

# استفاده از مولدین SPF (عاری از پاتوژن خاص)، SPR (مقاوم در برابر پاتوژن خاص) و SPT (گونه های با تحمل در برابر پاتوژن خاص) به عنوان بخشی از استراتژی امنیت زیستی در میگوی پا سفید (*Penaeus vannamei*, Boone 1931)

نویسنده: V. ALDAY-SANZ - گروه آبی پروری ملی - جده، عربستان سعودی<sup>1</sup>

مترجمان: دکتر امراله قاجاری، دکتر اعظم بنی طالبی - دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان سازمان دامپزشکی کشور

دکتر امین قنوتی، مهندس سیامک روحانی - اداره کل دامپزشکی استان خوزستان

## چکیده:

شرایط بهداشتی و ژنتیکی مزارع میگوی پنائیده نیازمند این است که بر دو اصل بنا شود: نوع سیستم پرورش و اقدامات و استراتژیهای امنیت زیستی.

در این مقاله سعی شده است که مفاهیم گونه عاری از پاتوژن (SPF)، گونه مقاوم به پاتوژن (SPR)، گونه با تحمل پاتوژن خاص (SPT) و نیز رویکرد استفاده از مولدین SPT و SPR در خصوص بیماری لکه سفید میگو جهت استفاده در مزارع با شرایط امنیت زیستی پایین توضیح داده شود.

موفقیت این رویکرد وقتی اثبات گردید که این مولدین به عربستان سعودی صادر و به عنوان تنها منبع ذخیره سازی میگو در مزارع پرورشی آن کشور که در اثر بیماری لکه سفید میگو نابود شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. رکورد تولید ملی در پرورش میگوی آن کشور از زمان معرفی این مولدین به صنعت میگو اتفاق افتاد و حتی منجر به ریشه کنی بیماری لکه سفید در جمعیت گونه های وحشی گردید.

پیشنهاد میشود که این مولدین (مولدین عاری از پاتوژن بیماری لکه سفید و مولدین با تحمل پاتوژن بیماری لکه سفید) میتوانند به عنوان جایگزین مولدین در کشورهایی که هنوز در معرض بیماری لکه سفید هستند و تکنیک های فنی لازم در خصوص مقابله با این بیماری را ندارند و یا با عدم توانایی در سرمایه گذاری جهت تبدیل صنعت پرورش میگو به استخرهای کوچک با تراکم بالا که بتوانند استراتژیهای حذف ویروس را در آنها اجرا کنند روبرو هستند، استفاده شوند.

## کلمات کلیدی:

امنیت زیستی، کنترل بیماری، پنتوس وانامی، گونه عاری از پاتوژن خاص (SPF)، گونه مقاوم به پاتوژن خاص (SPR)، گونه با تحمل پاتوژن خاص (SPT)، ویروس سندروم لکه سفید (WSSV)

## معرفی

بیماریها در صنعت پرورش میگو پایداری و ثبات این صنعت را تحت تاثیر قرار میدهند و پیشگیری از آنها نیازمند تعریف و استقرار استراتژی امنیت زیستی خاص برای هر مرکز، سیستم پرورش، زون یا منطقه پرورشی است.

<sup>1</sup> National Aquaculture Group (NAQUA) Jeddah, Kingdom of Saudi Arabia

امنیت زیستی یک اصطلاح با طیف وسیع و گسترده است که غالباً درک کمی در مورد آن وجود دارد. فائو در سال ۲۰۰۳ امنیت زیستی را به شرح زیر تعریف کرده است:

امنیت زیستی یک رویکرد استراتژیک و یکپارچه است که شامل سیاست‌ها و چهارچوب‌های قانونی است (ابزارهای کار و نحوه فعالیت) که عوامل خطر در بخش‌های مختلف سلامتی غذایی، زندگی و سلامت حیوانات و گیاهان از جمله عوامل تهدیدکننده محیط پرورش آنها، موارد مربوط به آن بوده و آنها را تحلیل و مدیریت میکند.

امنیت زیستی به معرفی آفات گیاهی، آفات حیوانی و بیماریها، زئونوزها، معرفی و رهاسازی موجودات تراریخته<sup>۱</sup> و محصولات تولیدی آنها و نیز مدیریت گونه‌ها و ژنوتیپ‌های مهاجم میپردازد.

در سیستم پرورش، امنیت زیستی شامل کلیه فعالیتها از جمله پیشگیری از بیماریها، کنترل بیماریها، مدیریت ریسک ابتلا به بیماری و نیز تاثیر کاهش بیماریها در افزایش بازده اقتصادی فعالیت پرورش است به عبارت دیگر امنیت زیستی یک ابزار برای ایجاد پایداری در سیستم پرورش میباشد.

فعالیهایی که اساس و پایه امنیت زیستی را تشکیل میدهند شامل موافقت نامه‌های بین المللی و نیز موافقت نامه‌های بین دولتها تا قوانین ملی و نیز اهرم‌های اجرایی آنها و نیز تحقیقات علمی که دانش مورد نیاز برای توسعه امنیت زیستی و اقدامات پیشگیرانه را فراهم میکند و در نهایت اجرایی سازی این اقدامات در روند تولید و پرورش میگو است.

تولید بر پایه اصول امنیت زیستی دارای سه محور است:

- فعالیهایی که در ارتباط با محیط پرورش و مدیریت شرایط پرورش است.
- فعالیهایی که در ارتباط با پاتوژن و شرایط بهداشتی میگوی مورد پرورش است.
- ویژگیهای میگو و ژنتیک آن که اساس این مقاله را تشکیل میدهد.

### ویژگیهای بهداشتی و ژنتیکی میگو

با در نظر گرفتن نوع میگوی به کار رفته در سیستم پرورش و اقدامات امنیت زیستی لازم برای آن، باید وضعیت بهداشتی و خصوصیات ژنتیکی نیز مورد توجه و دقت قرار گیرد.

با در نظر گرفتن وضعیت بهداشتی میگو، مولدین در چند رده طبقه بندی میشوند :

۱- مولدین عاری از پاتوژن خاص<sup>۲</sup> به معنی اینکه عاری از عوامل بیماریزای خاصی هستند و الزاماً به معنی عاری بودن از همه پاتوژن‌ها نمی باشد.

۲- عاری از عوامل بیماریزا<sup>۳</sup>، به معنی عاری بودن از کلیه عوامل بیماریزاست (اثبات این امر و اطمینان از آن، کارسختی است.)

1 Genetically Modified Organisms (GMOs)

2 SPF : Specific pathogen free

3 PE : Pathogen free

۳- تمامی عوامل بیماریزا در معرض قرار گرفته اند<sup>۱</sup>، به این معنی که به صورت بالقوه در معرض همه عوامل بیماریزا قرار گرفته اند. (شامل مولدینی است که از استخرها جمع آوری شده اند.)

۴- مولدین با سلامتی بالا<sup>۲</sup>، این یک اصطلاح تجاری است و از نظر توضیحات در خصوص مولدین، مبهم است. با در نظر گرفتن ویژگیهای ژنتیکی، مولدین در چند رده طبقه بندی میشوند:

- حساس به عفونتها و بیماریها
- مقاوم به پاتوژنهای خاص<sup>۳</sup>، به معنای مقاومت به عفونت در مقابل پاتوژن خاص (این یک ویژگی کیفی است و میتواند آلوده شوند یا نه)
- مولدین با تحمل پاتوژن خاص<sup>۴</sup>، به معنی تحمل نسبت به بیماری خاص. میگو میتواند آلوده شود ولی بیمار نمی گردد و یا اگر بیمار شود با حدت پایین علائم بیماری را نشان می دهد.

### مولدین فاقد پاتوژنهای خاص:

اصطلاح SPF اغلب اوقات به اشتباه استفاده میشود و درک مناسبی از آن در صنعت پرورش میگو وجود ندارد. زمانی میتوان یک میگو را SPF تلقی نمود که از محلی انتخاب شده باشد که حداقل به مدت ۲ سال از نظر یک پاتوژن خاص مورد آزمایش قرار گرفته و منفی باشد (برای این امر باید یک برنامه نظارت دقیق موجود باشد). این امر باید در محیط پرورش با شرایط اقدامات امنیت زیستی بالا (سالم سازی مناسب آب و محیط پرورش بسته) انجام و در ادامه اقدامات امنیت زیستی و تغذیه با غذاهای ایمن صورت پذیرد.

بنابراین واژه SPF به طور اختصاصی به تاریخچه وضعیت سلامتی میگو و امکانات و شرایط پرورش که در آن رشد و نگهداری شده است، اشاره میکند. ادعا در خصوص تولید میگوی SPF مستلزم بازرسی های منظم و شفاف است. میگوی SPF الزاما حساس تر یا مقاوم تر به پاتوژنها نیست و نیز الزاما عملکرد رشد بهتر یا بدتر و نیز تنوع ژنتیکی کمتری ندارد. SPF بودن اشاره به وضعیت بهداشتی میگو دارد که این وضعیت ارثی نمیشود.

به محض اینکه یک موجود SPF در معرض پاتوژنهای بالقوه قرار گیرد به عنوان مثال به مزارعی برده شود که از نظر اقدامات امنیت زیستی در سطح پایینی قرار دارند، ویژگی SPF بودن از بین میرود و بعد از آن به اینها موجودات HH گفته میشود.

همان طور که قبلا نیز اشاره شد، SPF بودن فقط به عاری بودن از عوامل بیماریزای خاص اشاره میکند نه عاری بودن از همه عوامل بیماریزا.

1 APE : All Pathogen Exposed

2 HH : High Health

3 SPR : Specific Pathogen Resistant

4 SPT : Specific Pathogen Tolerant

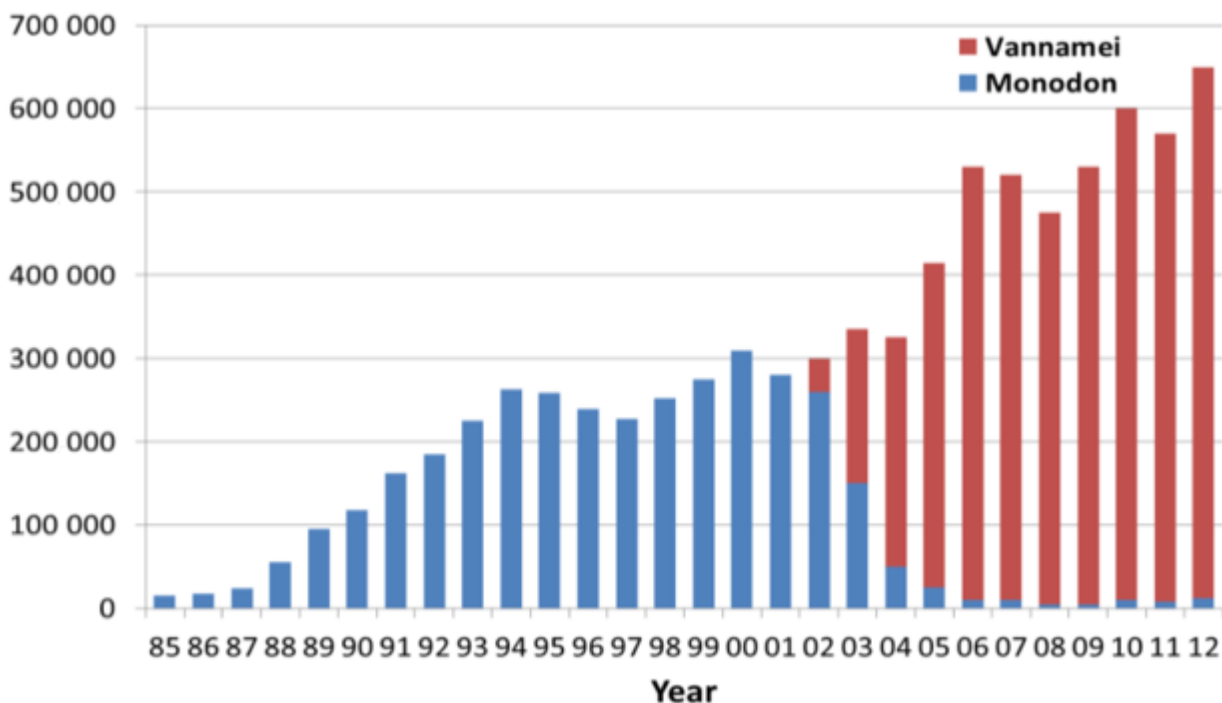
در خصوص لیست بیماری‌هایی که میگوی SPF باید از آن عاری باشد، اجماع عمومی وجود ندارد. در برخی موارد، فقط بیماری‌هایی که توسط OIE<sup>1</sup> معرفی میشوند در نظر گرفته میشود، ولی توصیه میشود که میگوی SPF باید از نظر کلیه عوامل پاتوژن شناخته شده میگوی پنائیده عاری باشد به خاطر اینکه لیست بیماری‌های OIE به روز نیست و همه عوامل بیماریزا در پرورش میگو را در بر نمیگیرد.

به عنوان یک اصل، ذخیره سازی و پرورش حیوانات بیمار از دید دامپزشکی بسیار مشکل و سخت است و از طرفی استفاده از حیوانات SPF شروع خوبی در انجام کارهای اصلاح نژاد میباشد. از سوی دیگر استفاده از مولدین SPF سبب کاهش شدت مراقبت‌های بهداشتی و بالطبع کاهش هزینه‌های ناشی از آن خواهد شد. علاوه بر این استفاده از حیوانات SPF بر تجارت بین‌المللی تاثیر گذاشته و مانع از انتقال پاتوژن‌ها بین نقاط مختلف میگردد.

### **رویکرد صنعت به اپیدمی WSSV:**

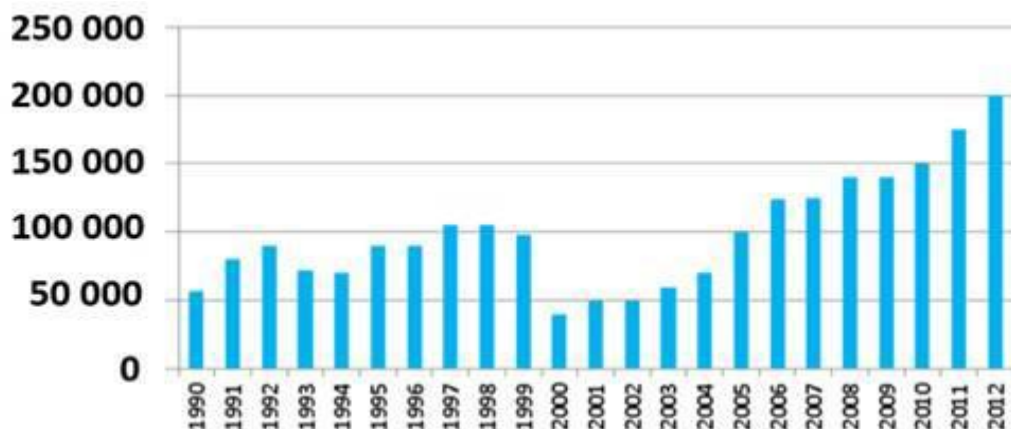
در طی چند دهه گذشته، رخدادهای بیماری لکه سفید که توسط WSSV ایجاد شد سبب ایجاد خسارات زیادی به صنعت پرورش میگو در آسیا و آمریکای لاتین شده است. در هر قاره رویکردها و روشهای متفاوتی برای مدیریت بیماری ارائه گردیده است. در آسیا استفاده از مولدین SPF و پیاده سازی اقدامات امنیت زیستی بالا در طول دوره پرورش برای مدیریت بیماری استفاده شده است ولی در آمریکای لاتین تصمیم بر این گرفته شد که پرورش همراه با بیماری انجام شود و تلاشی برای خارج کردن ویروس از سیستم پرورش انجام نشد.

همانگونه که در جدول شماره ۱ مشخص است در تایلند به عنوان نمونه یک کشور پرورش میگو در آسیا، پس از مواجهه با WSSV به سرعت نسبت به تغییر استخرها به استخرهای با سایز کوچکتر جهت کنترل بهتر شرایط پرورش اقدام گردید. از دیگر کارهای انجام شده استفاده از مولدین SPF و پیاده سازی اقدامات امنیت زیستی بر پایه خارج کردن حاملین ویروس بود. درحقیقت توسعه موفقیت آمیز برنامه‌های اصلاح نژاد و استفاده از مولدین SPF سبب ایجاد تغییراتی در صنعت پرورش میگوی آن کشور گردید که سبب شد تولید به نقطه‌ای برسد که تا کنون نرسیده بود.



شکل شماره ۱- تولید میگوی کشور تایلند (برحسب تن)، سال ۱۹۸۵ تا ۲۰۱۲

کشور اکوادور رویکردی متفاوت از کشور تایلند را در پیش گرفت (شکل شماره ۲). با وجود همه پیامدهای اقتصادی و اجتماعی ناشی از بیماری لکه سفید، بازسازی صنعت پرورش میگو در این کشور در یک بازه زمانی طولانی اتفاق افتاد. پرورش همراه با بیماری سبب توسعه خوب خودی مقاومت میگو نسبت به بیماری لکه سفید در طی یک دوره زمانی از زمان در معرض قرار گرفتن میگو با ویروس بیماری لکه سفید شد و به این ترتیب باعث ایجاد آنچه که گونه SPT نسبت به WSD<sup>۱</sup> می نامیم، گردید.



شکل شماره ۲- تولید میگوی کشور اکوادور (برحسب هزار تن)، سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۲

1 White spot disease

تجزیه و تحلیل گذشته نگر هر دو روش سبب توسعه نظریه ایجاد گونه های SPF از میگوهای SPT در مورد بیماری WSD گردید.

از اولین رخداد بیماری WSD در آمریکای لاتین در سال ۱۹۹۹ تا سال ۲۰۱۰، درجات تحمل قابل قبولی در میگوهای پرورشی نسبت به ویروس بیماری لکه سفید در مزارع به دست آمد که سبب افزایش بقا در طی سالها علی رغم حضور ویروس در مزارع گردید.

در استفاده از میگوهای SPT+SPR برای بیماری لکه سفید، احتمال رخداد بیماری کمتر و بهره وری و تولید بیشتر خواهد بود و بنابراین دیگر نیازی به اجرای اقدامات شدید امنیت زیستی در خصوص WSD و تحمل هزینه های ناشی از آن نخواهد بود.

در آمریکای لاتین میگوهای بالغ به عنوان مولد از استخرها جمع آوری شدند. انجام چنین کاری اشاره به این امر دارد که بیشتر این میگوها به احتمال زیاد آلوده به هر نوع پاتوژنی هستند که در استخرها وجود دارد و اثر هر بیماری به احتمال زیاد زمانی که به صورت عمودی منتقل شود مشخص تر خواهد بود نسبت به زمانی که انتقال افقی بیماری در استخرها صورت پذیرد.

در خصوص بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس<sup>۱</sup> چون آسیا را آلوده کرده است و با توجه به اینکه احتمال گسترش آن به نقاط جغرافیایی جدید وجود خواهد داشت، برنامه تولید میگوی SPF در خصوص این بیماری قبل از رخداد یک اپیدمی جدید ایجاد شد.

انتخاب مولدینی که تحمل بالایی نسبت به بیماریها داشته باشند باید در مقیاس تحقیقاتی انجام شود نه در مقیاس صنعتی که قبلا انجام میشد و سبب تحمیل هزینه های گزافی به پرورش دهندگان میگردد.

### توسعه تولید SPT+SPF در مقابل WSSV :

در دو پروژه استفاده از مولدین WSSV SPT برای تولید مولدین SPF در اکوادور و نیکاراگوئه آغاز گردید. پروژه ها در سال ۲۰۱۰ شروع و در سال ۲۰۱۲ به پایان رسیدند. این پروژه ها شناخته شده ترین پاتوژنهای میگوی پنائیده را مورد مطالعه و بررسی قرار دارند که ۶ پاتوژن آن در لیست OIE و ۳ پاتوژن آن در لیست OIE وجود ندارد.

پاتوژنهای موجود در لیست OIE (۲۰۱۰) :

۱- ویروس سندروم لکه سفید (WSSV)

۲- ویروس کله زردی (YHV)<sup>۲</sup>

1 AHPND : Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease

2 Yellow Head Virus

- ۳- ویروس مایکونکروز عفونی (IMV)<sup>۱</sup>
- ۴- ویروس هپاتوپانکراتیت نکروزان (NHP)<sup>۲</sup>
- ۵- ویروس سندروم تورا (TSV)<sup>۳</sup>
- ۶- ویروس نکروز کننده بافت‌های خونساز و هیپودرمال عفونی (IHHNV)<sup>۴</sup>

سایر عوامل بیماری‌زایی که در لیست OIE وجود ندارند ولی در برنامه غربالگری وجود دارند :

- ۱- EHP<sup>۵</sup>
- ۲- نودا ویروس پنئوس وانمی (PVNV)<sup>۶</sup>
- ۳- گونه های استرپتوکوکوس<sup>۷</sup>

از ابزار تشخیصی واکنش زنجیره ای پلیمرز لانه گزینی شده (PCR)<sup>۸</sup> (کیت IQ2000<sup>۹</sup>) و روش‌های بافت شناسی در این پروژه استفاده شد. آزمایشگاه‌های تشخیصی با موفقیت در آزمایش حلقه ای آریزونا<sup>۱۰</sup> شرکت کردند. این پروژه ها با نظارت ملی در خصوص عوامل بیماری‌زای اولیه و مشاوره با مراکز تحقیقاتی و مراکز تشخیصی رسمی برای کسب اطلاعات در مورد پاتوژن‌های انزوتیک انجام شد.

تنها پاتوژن‌های اصلی یافت شده IHHNV، WSSV و NHP بودند. بعد از آن این پاتوژن‌ها به عنوان انزوتیک در نظر گرفته شدند و میگوهای انتخاب شده برای هر کدام از این بیماری‌ها به صورت جداگانه و تک تک مورد بررسی قرار گرفتند در حالی که در مورد سایر بیماری‌ها، ۱۰ میگو با هم به عنوان یک نمونه مورد بررسی قرار گرفتند. (بیماری غیرآندمیک) در این پروژه هدف اول شناسایی میگوهای از استخرها بود که در معرض عوامل بیماری‌زا قرار گرفته بودند (APE) ولی خودشان عاری از بیماری بودند.

سایز نمونه ۳۰-۲۳ گرم بود و فرضیه اینگونه بود که اگر میگو بتواند به این سایز برسد و بیمار نشود پس آنها دارای ویژگی‌های خاصی از تحمل (SPT) و یا مقاومت (SPR) نسبت به عوامل بیماری‌زا هستند. از دیگر شرایط انتخاب در این پروژه این بود که میگو باید از حوضچه‌هایی باشد که بهره‌وری بالایی دارند. علاوه بر این پراکنندگی جغرافیایی که نمونه‌ها از آن انتخاب میشوند گسترده باشد تا تنوع ژنتیکی را افزایش دهد.

- 
- 1 Infectious Myonecrosis Virus
  - 2 Necrotizing hepatopancreatitis
  - 3 Taura syndrome virus
  - 4 Infectious Hypodermal and Haematopoietic Necrosis Virus
  - 5 Enterocytozoon hepatopenaei
  - 6 Penaeus vannamei nodavirus
  - 7 Streptococcus spp
  - 8 Nested polymerase chain reaction
  - 9 IQ2000 kits
  - 10 Arizona Ring Test

انتقال عمودی پاتوژنها از دو مسیر اتفاق میافتد:

- عامل بیماریزا در داخل تخم انتقال می یابد
- عامل بیماری روی سطح تخم انتقال میابد.
- عامل پاتوژن از طریق مدفوع مولدین آلوده انتقال میابد. (جدول شماره ۱)

از منظر مدیریت بهداشتی، میتوان اینگونه فرض نمود که همه ویروسهای ایجاد کننده بیماریهای سیستمیک دارای درجاتی از انتقال عمودی هستند و بنابراین میگوهای آلوده شده و عفونی نمی توانند در پروژه های تهیه گونه SPF مورد استفاده قرار گیرند. در خصوص پاتوژنهای روده ای نیاز به اتخاذ اقدامات مدیریتی خاصی میباشد تا از آلودگی ناپلی ها جلوگیری کند.

از عوامل بیماریزای انزوتیک ویروسی، ویروسهای WSSV و IHNV دارای انتقال عمودی داخل تخم هستند و این به معنای آن است که میگوهایی که از نظر این ویروسها عفونی گردیدند باید معدوم شوند زیرا نتاج حاصل از آنها آلوده خواهند بود.

در خصوص NHP که توسط باکتریوم ها ایجاد میشود، درمان انتخابی با اکسی تتراسایکلین به روش خوراکی و نیز شستشوی تخم ها با همان آنتی بیوتیک منجر به ریشه کنی NHP می شود.



جدول شماره ۱ - لیست پاتوژنهای میگو، اثر اقتصادی آنها، موضع درگیری، روش انتقال عمودی و برنامه پیشنهادی در خصوص مولدین درگیر این پاتوژنها

پاتوژن	اثر اقتصادی	موضع درگیری	روش انتقال عمودی	برنامه پیشنهادی در خصوص مولدین درگیر
WSSV	بالا (بسیار شایع)	سیستمیک	داخل تخم	حذف
TSV	بالا (انفرادی)	سیستمیک	سطح تخم	حذف
YHV	بالا (انفرادی)	سیستمیک	سطح تخم	حذف
IHHNV	متوسط	سیستمیک	داخل تخم	حذف
YHV/GAV	بالا (منطقه ای)	سیستمیک	سطح تخم	حذف
IMNV	بالا (منطقه ای)	سیستمیک	سطح تخم	حذف
استرپتوکوکوس	بالا (منطقه ای)	سیستمیک	سطح تخم / مدفوع / دهان	مدیریت
NHP	متوسط	دستگاه گوارش	سطح تخم / مدفوع / دهان	مدیریت
BP, MBV, HPV	کم	دستگاه گوارش	مدفوع / دهان	مدیریت
EAP	بالا	دستگاه گوارش	مدفوع / دهان	مدیریت
AHPND	بالا	مدفوع / سطح داخلی و خارجی کوئیکول	کلونیزه شدن سطحی / مدفوع / دهانی	مدیریت

AHPND = acute hepatopancreatic necrosis disease, BP = Baculovirus penaei, EHP = Enterocytozoon hepatopenaei, GAV = gill-associated virus, HPV = hepatopancreatic parvo-like virus, IHHNV = infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus, IMNV = infectious myonecrosis virus, MBV = Monodon baculovirus, NHP = necrotising hepatopancreatitis, TSV = Taura syndrome virus, WSSV = white-spot syndrome virus

برای انجام این پروژه ها، داشتن یکسری زیرساخت های اضافی از جمله قرنطینه ۱ و ۲، مراکز تکثیر مولدین ومراکز پرورش لارو لازم است. علاوه بر این یکسری اقدامات باید در این پروژه ها انجام میشد نظیر سالم سازی آب، تاسیسات تهیه بیوفلاک سرپوشیده، انجام آزمایش PCR برای غذاهای تازه برای کلیه پاتوژنهای شناخته شده، طراحی پروتکل های امنیت زیستی و آموزش آن به پرسنل به عنوان امری حیاتی در پیاده سازی تمهیدات امنیت زیستی .

در زمان انتخاب استخرها برای انتخاب میگوها، غربالگری اولیه در خصوص پاتوژنهای انزوتوتیک (IHHNV, WSSV, NHP) روی ۷۵ میگو انجام شد و فقط نمونه های استخرهایی انتخاب شدند که از نظر آلودگی شیوع پائین و از نظر بهره وری، تولید بالایی داشتند. میگوها به صورت جداگانه داخل سطل های مجزا به محل وارد و در ابتدا یک استرس سرما به صورت جداگانه به آنها وارد شده (۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد) و بعد از ۴۸ ساعت به صورت جداگانه روی هر کدام از میگوها آزمایشاتی در خصوص بیماریهای IHHNV و WSSV (روی پای شنا) و در خصوص NHP (روی مدفوع) انجام و این آزمایشات بعد از آن دوباره در خصوص مولدین ماده پس از تخمیزی انجام گردید.

بعد از آن میگوهایی که به صورت تک تک مورد آزمایش قرار گرفته بودند به صورت مخلوط شده<sup>۱</sup> (۱۰ تایی) برای ردیابی عوامل بیماریزای TSV, IMNV, YGV/GAV, PVNV, BP, EHP مورد آزمایش قرار گرفتند. مخلوطهای پست لارو (PI) (n=120) مجدداً در خصوص WSSV, IHHNV پس از استرس سرمایی مورد آزمایش قرار گرفتند. در نهایت انجام آزمایشات هیستولوژی در خصوص عوامل بیماریزای ناشناخته روی مولدین انجام شد.

آزمایشات به صورت جداگانه، در خصوص میگوهای نر ۲ بار، در مورد میگوهای ماده ۳ بار و برای هر نمونه مخلوط شده آزمایشات حداقل ۲ بار انجام شدند و این پروسه انجام آزمایش باید سه بار تکرار و مبنایست سه بار متوالی نتایج منفی میشدند.

با استناد به استانداردهای بین المللی (OIE و اتحادیه اروپا<sup>۲</sup>) برای اعلام عاری بودن از بیماری لازم است که آزمایشات به مدت ۲ سال انجام و از نظر بیماری مورد نظر منفی شوند تا بتوان آن جمعیت را SPF اعلام نمود. برای اطمینان از عدم وجود آلودگیهای مخفی، سایر اقدامات تشخیصی از جمله استفاده از سایر بافتها (همولف، آبشش، ارگانهای لنفی) به عنوان اندام هدف نمونه برداری و نیز به کارگیری سایر استرسورها مانند تغییر PH یا اسیدی و قلیایی کردن آب انجام شد و در هیچ کدام از این کارآزماییها، پاتوژنی در جمعیتهای پاک شده مشاهده نشد.

در این پروژه در نیکاراگوئه به دلیل شیوع بالای بیماری IHHNV تصمیم بر این گرفته شد که ویروس این بیماری از مزارع خارج نشود و پرورش همراه با بیماری صورت گیرد ولی اکوادور همه پاتوژنهای اصلی را حذف و گونه های SPF تولید نمود. تعداد ۶۴۰۰۰ آزمایش PCR در طی ۲ سال در اکوادور و این آمار در نیکاراگوئه ۱۰۰۰۰۰ بود. درصد مولدینی که در اکوادور حذف شدند ۷۴٪ و ۴۷٪ در نیکاراگوئه بود.

مراقبت در خصوص جمعیت های انتخاب شده به مدت ۲ سال متوالی انجام و طی این مدت نتایج آزمایشگاهی منفی شد.

1 POOL

2 European Union, EU

متخصصان بخش بیماریهای عفونی دانشگاه زاراگوزا (اسپانیا) از طرف اتحادیه اروپا جهت اعلام عاری بودن جمعیت و منطقه از بیماری، ممیزی برنامه و نیز اعطای SPF در پروژه اکوادور انتخاب شدند و این ارزیابی به صورت سالانه ادامه دارد. استفاده از جمعیت های SPF، بهره وری بهتری در هر یک از مراحل رشد اعم از بلوغ و پرورش لارو را نشان میدهد:

- مرگ و میر در قرنطینه از ۲۴٪ به ۰٫۵٪ کاهش یافت.
- مرگ و میر پس از قطع پایه چشمی از ۱۵٪ به ۰٫۳٪ کاهش یافت.
- میزان مرگ و میر مولدین ماده در طی تولید از ۵٪ به ۰٫۱٪ کاهش یافت.

پرورش لارو:

- روزهای منتهی به p12 از ۲۱-۲۰ روز به ۱۸-۱۷ روز کاهش یافت.
- نسبت PL به ازای هر گرم از ۳۵۰ به ۲۰۰ کاهش یافت.
- بقا از ۴۰-۵۰٪ به ۷۰-۷۵٪ افزایش یافت.
- اختلاف سایز وبدشکلی ها از  $> ۱۵\%$  به ۱۲٪ کاهش یافت.

رشد:

مدت زمان رسیدن به وزن ۱۵ گرم، ۶ هفته کاهش یافت.

علاوه بر این، مولدین WSSV SPT + SPF تحت شرایط متراکم، متناسب با همان مدت زمانی که SPF های وارد شده از آمریکا که گفته میشود حساس به WSSV هستند ولی سرعت رشد بالایی دارند، رشد کردند. در مزارع با پرورش متراکم، امنیت زیستی بالایی اجرا شد با این حال ۲ استخر مبتلا به WSSV شدند که به سرعت برداشت در خصوص آنها انجام شد.

مولدین SPF حساس بقایی در حد ۳۵٪ دارند در حالی که بقا مولدین SPT+SPF در حدود ۷۰٪ است. این نتایج اثبات کرد که همزمان استفاده از گونه هایی با ویژگیهای ژنتیکی خاص و اقدامات بهداشتی در قالب اقدامات امنیت زیستی نتایج بهتری به دنبال خواهد داشت. نام پیشنهادی برای این نوع مولدین، "SPF معکوس" است و برای پرورش آنها پروسه معکوس نیاز است.

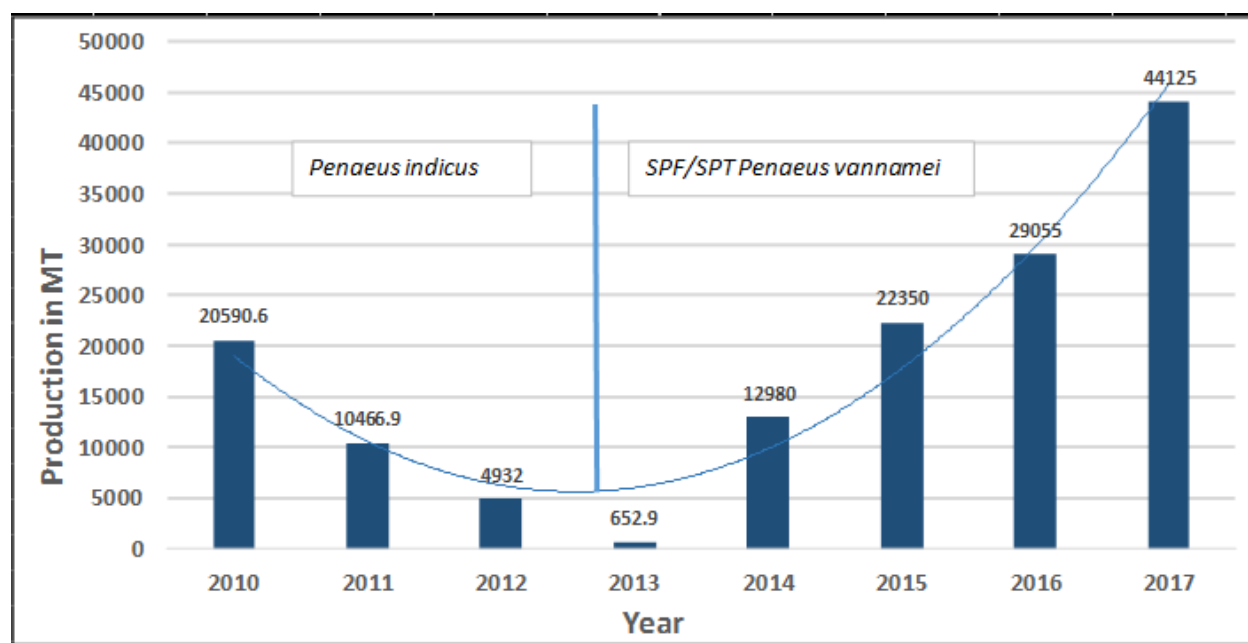
مولدین SPF مرجع، از مناطقی منشا میگیرند که حداقل مواجهه با عوامل پاتوژن را دارند در حالی که مولدین SPF معکوس از مناطقی که به فراوانی در معرض عوامل پاتوژن هستند، منشا میگیرند.

### کاربرد میگوهای WSSV SPT+SPF:

مولدین میگوی اکوادور به عربستان صادر شد، جایی که صنعت میگوی آن در اثر بیماری لکه سفید کاملاً از بین رفته بود. سیستم های پرورشی که در عربستان بود شبیه سیستم های پرورشی بود که در اکوادور استفاده میشد. در این سیستمها

با استخرهای بزرگ اجازه خارج شدن ویروس با اجرای اقدامات امنیت زیستی وجود ندارد و در عین حال شرایط پرورش تحت کنترل نیست .

با وجود شرایط آب و هوایی خاص در عربستان که نوسانات دمایی آب روزانه به بالای ۱۰ درجه سانتیگراد و شوری آب اغلب اوقات بالای ۵۵ ppt میرسد، میگوی پنئوس وانامی ( بون ۱۹۳۱) به خوبی در عربستان پرورش داده شد و رکورد تولید ملی را باعث گردید.(شکل ۳)



شکل شماره ۳- تولید میگوی کشور عربستان سعودی (برحسب تن)، سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۶

این گونه در حال حاضر تنها گونه ای است که در عربستان سعودی پرورش داده میشود و دولت اجازه استفاده از گونه دیگری را جهت پرورش نمی دهد، زیرا سایر گونه ها یا SPF حساس هستند یا WSSV SPT ولی SPF نیستند.

یکی از کلیدهای موفقیت برنامه امنیت زیستی عربستان، استفاده انحصاری از این مولدین است و علاوه بر برنامه های نظارت و مراقبت شرکت های خصوصی، دولت نیز مراقبت ها و نظارت های ماهانه خود را در این خصوص دارد. از سال ۲۰۱۴ تاکنون تنها دو بار WSSV گزارش شده است (۲۰۱۵ و ۲۰۱۶) که در این موارد میزان کمی تلفات مشاهده شد و بعد از آن میزان بقا تا ۷۰٪ باقی ماند.

همان طور که تجربه استفاده از SPF+ WSSV SPT در عربستان نشان داده است، سایر کشورهای درگیر WSSV که دانش یا ظرفیت سرمایه گذاری برای توسعه استخرهای کوچک را ندارند و اقدامات امنیت زیستی را نمی توانند به خوبی اجرا کنند نیز می توانند از این راهکار استفاده نمایند. استفاده از این مولدین همچنین میتواند سبب کاهش هزینه های ناشی

از اجرای اقدامات امنیت زیستی در شرایط پرورش متراکم شود ولی لازمه کار این است که در ابتدا با استفاده از روشهای اصلاح نژاد بتوانیم رشد مولدین SPF را به حد رشد سایر مولدین SPF که در بازار ارائه می شود، برسانیم.

از این تجربه می توان نتیجه گرفت که استفاده از مولدین SPF، یک کار بنیادی در صنعت پرورش میگو در مورد مزارع وسیع یا نسبتا وسیع بوده که دارای حداقل اقدامات امنیت زیستی بوده یا فاقد آن هستند. زمانی که حذف عامل پاتوژن از سیستم پرورش امکان پذیر نیست، نیاز است که مولدین SPF با مولدین SPT/SPR برای عوامل بیماریزای منطقه جایگزین شود.

ادعای SPF بودن فقط وضعیت سلامتی را بیان میکند ولی یکسری مفاهیم اشتباه از آن برداشت میشود مثلا اینکه تصور میشود مولدین SPF نسبت به بیماریها تحمل بالاتری دارند (این تصور غلط بیشتر در آسیا رواج دارد) و یا اینکه مولدین SPF نسبت به بیماریها حساس ترند (تصور غلطی که در آمریکای لاتین وجود دارد).

ما به عنوان مزرعه دار باید در مورد ذخیره سازی با دقت عمل کرده چرا که ما داریم در مورد حیواناتی سرمایه گذاری میکنیم که در هنگام ذخیره سازی ممکن است آلوده باشند.