بازدید در سال)	تکثیر دریایی (دو بار بازدید در سال)
۱	آ شرقی			
۲	آ غربی			
۳	اردبیل			
۴	اصفهان			
۵	البرز			
۶	ایلام			
۷	بوشهر	۲	۳	
۸	تهران	۱		
۹	چ و ب			
۱۰	خ شمالی			
۱۱	خ رضوی	۲		
۱۲	خ جنوبی			
۱۳	خوزستان	۱۴		۳
۱۴	زنجان			
۱۵	سمنان			
۱۶	س و ب	۳		۱
۱۷	فارس			
۱۸	قزوین			
۱۹	قم			
۲۰	کردستان			
۲۱	کرمان			
۲۲	کرمان جنوب			
۲۳	کرمانشاه			
۲۴	ک و ب			
۲۵	گلستان	۱	۱	۲
۲۶	گیلان	۱		۲
۲۷	لرستان			
۲۸	مازندران	۲۲	۲	
۲۹	مرکزی			
۳۰	هرمزگان	۵	۴	
۳۱	همدان			
۳۲	یزد			

جدول شماره ۳ - بیماریهای تحت مراقبت بر حسب گونه های ماهی و نوع نمونه ها

تعداد نمونه	بچه ماهی	تعداد نمونه	مولد	نوع ماهی	بیماری
۳۰	*	۳۰+۳۰	*	آزادماهیان-ذخایر دریای شمال	VHS
۳۰	*	۳۰+۳۰	*	آزادماهیان	IHN
۳۰	*	۳۰+۳۰	*	آزادماهیان	IPN
در صورت مشاهده علائم بالینی				خاوباری- ماهیان جنوب ماهیان وارداتی(سی باس و سی بریم)- سوف	VNN
در صورت مشاهده علائم بالینی				ماهیان گرمابی دریای شمال	KHV-SVC
در صورت مشاهده علائم بالینی				ماهیان جنوب(هامور، صبیدی...)- ماهیان وارداتی(سی باس و سی بریم)- سوف	RSIVD

جدول شماره ۴ - ماهیان تحت مراقبت بر حسب بیماریهای تحت مراقبت

VNN	RSIVD	SVC	KHV	VHS	IHN	IPN	بچه ماهی	مولد	نوع ماهی
				*	*	*	*	*	آزاد ماهیان
*							*	*	خاویاری
		*	*				*	*	ماهیان گروه گرمابی (سفید، کلمه، کپور)
*	*						*		ماهیان جنوب (هامور، شانک، صبیته....) - ماهیان وارداتی (سی باس و سی بریم)
*	*						*	*	سوف ماهی

جدول شماره ۵ - تعداد بازدید و نمونه برداری از مراکز تکثیر ماهیان دریایی (آبهای داخلی و قفس)

روش آزمایش	بازدید دوم		بازدید اول		تعداد نمونه برداری در سال	بیماری هدف						نوع مرکز	
	تعداد نمونه	لارو یا بچه ماهی	تعداد	مولد		RSIVD	SVC	KHV	VNN	VHS	IPN		IHN
مولد: کشت RT-PCR بچه ماهی: RT-PCR	۳۰	*	۳۰+۳۰	*	۲					*	*	*	آزادماهیان
آزمایشات تشخیصی	مزارع تکثیر ۲ بار در سال مزارع پرورش یکبار در سال				مراقبت بالینی (در صورت مشاهده علائم)				*				خاویاری
آزمایشات تشخیصی	قبل از رهاسازی به دریا				مراقبت بالینی (در صورت مشاهده علائم)		*	*					بازسازی ذخایر شمال ماهی سفید - کلمه - کپور
آزمایشات تشخیصی	در صورت مشاهده علائم بالینی				مراقبت بالینی (در صورت مشاهده علائم)	*			*				ماهی سوف
RT-PCR	۱۵۰	*			-	*			*				ماهیان خلیج فارس (بومی و وارداتی)

نکته: در صورت مشاهده علائم بالینی و یا کالبدگشایی مشکوک به سایر بیماریهای ویروسی ضمن گزارش سریع به دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان و هماهنگی، نمونه های لازم اخذ و ارسال گردد.

جدول شماره ۶ - نوع نمونه، ماده نگهدارنده و آزمایشگاه محل ارسال نمونه ها

آزمایشگاه	ماده نگهدارنده	نوع نمونه		
		بچه ماهی	مولد	
مرکز ملی تشخیص	الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه	مغز، چشم ، طناب عصبی	-	VNN
مرکز ملی تشخیص	الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه	طحال، کلیه، قلب	-	RSIVD
مرکز ملی تشخیص	الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه	طحال، کلیه و آبشش	-	KHV
مرکز ملی تشخیص	الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه	طحال، کلیه و آبشش	-	SVC
آزمایشگاهای منطقه ای	مایع تخمدانی و اسپرم در VTM و ارگان ها در الکل	طحال، کلیه و قلب	مایع تخمدانی	IHN
آزمایشگاهای منطقه ای	مایع تخمدانی و اسپرم در VTM و ارگان ها در الکل	طحال، کلیه و قلب	مایع تخمدانی	VHS
آزمایشگاهای منطقه ای	مایع تخمدانی و اسپرم در VTM و ارگان ها در الکل	طحال، کلیه و قلب	مایع تخمدانی	IPN

جدول شماره ۷

تعداد بازدید و نمونه برداری از مراکز پرورش (آبهای داخلی و قفس)

آزمایشگاه		تعداد دفعات نمونه برداری بر اساس معاینه و یا آزمایش		تعداد نمونه اخذ شده در هر بازدید در هر سایت			تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه	ردیف
روشنی آزمایش	بیماری	آزمایشگاه	بالینی و کالبدگشایی	مشاهده علائم بالینی	بالاتر از ۵۰۰ گرم	وزن ۱۰۰- ۵۰۰ گرم	بچه ماهی	تعداد نمونه برداری در سال	نوع مزرعه	ردیف
		در صورت لزوم	در صورت لزوم	در صورت مشاهده علائم بالینی	-	-	۱۰	-	مزارع پرورش خاویاری	۱
		در صورت لزوم	در صورت لزوم	در صورت مشاهده علائم بالینی	۱۰	۱۰	۱۰	-	مزارع دریایی (مراکز پرورش)	۲
Real time PCR	-VHS *IHN	۱	۱	در صورت مشاهده علائم بالینی	۳۰	-	-	۱	پرورش در قفس آبهای داخلی (قزل آلا)	۳
		در صورت لزوم	در صورت لزوم	در صورت مشاهده علائم بالینی	۱۰	۱۰	۱۰	-	پرورش در قفس آبهای داخلی (سایر گونه ها)	۴
Real time PCR	VHS-IHN	۱	۱	در صورت مشاهده علائم بالینی	۳۰	-	-	۱	پرورش در قفس دریا (قزل آلا)	۵
		در صورت لزوم	در صورت لزوم	در صورت مشاهده علائم بالینی	۱۰	۱۰	۱۰	-	پرورش در قفس دریا (سایر گونه ها)	۶
	VNN-RSIV D	۳	پایان هر دوره قرنطینه از هر محموله ۳۰ ماهی		-	۳۰	۳۰	هر محموله	مراکز حد واسط وارد کننده **	۷

* نمونه برداری در زمان های که دمای آب حداقل به مدت دو هفته کمتر از ۱۴ درجه سانتی گراد می باشد صورت می پذیرد.

** مراکز حدواسط وارد کننده هر محموله بازدید شده و پیش از خروج از قرنطینه نمونه برداری لازم جهت آزمایشهای مورد نظر (بسته به گونه ماهی انجام می شود).

نمونه های اخذ شده از نظر بالینی و کالبدگشایی بر اساس تعریف بیماریهای مورد نظر، تحت بررسی بالینی قرار می گیرند و فرمهای مربوط در سامانه GIS تکمیل و ارسال می گردد.

در برنامه مراقبت از مراکز پرورش در صورت مشاهده علائم بالینی و یا کالبدگشایی مشکوک به هر یک از بیماریهای ویروسی، باکتریایی، انگلی، قارچی و نمونه برداری لازم جهت ارسال به آزمایشگاه اخذ خواهد شد.

بیماریهای ویروسی که در ماهیان دریایی مورد پایش و مراقبت قرار می گیرند.

۱- بیماری رتینوپاتی و آنسفالوپاتی ویروسی یا نکروز عصبی ویروسی (VER (Viral Encephalopathy and Retinopathy) / VNN (Viral Nervous Necrosis)

این بیماری بعنوان یک بیماری ویروسی جدی در چندین گونه از ماهیان دریایی پرورشی مطرح است که با تلفات شدید و ضایعات واکوئله در سیستم عصبی مرکزی و شبکیه همراه است. بیماری در بیش از ۱۶ خانواده و ۵۰ گونه مختلف ماهی گزارش شده است.

بیماری عمدتاً در مراحل لاروی و ماهیان جوان رخ می دهد ولی تلفات شدیدی در ماهیان سایز بازاری و بالغ سی باس اروپایی، هامور هفت خط و هالیبوت اطلس نیز گزارش شده است.

عامل بیماری: عامل بیماری در جنس بتانودا ویروس و خانواده نوداویریده قرار گرفته است. بتانودا ویروس ها غیر پوشش دار، RNA دار دو رشته ای است و دارای ۴ ژنوتیپ عمده و سه سروتیپ می باشد.

جدول شماره ۱: انواع فنوتیپ و ژنوتیپ بتانوداویروس

Genotype	Serotype	Target host fish	Optimum growth temperature
SJNNV	A	Stripped jack	20–25°C
TPNNV	B	Tiger puffer	20°C
BFNNV	C	Cold-water fish: Atlantic halibut, Atlantic cod, flounders, etc.	15–20°C
RGNNV	C	Warm-water fish: Asian sea bass, European sea bass, groupers, etc.	25–30°C

علائم بالینی:

به جز مواردی از تغییر رنگ بدن که توسط برخی از محققین گزارش شده، علائم خارجی بالینی خاصی بر روی بدن یا آبشش ماهیان مبتلا مشاهده نمی شود. گاهی در ماهیان سی باس اروپایی، زخم های جلدی بر روی فک پایین و یا سر ماهی که عمدتاً در اثر اختلال در بینایی ماهی است دیده می شود.

تغییرات رفتاری: ماهیان بیمار علائم شنای نامنظم از قبیل چرخش، شنای مارپیچ، شنا بر روی پشت در حالت استراحت (در اثر اتساع کیسه شنا)، قرار گرفتن در کف مخزن یا استخر، شنای سریع دایره وار یا مستقیم را از خود نشان می دهند. در

ماهیان پهن معمولاً علائم خاصی از بیماری مشاهده نمی شود و ماهیان مبتلا ممکن است در کف استخر و بصورت خمیده دیده می شود. در اکثر موارد عدم اشتها مشاهده شده است.

علائم کالبدگشایی:

به جز اتساع شدید کیسه شنا که گاهی اوقات در برخی از گونه ها مشاهده می شود، جراحات قابل رویت خاصی در این بیماری قابل مشاهده نیست.

تعریف مورد مشکوک به بیماری

مطابق با دستورالعمل OIE مورد مشکوک به بیماری VNN با مشاهده حداقل یکی از موارد ذیل تعریف می شود:

۱. مشاهده شنای غیرطبیعی در گونه های حساس ماهیان
۲. مشاهده ضایعات هیستوپاتولوژی در گونه های حساس ماهیان
۳. مشاهده ضایعات سلولی در کشت ویروس قبل از تأیید
۴. دریافت نتیجه آزمایش مثبت از یک مورد بر اساس تستهای سطوح تشخیصی a و b در جدول OIE در تشخیص اولیه شامل: هیستوپاتولوژی، هیستوپاتولوژی و متعاقباً Immunostaining، آزمایش مولکولی Real time PCR، RT PCR و سکانس ژنی، جداسازی در کشت و متعاقباً تأیید با PCR یا Immunostaining
۵. انتقال ماهی زنده از مزرعه آلوده به مزرعه دیگر
۶. وجود ارتباطات اپیدمیولوژیکی مختلف بین یک مزرعه آلوده و یک مزرعه دوم
۷. تشخیص آنتی بادی فعال

تعریف مورد قطعی و تأیید شده بیماری

۱. یک مورد مشکوک که ضایعه تخریب سلولی CPE ایجاد کند و سپس عامل بیماری با یکی از روشهای ایمونولوژیکی و یا مولکولی تشخیص داده شود.
۲. دریافت نتیجه مثبت دوم از یکی از روشهای سطح تشخیصی a شامل جداسازی در کشت و متعاقباً تأیید با PCR، آزمایش مولکولی Real time PCR، RT PCR و متعاقباً سکانس ژنی، RT PCR

جمعیت هدف نمونه برداری:

گونه های هدف: ماهیان خاویاری، ماهیان جنوب (هامور، شانک، صبیتی، ...) و گونه های وارداتی به منظور پرورش در قفس در آبهای ساحلی جنوب (سی باس آسیایی، سی باس اروپایی، سی بریم) و ماهی سوف

زمان نمونه برداری: زمانی که بچه ماهی به وزن بالاتر از ۱ گرم رسیده باشد.

با توجه به عدم ردیابی ویروس عامل بیماری مورد اشاره در دو سال گذشته در برنامه پایش و مراقبت صورت گرفته، در سال آتی مراقبت بر پایه علائم بالینی مدل "Clinical Base" انجام می گردد، این برنامه بر اساس بازرسی، معاینه و مشاهده علائم بالینی و ارزیابی بهداشتی مراکز انجام می شود و در صورتی که علائم منتسب به بیماری و یا حالت های مشکوک به بیماری وجود داشته باشد، اقدام به نمونه برداری و ارسال به آزمایشگاه مربوطه گردد.

نمونه برداری:

نمونه برداری جهت آزمایش ویروسی به روش مولکولی

در صورتی که در جمعیت مورد نمونه برداری ماهیان بی حال، درحال مرگ و یا دارای شنای غیرطبیعی وجود دارد، نمونه های لازم از آنها اخذ می گردد. در لاروها و بچه ماهیان با طول کمتر از یک سانتی متر کل ماهی به آزمایشگاه ارسال می شود و در ماهیان بین ۶-۱ سانتی متر کل سر (شامل مغز و چشم) جدا و ارسال می شود و در ماهیان بزرگتر از مغز، چشم و طناب عصبی نمونه برداری و در محلول نگهدارنده (الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه) به آزمایشگاه ارسال می شود. نمونه های اخذ شده از **حداکثر ۵ قطعه ماهی** در یک ظرف مخلوط و ارسال می شود. نمونه ها در مجاورت یخ و با حفظ زنجیره سرد ارسال گردد.

نمونه برداری جهت آزمایش پاتولوژی:

برای بررسی بیماری به روش پاتولوژی از تعداد ده قطعه ماهی (ترجیحاً ماهی بالاتر از وزن یک گرم) و ماهیان بی حال نمونه برداری و در محلول فرمالین ۱۰٪ با حجم ده برابر نمونه بافتی به آزمایشگاه پاتولوژی مرکز تشخیص سازمان ارسال گردد.

جدول شماره ۲: تعداد بازدید و نمونه برداری جهت مراقبت از بیماری VNN در مراکز تکثیر

روش آزمایش	نمونه برداری در صورت مشاهده علائم بالینی		تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه
	نوع نمونه	لارو یا بچه ماهی			
RT-PCR	ماهی کامل، سر و یا مغز، چشم، نخاع (بسته به سائز ماهی)	۱۵۰ قطعه در ماهیان وارداتی و ۷۵ قطعه تکثیر داخل		۲	مزارع تکثیر دارای ماهی مولد و بچه ماهی و مراکز واردکننده بچه ماهی دریایی
پاتولوژی	ماهی کامل	۱۰		۲	

۲- بیماری ایریدو ویروس ماهی سی بریم قرمز

عامل بیماری ایریدو ویروس شانک قرمز یا Red sea bream iridovirus است که موجب تلفات در ماهی سی بریم قرمز و بیش از ۳۰ گونه ماهیان دریایی پرورشی می باشد که این ماهیان عمدتاً متعلق به راسته سوف ماهی شکلان و پهن ماهی شکلان می باشند.

تشخیص بالینی:

ماهیان بیمار دارای علائم بی حالی، آنمی شدید، پتشی در آبشش ها و بزرگ شدن طحال می باشند و دارای شنای غیرفعال بوده و کم خونی، افزایش تعداد و اختلال تنفسی مشهود است.

علائم کالبدگشایی:

رنگ پریدگی آبشش ها و بزرگ شدن طحال

تعریف مورد مشکوک:

مطابق با دستورالعمل OIE مورد مشکوک به بیماری RSIVD با مشاهده حداقل یکی از موارد ذیل تعریف می شود:

۱. حضور علائم بالینی مشخص و تأیید سلولهای غیرطبیعی بزرگ شده در مقاطع بافتی و یا Stamp smear

۲. حضور علائم بالینی مشخص و تأیید حضور ویرون بوسیله میکروسکوپ الکترونی

۳. جداسازی ویروس در محیط کشت و مشاهده CPE

۴. مثبت بودن نتیجه IFAT بر روی لام

تعریف مورد قطعی:

مطابق با دستورالعمل OIE بیماری RSIVD در صورتی تأیید می شود که علاوه بر موارد قبلی یک و بیش از یکی از موارد ذیل مشاهده شود.

۱. جداسازی ویروس در محیط کشت و مشاهده CPE خاص و نتیجه مثبت IFAT با استفاده از محیط کشت آلوده
۲. جداسازی ویروس در محیط کشت و مشاهده CPE خاص و نتیجه مثبت PCR بر روی DNA استخراج شده از ویروس جدا شده
۳. مثبت بودن نتیجه PCR بر روی DNA استخراج شده از اندام های درگیر
۴. مشاهده سلولهای غیرطبیعی بزرگ در IFAT

جمعیت هدف نمونه برداری:

گونه های هدف: ماهیان دریایی جنوب (هامور، شانک، صبیتی و ...)، گونه های وارداتی به منظور پرورش در قفس در آبهای ساحلی جنوب (سی باس آسیایی، سی باس اروپایی، سی بریم) و ماهی سوف

نمونه برداری:

با توجه به عدم ردیابی ویروس عامل بیماری مورد اشاره در دو سال گذشته در برنامه پایش و مراقبت صورت گرفته، در سال آتی مراقبت بر پایه علائم بالینی مدل "Clinical Base" انجام می گردد، این برنامه بر اساس بازرسی، معاینه و مشاهده علائم بالینی و ارزیابی بهداشتی مراکز انجام می شود و در صورتی که علائم منتسب به بیماری و یا حالت های مشکوک به بیماری وجود داشته باشد، اقدام به نمونه برداری و ارسال به آزمایشگاه مربوطه گردد.

در صورتی که در جمعیت مورد نمونه برداری ماهیان بی حال، درحال مرگ و یا دارای شنای غیرطبیعی وجود دارد، نمونه های لازم از آنها اخذ می گردد. در لاروها و بچه ماهیان با طول کمتر از ۴ سانتی متر کل ماهی به آزمایشگاه ارسال می شود و در ماهیان بزرگتر از طحال، کلیه، قلب، نمونه برداری و در محلول نگهدارنده (الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه) به آزمایشگاه ارسال می شود.

نمونه های اخذ شده از حداکثر ۵ قطعه ماهی در یک ظرف مخلوط و در مجاورت یخ و با حفظ زنجیره سرد ارسال می شود.

جدول شماره ۳: تعداد بازدید و نمونه برداری جهت مراقبت از بیماری RSIVD در مراکز تکثیر

روش آزمایش	نمونه برداری در صورت مشاهده علائم بیماری		تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه
	تعداد نمونه	نوع نمونه			
RT- qpcr	۱۵۰ قطعه در ماهیان وارداتی و ۷۵ قطعه تکثیر داخل	طحال، کلیه، قلب، آبشش، روده		۲	مزارع تکثیر دارای ماهی مولد و بچه ماهی و مراکز واردکننده بچه ماهی دریایی
پاتولوژی	۱۰	بچه ماهی کامل		۲	

آزمایش پاتولوژی:

برای بررسی بیماری به روش پاتولوژی از تعداد ده قطعه ماهی (ترجیحاً ماهی بالاتر از وزن یک گرم) و ماهیان بی حال نمونه برداری و در محلول فرمالین ۱۰٪ با حجم ده برابر نمونه بافتی به آزمایشگاه پاتولوژی مرکز تشخیص سازمان ارسال گردد

۳- بیماری هرپس ویروس کوی Koi Herpesvirus disease

بیماری هرپس ویروس کوی یک بیماری هرپس ویروسی است که قادر به ایجاد ویرمی واگیر و حاد در کپور معمولی و گونه های مربوط به آن مانند کوی و هیبرید حاصل از گلدفیش و کپور معمولی می باشد. عامل بیماری، هرپس ویروس کوی از خانواده آلو هرپس ویریده می باشد.

علائم بالینی:

در زمان رخداد بیماری KHV میزان تلفات به طور قابل توجهی افزایش می یابد. ماهیان در کلیه سنین حساس به بیماری می باشند اما در شرایط تجربی ماهیان جوان تا یک سال حساسیت بیشتری دارند (ماهیان ۲/۵ تا ۶ گرم در مقایسه با ۲۳۰ گرم حساسترند).

در معاینه از راه نزدیک ماهیان، علائم بارز بیماری مانند رنگ پریدگی و یا قرمز شدن پوست که ممکن است با سخت شدن پوست (سمباده ای شدن پوست) همراه باشد. کنده شدن موضعی یا کامل اپیدرم، افزایش یا کاهش تولید موکوس (در نواحی سمباده ای شده) بر روی پوست و آبشش و رنگ پریدگی آبشش ها مشاهده می شود. سایر علائم بالینی شامل فرورفتگی چشم ها و خونریزی روی پوست و قاعده باله ها و زخم های روی پوست است.

ماهیان مبتلا لاغر شده و از گله جدا و در کناره های استخر یا ورودی آب تجمع و از سطح آب تنفس می کنند. در برخی از ماهیان ممکن است از دست دادن تعادل و تشخیص جهت یابی مشاهده می شود اما ممکن است افزایش فعالیت هم مشاهده شود.

علائم کالبدگشایی:

جراحات کالبدگشایی اختصاصی برای بیماری وجود ندارد. تشخیص نهایی باید از طریق جداسازی ویروس و تشخیص آن و یا ردیابی DNA ویروس به روش مولکولی صورت گیرد. به هر حال مهمترین علامت کالبدگشایی قابل مشاهده در آبشش ها بصورت نواحی نکروز کمرنگ تا تغییر رنگ وسیع، نکروز شدید و التهاب آبشش ها قابل مشاهده است. علامت قابل مشاهده بعدی حضور نواحی کمرنگ و غیرمنظم بر روی پوست به همراه افزایش ترشح موکوس بر روی پوست و نیز کاهش ترشح موکوس و خشکی قسمتهایی از پوست است که دچار سختی و حالت سمباده ای شده اند.

تعریف مورد مشکوک به بیماری:

مطابق با دستورالعمل OIE مورد مشکوک به بیماری KHVD با مشاهده حداقل یکی از موارد ذیل تعریف می شود:

تعریف مورد مشکوک به بیماری KHV:

مشاهده هر یک از موارد ذیل به عنوان مورد مشکوک در نظر گرفته می شود.

۱. مشاهده علائم بالینی مشخص بیماری در جمعیت ماهیان گونه های حساس
۲. مشاهده علائم هیستوپاتولوژی مشخص در مقاطع بافتی
۳. مشاهده ضایعات سیتوپاتیک مشخص در محیط کشت حساس بدون تشخیص عامل مسبب
۴. حصول نتیجه مثبت از یکی از روش های تشخیصی سطوح a و b جدول تشخیصی OIE
۵. جابجایی ماهی زنده از محلی که وجود بیماری KHV در آنجا تأیید شده است و یا دارای علائم بالینی مشکوک است به محلی که فاقد علائم مشکوک به بیماری می باشد.
۶. وجود سایر زنجیره های اپیدمیولوژی یا مزارعی که بیماری KHV در آن وجود دارد.

۷. ردیابی آنتی بادی ضد KHV

تعریف مورد قطعی بیماری:

معیارهای ذیل بایستی جهت تأیید مورد قطعی بیماری لحاظ شوند.

۱. مرگ و میر، علائم بالینی و تغییرات پاتولوژی مرتبط با بیماری KHV و شناسایی ویروس با یکی از روش های

ذیل:

۱,۱. شناسایی ویروس با روش PCR

۱,۲. شناسایی ویروس در آماده سازی بافت با روش های آنتی بادی اختصاصی بر علیه ویروس (به عنوان مثال

(IFA

۱,۳. جداسازی ویروس در کشت سلول (حداقل از یک قطعه ماهی)

۲. در زمان عدم وجود علائم بالینی و تلفات با یک یا هر روش ذیل:

۲,۱. شناسایی و تأیید بیماری با روش PCR (مطابق با روش ارائه شده در OIE)

۲,۲. حصول نتیجه مثبت از دو روش مختلف تشخیصی سطوح a و b جدول تشخیصی OIE

جمعیت هدف نمونه برداری:

مراکز ماهیان گرمابی بازسازی ذخایر شمال (سفید، کلمه، کپور دریایی.....)

نمونه برداری:

با توجه به عدم ردیابی ویروس عامل بیماری مورد اشاره در دو سال گذشته در برنامه پایش و مراقبت صورت گرفته، در سال آتی مراقبت بر پایه علائم بالینی مدل "Clinical Base" انجام می گردد، این برنامه بر اساس بازرسی، معاینه و مشاهده علائم بالینی و ارزیابی بهداشتی مراکز انجام می شود و در صورتی که علائم منتسب به بیماری و یا حالت های مشکوک به بیماری وجود داشته باشد، اقدام به نمونه برداری و ارسال به آزمایشگاه مربوطه گردد.

در صورتی که در جمعیت مورد نمونه برداری ماهیان بی حال، درحال مرگ و یا دارای شنای غیرطبیعی وجود دارد و یا ماهیانی که در وروی آب شنا می کنند، نمونه های لازم از آنها اخذ می گردد. در لاروها و بچه ماهیان با طول کمتر از چهار سانتی متر کل (پس از جداکردن سر و دم) ماهی به آزمایشگاه ارسال می شود و در ماهیان بزرگتر از **طحال، کلیه و آبشش** نمونه برداری و در محلول نگهدارنده (الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه) به آزمایشگاه ارسال می شود.

نمونه های اخذ شده از **حداکثر ۵ قطعه ماهی** در یک ظرف مخلوط و در مجاورت یخ و با حفظ زنجیره سرد ارسال می شود.

جدول شماره ۴: تعداد بازدید و نمونه برداری جهت مراقبت از بیماری KHV در مراکز تکثیر

روش آزمایش	نمونه برداری		تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه
	نوع نمونه	بچه ماهی			
RT- qpcr	طحال، کلیه، آبشش	۷۵	۱	۱	مزارع تکثیر

نکته: نمونه برداری زمانی صورت می گیرد که دمای آب به بالاتر از ۱۷ درجه سانتی گراد رسیده باشد و سه هفته از رسیدن به این دما گذشته باشد.

۴- بیماری ویرمی بهاره کپورماهیان Spring viremia of carp

ویرمی بهاره کپورماهیان یک بیماری رابدو ویروسی است که ایجاد خونریزی حاد و ویرمی واگیردار در گونه های مختلف کپور و برخی دیگر از خانواده کپورماهیان و گونه های گربه ماهی می کند. عامل بیماری ویروس ویرمی بهاره کپورماهیان، جنس وزیکولو ویروس از خانواده رابدوویریده می باشد.

علائم بالینی:

در زمان رخداد بیماری افزایش قابل ملاحظه تلفات رخ می دهد. رنگ بدن ماهیان مبتلا معمولاً تیره تر میشود. علائم بالینی تیپیک شامل اگزوفتالمی، بی رنگی آبشش، خونریزی در پوست و قاعده باله ها و مخرج، اتساع محوطه بطنی یا آب آوردگی (آسیت) و بیرون زدگی مخرج می باشد. کلیه این علائم در یک ماهی یا جمعیت ممکن است بصورت همزمان دیده نشود. برخی از این علائم ممکن است در سایر بیماری ها نیز دیده شود. بطور کلی ماهیان جوان تا یک سال حساسیت بیشتری نسبت به بیماری دارند ولی کلیه سنین می توانند به بیماری مبتلا شوند. ماهیان بیمار لاغر، از گله جدا و در ورودی یا کناره های استخر تجمع یافته و در مواردی عدم تعادل در شنا دیده می شود.

علائم کالبدگشایی:

جراحات کالبدگشایی اختصاصی برای بیماری وجود ندارد. علائم کالبدگشایی عمدتاً برای کپور معمولی مشخص شده و ممکن است شامل افزایش مایعات محوطه بطنی که معمولاً خونی است، دژنرانس لاملای آبشش، التهاب روده که به جای

غذا موکوس در روده دیده می شود. ادم و خونریزی اعضای داخلی بدن مشاهده می شود. خونریزی های کانونی در عضلات، بافت چربی و کیسه شنا ممکن است دیده شود.

تعریف مورد مشکوک:

بیماری SVC زمانی که تلفات سریع و قابل توجهی در جمعیت ماهیان گونه های حساس به بیماری بویژه زمانی که علائم بالینی مرتبط با SVC را نشان دهد، باید مورد توجه قرار داد. همچنین زمانی که علائم هیستوپاتولوژی در مقاطع بافتی و یا CPE در کشت سلول بدون تشخیص عامل مسبب و یا زمانی که یک نتیجه مثبت از یکی از روشهای تشخیصی اخذ شده باشد.

تعریف مورد قطعی بیماری:

در صورت وقوع بیماری برای اولین بار در یک کشور و یا منطقه و یا در مناطقی که قبلاً سابقه بیماری داشته اما در دو سال گذشته در برنامه مراقبت بیماری ردیابی نشده رخ دهد اولین مورد ردیابی شده به عنوان Index case در نظر گرفته می شود و تشخیص قطعی بیماری ضروری است. در صورت مشاهده CPE در کشت سلول و تأیید تشخیص ویروس با استفاده از آزمایشات سرمی یا RT-PCR به همراه سکانس ژنی و همچنین در صورت مثبت بودن دو روش تشخیصی تأیید بیماری قطعی است. در صورت استفاده از آزمایشات سرمی بایستی آنتی سرم مصرفی اختصاصی باشد و همچنین در آزمایش RT-PCR انجام سکانس ژنی جهت تشخیص قطعی الزامی است. در غیر این صورت به عنوان مشکوک تلقی می شود.

جمعیت هدف نمونه برداری:

مراکز ماهیان گرمابی بازسازی ذخایر شمال (سفید، کلمه، کپور دریایی. . .)

نمونه برداری:

با توجه به عدم ردیابی ویروس عامل بیماری مورد اشاره در دو سال گذشته در برنامه پایش و مراقبت صورت گرفته، در سال آتی مراقبت بر پایه علائم بالینی مدل "Clinical Base" انجام می گردد، این برنامه بر اساس بازرسی، معاینه و مشاهده علائم بالینی و ارزیابی بهداشتی مراکز انجام می شود و در صورتی که علائم متناسب به بیماری و یا حالت های مشکوک به بیماری وجود داشته باشد، اقدام به نمونه برداری و ارسال به آزمایشگاه مربوطه گردد.

در صورتی که در جمعیت مورد نمونه برداری ماهیان بی حال، در حال مرگ و یا دارای شنای غیرطبیعی وجود دارد و یا ماهیانی که در ورودی آب شنا می کنند، نمونه های لازم از آنها اخذ می گردد. در لاروها و بچه ماهیان با طول کمتر از چهار سانتی متر کل ماهی (پس از جدا کردن سر و دم) به آزمایشگاه ارسال می شود و در ماهیان بزرگتر از **کلیه، طحال و آبشش و مغز** نمونه برداری و در محلول نگهدارنده (الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه) به آزمایشگاه ارسال می شود.

نمونه های اخذ شده از **حداکثر ۵ قطعه ماهی** در یک ظرف مخلوط و در مجاورت یخ و با حفظ زنجیره سرد ارسال می شود.

جدول شماره ۵: تعداد بازدید و نمونه برداری جهت مراقبت از بیماری SVC در مراکز تکثیر

روش آزمایش	نمونه برداری		تعداد نمونه	تعداد	نوع مزرعه
	نوع نمونه	بچه ماهی	برداري در سال	بازديد در سال	
RT- qpcr	طحال، کلیه، آبشش، مغز	۷۵	۱	۱	مزارع تکثیر

نکته: نمونه برداری زمانی صورت می گیرد که دمای آب در محدوده ۱۱ تا ۱۷ درجه سانتی گراد باشد .

۵- بیماری نکروز عفونی بافت خونساز (IHN):

بیماری ویروسی است که اکثر گونه های خانواده آزادماهیان آب شیرین و دریا را درگیر می کند اما بیشتر در قزل آلی رنگین کمان موجب بیماری و تلفات می شود. عامل بیماری رابدوویروس است و در مقابل حرارت، اسید و اتر ناپایدار است و در آب شیرین در دماهای پایین و حاوی مواد آلی تا یک ماه زنده می ماند.

تشخیص بالینی:

علائم بالینی: ماهیان درگیر با علائم رفتاری و شنای غیرطبیعی، ملانوز، اگزوفتالمی، آبشش های کمرنگ، آسیت و تورم شکمی و خونریزی های پتشی خارجی و داخلی مشاهده می شوند.
علائم رفتاری غیرطبیعی شامل بی حالی و شنای غیرطبیعی مانند شنای مارپیچی، چرخشی و فلشینگ (چرخیدن به پهلو) می باشد. کست های آویزان مدفوعی در بعضی گونه ها مشاهده می شود. تغییر شکل ستون فقرات در بعضی از ماهیانی که از بیماری زنده مانده اند، دیده می شود.

علائم کالبدگشایی:

تیره شدن پوست (ملانوز)، آبشش های کمرنگ، آسیت، اگزوفتالمی، خونریزی های خارجی و داخلی، ارگان های داخلی کمرنگ و روده ها خالی و فاقد غذاست و مایع آسیتی در محوطه بطنی دیده می شود. کبد، طحال و کلیه کم خون است.

تعریف مورد مشکوک به بیماری IHN

مطابق با دستورالعمل OIE مورد مشکوک به بیماری IHN با مشاهده موارد ذیل تعریف می شود.

۱،۱،۱. مشاهده علائم بالینی بیماری در یک جمعیت حساس به بیماری

۱،۱،۲. مشاهده علائم کالبدگشایی مشخص در گونه های حساس به بیماری

۱،۱،۳. دریافت نتیجه آزمایش مثبت از یک مورد بر اساس تستهای سطوح تشخیصی b در جدول OIE شامل: هیستوپاتولوژی، میکروسکوپ نوری، میکروسکوپ الکترونی، تست های تشخیصی سرمی و کالبدگشایی

تعریف مورد قطعی IHN:

- تشخیص قطعی بیماری در مواردی است که یک مورد مشکوک به یکی از روشهای ذیل تأیید گردد:
- ۱- در کشت سلول دارای CPE بوده و به دنبال آن به روش مولکولی و یا سرمی تأیید شود.
 - ۲- دریافت نتیجه مثبت دوم از یکی از روشهای بر پایه آنتی بادی، سکانس ژنی و یا PCR

جدول شماره ۶: تعداد بازدید و نمونه برداری جهت مراقبت از بیماری IHN در مراکز تکثیر

روش آزمایش	بازدید دوم			بازدید اول			تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه
	تعداد نمونه	نوع نمونه	لارو یا بچه ماهی	تعداد	نوع نمونه	مولد			
مولد: کشت بچه ماهی: RT- qpcr	۳۰	طحال، کلیه، قلب	*	بر اساس جدول	مایع تخمذانی و اسپرم	۳۰+۳۰	۲	۲	مزارع تکثیر دارای ماهی مولد و بچه ماهی

جمعیت هدف نمونه برداری:

مراکز تکثیر آزادماهیان

نمونه برداری:

در صورتی که در جمعیت مورد نمونه برداری ماهیان بی حال، درحال مرگ و یا دارای شنای غیرطبیعی وجود دارد و یا ماهیانی که در خروجی آب شنا می کنند، نمونه های لازم از آنها اخذ می گردد. در لاروها و بچه ماهیان با طول کمتر از چهار سانتی متر کل ماهی به آزمایشگاه ارسال می شود و در ماهیان بزرگتر از **طحال، قسمت قدامی کلیه، قلب** نمونه برداری و در محلول نگهدارنده (الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه) به آزمایشگاه ارسال می شود. نمونه های اخذ شده از حداکثر ۱۰ قطعه ماهی در یک ظرف مخلوط و ارسال می شود.

نمونه برداری از مولدین:

نمونه برداری از مولدین با هماهنگی با پرورش دهنده و در زمان تخمگیری انجام شود. انتخاب مولدین به صورت تصادفی انجام می‌شود، تعداد مولدین مورد نمونه برداری ۳۰ مولد ماده و ۳۰ مولد نر می‌باشد. نمونه حاوی تخم و مایع تخمدانی جدا شده از ۱۰ مولد در یک ظرف استریل ریخته و کاملاً با هم مخلوط شود و از این نمونه مخلوط ۵ سی‌سی مایع تخمدانی اخذ شود و در محیط انتقالی VTM و با حفظ زنجیره سرد حداکثر طی مدت ۴۸ ساعت به آزمایشگاه (در مجاورت یخ و با حفظ زنجیره سرد) به آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص بیماریهای سازمان دامپزشکی کشور ارسال گردد. در کل از هر مزرعه در نهایت ۳ لوله حاوی مایع تخمدانی تهیه می‌شود. در خصوص مولدین نر هم اسپرم هر ده مولد مخلوط و از آن ۵ سی‌سی در لوله حاوی VTM جمع‌آوری و در نهایت از هر مزرعه سه لوله حاوی اسپرم ارسال می‌گردد.

۶- بیماری سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی (VHS):

بیماری توسط ویروس سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی که متعلق به جنس نوی رابدوویروس و خانواده رابدوویریده می‌باشد، ایجاد می‌شود و به نوعی بیماری اول صنعت پرورش ماهی قزل‌آلا در دنیا می‌باشد. بیماری در تمام سنین دیده می‌شود ولی سنین ۳/ - ۳ گرم بسیار حساس‌تر هستند.

تشخیص بالینی:

بیماری اغلب با شروع ناگهانی تلفات، بی‌حالی، شنای غیرطبیعی، ملانوز، اگزوفتالمی، کم‌خونی، خونریزی در قاعده باله‌ها، آبشش، پوست و چشم و اتساع شکم ناشی از ادم در حفره شکمی رخ می‌دهد.

تغییرات رفتاری:

فرم عصبی بیماری با رفتار شنای غیرطبیعی کاملاً مشهود به صورت شنای مارپیچی و فلشینگ پیوسته مشاهده می‌شود. این حالت به دلیل تمایل ویروس به استقرار در سیستم عصبی می‌باشد. برخلاف سپتی سمی‌های باکتریایی در بیماری VHS ماهیان درگیر تمایلی به فرار کردن در زمان صید ندارند.

علائم کالبدگشایی:

علائم کالبدگشایی شامل خونریزی در پوست و عضلات بویژه عضلات پشتی و ارگان‌های داخلی می‌باشد. در فرم حاد بیماری، کلیه قرمز تیره میشود اما در ماهیان در حال مرگ نکروز شدید مشاهده می‌شود.طحال متورم و کبد کم‌رنگ و خالدار است. دستگاه گوارش بویژه در بخش انتهایی کم‌رنگ و خالی از غذاست.

تعریف مورد مشکوک به بیماری VHS:

مطابق با دستورالعمل OIE حضور ویروس عامل بیماری VHS در صورت مواجه با یکی از موارد ذیل محتمل است:

- ۱- وجود علائم کالبدگشایی مربوط به بیماری، همراه یا بدون علائم بالینی
- ۲- مشاهده ضایعات سلولی در کشت ویروس قبل از تأیید
- ۳- زمانی که در یک بررسی، ارتباطات اپیدمیولوژی با مزارع مشکوک یا تأیید شده بیماری مشخص شود (ردیابی آنتی بادی در ماهی)

تعریف مورد قطعی به بیماری VHS

تشخیص بیماری VHS در صورتی قطعی است که علاوه بر موارد فوق (موارد مشکوک به بیماری) یک و یا بیش از یک مورد از موارد ذیل نیز مشاهده شود.

- ۱- جداسازی ویروس در کشت سلول که متعاقباً به یک روش سرمی مانند ELISA, IFAT، خنثی سازی و یا ایمونوهیستوشیمی تأیید شود، روش مولکولی که متعاقباً با سکانس ژنی تأیید شود و یا Real time RT-PCR

۲- تشخیص ویروس در بافت به روش ایمونواسی با استفاده از آنتی های اختصاصی ضد ویروس VHS

- ۳- تشخیص ویروس در بافت به روش مولکولی RT-PCR و متعاقب آن سکانس ژنی و یا به روش real time PCR

جدول شماره ۷: تعداد بازدید و نمونه برداری جهت مراقبت از بیماری VHS در مراکز تکثیر

روش آزمایش	بازدید دوم			بازدید اول			تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه
	تعداد نمونه	نوع نمونه	لارو یا بچه ماهی	تعداد	نوع نمونه	مولد			
مولد: کشت بچه ماهی: RT- qpcr	۳۰	طحال، کلیه، قلب	*	بر اساس جدول	مایع تخمدانی و اسپرم	۳۰+۳۰	۲	۲	مزارع تکثیر دارای ماهی مولد و بچه ماهی

جمعیت هدف نمونه برداری:

مراکز تکثیر آزادماهیان، سوف ماهی، ذخایر دریای شمال

نمونه برداری:

در صورتی که در جمعیت مورد نمونه برداری ماهیان بی حال، درحال مرگ و یا دارای شنای غیرطبیعی وجود دارد و یا ماهیانی که در خروجی آب شنا می کنند، نمونه های لازم از آنها اخذ می گردد. در لاروها و بچه ماهیان با طول کمتر از چهار سانتی متر کل ماهی به آزمایشگاه ارسال می شود و در ماهیان بزرگتر از **طحال**، **قسمت قدامی کلیه**، **قلب** نمونه برداری و در محلول نگهدارنده (الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه) به آزمایشگاه ارسال می شود. نمونه های اخذ شده از حداکثر ۱۰ قطعه ماهی در یک ظرف مخلوط و ارسال می شود.

نمونه برداری از مولدین:

نمونه برداری از مولدین با هماهنگی با پرورش دهنده و در زمان تخمگیری انجام شود. انتخاب مولدین به صورت تصادفی انجام می شود، تعداد مولدین مورد نمونه برداری ۳۰ مولد ماده و ۳۰ مولد نر می باشد. نمونه حاوی تخم و مایع تخمدانی جدا شده از ۱۰ مولد در یک ظرف استریل ریخته و کاملاً با هم مخلوط شود و از این نمونه مخلوط ۵ سی سی مایع تخمدانی اخذ شود و در محیط انتقالی VTM و با حفظ زنجیره سرد حداکثر طی مدت ۴۸ ساعت به آزمایشگاه (با حفظ زنجیره سرد) به آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص بیماریهای سازمان دامپزشکی کشور ارسال گردد. در کل از هر مزرعه در نهایت ۳ لوله حاوی مایع تخمدانی تهیه می شود. در خصوص مولدین نر هم اسپرم هر ده مولد مخلوط و از آن ۵ سی سی در لوله حاوی VTM جمع آوری و در نهایت از هر مزرعه سه لوله حاوی اسپرم ارسال می گردد. نمونه ها در مجاورت یخ و با حفظ زنجیره سرد ارسال گردد.

۷- بیماری نکروز عفونی پانکراس IPN

بیماری ویروسی آزادماهیان پرورشی است. ویروس از گونه های مختلف آبزیان جداسازی شده است ولی تظاهرات بالینی آنها متفاوت با IPN است. ویروس از خانواده بیرناویریده و جنس آکوابیرنا ویروس می باشد. بیرنا ویروسها انتشار جهانی داشته و طیف وسیعی از ماهیان رامبتلا می کنند.

علائم بالینی:

اولین علامت وقوع بیماری در لارو آزادماهیان، مشاهده یک افزایش ناگهانی در تلفات روزانه بویژه در ماهیان با رشد سریعتر است. شنای چرخش یا مارپیچ، تیره شدن رنگ بدن، اتساع محوطه بطنی، عدم وجود غذا در روده، مشاهده رشته های مدفوعی ضخیم و طولیل سفید رنگ و مشاهده پتشی بر روی محوطه بطنی و بویژه باله های شکمی است.

علائم کالبدگشایی:

خالی بودن روده ها و معده و وجود یک مخاط شیری یا شفاف در آنها، رنگ پریدگی غیرمعمول طحال، کلیه، کبد و قلب و وجود خونریزی های سرسوزنی بر روی سکوم، بافت چربی و وجود یک مایع آسیت مانند در محوطه بطنی

تعریف مورد مشکوک به بیماری IPN:

- ۱- وجود علائم کالبدگشایی مربوط به بیماری همراه یا بدون علائم بالینی
- ۲- مشاهده ضایعات سلولی در کشت ویروس قبل از تأیید

تعریف مورد قطعی به بیماری IPN

تشخیص بیماری IPN در صورتی قطعی است که علاوه بر موارد فوق (موارد مشکوک به بیماری) یک و یا بیش از یک مورد از موارد ذیل نیز مشاهده شود.

۱. جداسازی ویروس در کشت سلول که متعاقباً به یک روش سرمی مانند ELISA, IFAT، خنثی سازی و یا ایمونوهیستوشیمی تأیید شود ، روش مولکولی که متعاقباً با سکانس ژنی تأیید شود و یا Real time RT-PCR

۲. تشخیص ویروس در بافت به روش مولکولی RT-PCR و متعاقب آن سکانس ژنی و یا به روش real time PCR

جدول شماره ۸ : تعداد بازدید و نمونه برداری جهت مراقبت از بیماری IPN در مراکز تکثیر

روش آزمایش	بازدید دوم			بازدید اول			تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه
	تعداد نمونه	نوع نمونه	لارو یا بچه ماهی	تعداد	نوع نمونه	مولد			
مولد: کشت بچه ماهی: RT- qpcr	۳۰	طحال، کلیه، قلب	*	بر اساس جدول	مایع تخمدانی و اسپرم	۳۰+۳۰	۲	۲	مزارع تکثیر دارای ماهی مولد و بچه ماهی

جمعیت هدف نمونه برداری:

مراکز تکثیر آزادماهیان، ذخایر دریای شمال

نمونه برداری:

در صورتی که در جمعیت مورد نمونه برداری ماهیان بی حال، درحال مرگ و یا دارای شنای غیرطبیعی وجود دارد و یا ماهیانی که در خروجی آب شنا می کنند، نمونه های لازم از آنها اخذ می گردد. در لاروها و بچه ماهیان با طول کمتر از چهار سانتی متر کل ماهی به آزمایشگاه ارسال می شود و در ماهیان بزرگتر از **طحال**، **قسمت قدامی کلیه**، **قلب** نمونه برداری و در محلول نگهدارنده (الکل ۸۰ تا ۱۰۰ درجه) به آزمایشگاه ارسال می شود. نمونه های اخذ شده از حداکثر ۱۰ قطعه ماهی در یک ظرف مخلوط و ارسال می شود.

نمونه برداری از مولدین:

نمونه برداری از مولدین با هماهنگی با پرورش دهنده و در زمان تخمگیری انجام شود. انتخاب مولدین به صورت تصادفی انجام می شود، تعداد مولدین مورد نمونه برداری ۳۰ مولد ماده و ۳۰ مولد نر می باشد. نمونه حاوی تخم و مایع تخمدانی جدا شده از ۱۰ مولد در یک ظرف استریل ریخته و کاملاً با هم مخلوط شود و از این نمونه مخلوط ۵ سی سی مایع تخمدانی اخذ شود و در محیط انتقالی VTM و با حفظ زنجیره سرد حداکثر طی مدت ۴۸ ساعت به آزمایشگاه (با حفظ زنجیره سرد) به آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص بیماریهای سازمان دامپزشکی کشور ارسال گردد. در کل از هر مزرعه در نهایت ۳ لوله حاوی مایع تخمدانی تهیه می شود. در خصوص مولدین نر هم اسپرم هر ده مولد مخلوط و از آن ۵ سی سی در لوله حاوی VTM جمع آوری و در نهایت از هر مزرعه سه لوله حاوی اسپرم ارسال می گردد. نمونه ها در مجاورت یخ و با حفظ زنجیره سرد ارسال گردد.