



وزارت جهاد کشاورزی

سازمان دامپزشکی کشور

## برنامه مراقبت بیماری ویروسی SVC در کشور

معاونت بهداشتی و پیشگیری

دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان

دی ماه ۱۳۹۸

## مقدمه :

از آنجا که بیماریهای ویروسی ماهی ها غیر قابل درمان بوده و می توانند به سرعت همه گیر شده و موجب وقوع مرگ و میر و تلفات بالایی در جمعیت ماهی ها شود و خسارات اقتصادی فراوان و گاهاً غیر قابل جبرانی به بار آورد لذا از اهمیت بالایی برخوردار بوده و پیشگیری از بروز و وقوع آن در زمره اولویت های برنامه های بهداشتی سازمان دامپزشکی کشور می باشد.

در این برنامه، مراقبت بیماری ویروسی (SVC) Spring Viraemia of Carp که در کشور جزو بیماری های اگزوتیک بوده و نیز در گروه بیماری های اخطارکردنی سازمان بین المللی OIE قرار دارد، مورد نظر می باشد.

با توجه به این که خانواده ماهیان گرمابی از گونه های حساس و مستعد به این بیماری می باشند، برنامه مراقبت از بیماری SVC در گونه های گرمابی پرورشی، کوی زینتی و ماهی قرمز انجام می گیرد. این برنامه از طریق اجرای مراقبت فعال در مراکز تکثیر و اجرای مراقبت غیرفعال در مزارع پرورش عملیاتی می گردد.

## ۱. تعاریف:

۱،۱ بهر جمعیت (Lot): گروهی از آبزیان در یک مرکز آبی پروری که از یک گونه بوده و از یک جمعیت مولد پدید آمده و در یک واحد استخر قرار دارد و دارای منبع آب مشترک می باشد.

۱،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 برداری برای آزمایش کردن نیز باشد.

۱،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 دیده وری را در بر می گیرد.

۱,۴. مراقبت غیرفعال (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.

۱,۵. 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.

## ۲. اهداف برنامه

۱. پیشگیری از بروز و کنترل وقوع بیماری اخطارکردنی SVC و حفظ وضعیت پاک کشور
۲. شناسایی مراکز تکثیر و مزارع پرورش آلوده SVC

## ۳. عملیات اجرایی:

### عملیات اجرایی در قالب مراقبت فعال و مراقبت غیرفعال صورت می‌گیرد.

در مراقبت فعال، مراکز تکثیر ماهیان گرمابی، مراکز تکثیر ماهیان کوی، مراکز تکثیر و پرورش ماهیان قرمز و مزارع پرورش ماهیان گرمابی و کوی مورد مراقبت قرار می‌گیرند.

در مراقبت غیرفعال، گزارش وقوع بیماری یا مشاهده علائم منتسب به آن در جمعیت ماهیان پرورشی و وحشی کشور مورد بررسی قرار می‌گیرد.

### ۳,۱. 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 می‌گردد، این برنامه بر اساس بازرسی، معاینه و مشاهده علائم بالینی و ارزیابی بهداشتی مراکز انجام می‌شود و در صورتی که علایم منتسب به بیماری و یا حالت های مشکوک به بیماری وجود داشته باشد، اقدام به نمونه برداری و ارسال به آزمایشگاه مربوطه گردد.

## الف- نمونه برداری و محدوده ی عملیات

- مراکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی
- مراکز تکثیر و پرورش ماهی کوی
- مراکز تکثیر و پرورش ماهی قرمز

نکته: با توجه به عدم تفکیک مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی بر اساس گونه های پرورشی در سامانه پایش بیماریهای آبزیان، لیست اختصاصی مربوط به مراکز تکثیر و پرورش ماهی کوی و قرمز از سامانه پایش بیماریهای آبزیان قابل استخراج نیست.

## ب : تعداد نمونه و زمان نمونه برداری در مراقبت فعال

در مراقبت فعال، تمامی مراکز تکثیر (ماهی گرمابی و کوی) یکبار در سال (با توجه به جدول شماره ۲- بازدید و ارزیابی خطر) مورد بازدید و ارزیابی بهداشتی و تکمیل پرسشنامه (پیوست شماره ۲) وضعیت بهداشتی قرار گرفته و در صورت مشاهده علائم و یا تلفات مشکوک به بیماری، تعداد ۱۰ نمونه مرضی اخذ می گردد.

در خصوص مراکز تکثیر و پرورش ماهی قرمز نیز یکبار در سال (با توجه به جدول بازدید و ارزیابی خطر) مورد بازدید و ارزیابی بهداشتی قرار گرفته و در صورت مشاهده علائم و یا تلفات مشکوک به بیماری، تعداد ۱۰ نمونه مرضی اخذ می گردد. لیکن با توجه به تعداد زیاد این مراکز در برخی استان های کشور در صورتی که تعداد آنها در استان بیش از ۱۰ مرکز باشد، ۱۰ درصد آنها مورد بازدید قرار می گیرند. بدین شرح عمل می شود.

در مزارع پرورش ماهی گرمابی و ماهی کوی نیز در طول سال و مطابق با جدول شماره (۱) دامنه فعالیت و عملیات، تعداد ۱۰٪ از کل مزارع مورد بازدید (در صورت مشاهده علائم بالینی مربوطه، نمونه برداری و ارسال به آزمایشگاه) و ارزیابی بهداشتی قرار می گیرند.

جدول شماره (۱): برنامه زمانی بازدید و ارزیابی بهداشتی (۹۸/۱۰/۱۵ لغایت ۹۹/۱/۳۱)

ردیف	نوع مرکز	تعداد دفعات بازدید	زمان بازدید	ملاحظات
۱	<ul style="list-style-type: none"> <li>● مرکز تکثیر ماهیان گرمابی</li> <li>● مرکز تکثیر و پرورش ماهیان قرمز</li> <li>● مرکز تکثیر ماهیان کوی</li> </ul>	یکبار در سال SVC	۱۵ دیماه ۹۸ لغایت آخر فروردین ۹۹ ماه	ترجیحاً دمای آب در محدوده ۱۱ الی ۱۷ درجه قرار داشته باشد
۲	<ul style="list-style-type: none"> <li>● مزارع پرورش ماهی گرمابی</li> <li>● مزارع پرورش ماهی کوی</li> </ul>	۱۰٪ مزارع	در طول سال	ترجیحاً دمای آب در محدوده ۱۱ الی ۱۷ درجه قرار داشته باشد

به منظور انجام عملیات نمونه برداری بایستی موارد زیر رعایت گردد:

۱: کلیه نمونه های مثبت آزمایشات تشخیصی و تأییدی، بایستی کدگذاری شده و تا زمان تصمیم گیری اجرایی نگهداری گردد.

۲. اندام های هدف برای نمونه برداری، کلیه، طحال، مغز و آبشش می باشد. اندام های هر ۱۰ قطعه ماهی می تواند با یکدیگر در اتانول ۷۰٪ فیکس و با حفظ زنجیره سرد ارسال شود.

۳.۲. مراقبت غیرفعال:

مراقبت غیرفعال، در طول سال برقرار بوده و بر اساس گزارش دهی اشخاص حقیقی مانند مسوولین فنی بهداشتی، دامپزشکان بخش خصوصی، پرورش دهندگان، ... و یا حقوقی مانند: اتحادیه ها، شیلات، گزارش غیرفعال (*Passive Report*) می باشد. به منظور ارتقا سیستم گزارش دهی و به منظور

ساماندهی گزارش گیری بیماری اخطارکردنی SVC در دوره زمانی پرخطر وقوع بیماری (دما و فصل مربوطه)، هر ۱۵ روز یکبار بایستی مسوولین فنی بهداشتی مطابق فرم ارزیابی علایم تیپیک بالینی (پیوست شماره ۳) اقدام به بازدید میدانی و ثبت علایم مربوطه بیماری نموده و در صورت وجود موارد مشکوک به بیماری با همکاری اداره کل دامپزشکی استان، نسبت به ثبت در سامانه GIS اقدام لازم را نمایند. نظارت بر اجرایی شدن و نیز حسن اجرا در بخش مراقبت غیر فعال بر عهده اداره کل دامپزشکی استان می باشد.

به دنبال گزارش وجود تلفات و یا علائم بالینی (علائم ناشی از بیماری های مورد نظر برنامه)، به منظور تشخیص بیماری، بلافاصله توسط کارشناسان ادارات کل دامپزشکی استانها، پس از برقراری قرنطینه موقت نمونه برداری جهت انجام آزمایشات تشخیصی (Diagnostic tests) صورت می گیرد. این برنامه، در طول سال و برای تمامی مراکز تکثیر و مزارع پرورش ماهی کشور و آبهای داخلی، برقرار می باشد.

۳،۲،۲: نحوه جمع آوری و ارسال نمونه به منظور تشخیص بیماری در مراقبت غیر فعال بر اساس علایم بالینی:

از بافت های مناسب (کلیه، طحال، آبشش و مغز) ۱۰ قطعه ماهی بیمار در شرایط استریل نمونه برداری می شود. نمونه ها در اتانول ۷۰٪ فیکس شده و به آزمایشگاه ارسال می شوند.

#### ۴. تشخیص

روش تشخیص پس از غربالگری، بر اساس نمونه برداری و انجام آزمایشهای ملکولی PCR و با کیت تشخیصی (مورد تأیید سازمان) بوده که در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایش، انجام آزمایشات تکمیلی و تأییدی (کشت سلولی ویروسی - آزمایشات سرولوژیکی در مرکز ملی تشخیص) صورت خواهد گرفت. در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایش غربالگری بچه ماهیان، در نمونه برداری مجدد از مولدین نیز نمونه برداری می شود.

توجه: آزمایشگاه های مورد تأیید سازمان جهت انجام آزمایشات مربوطه، آزمایشگاه های مرکزی ادارات کل دامپزشکی استان های گیلان و خوزستان می باشد. پیش از ارسال نمونه بایستی هماهنگی لازم با آزمایشگاه صورت پذیرد.

## ۵. اقدامات بعد از تشخیص بیماری:

در صورت تأیید اولیه وقوع هر یک از بیماری های مورد نظر بایستی اقدامات ذیل به اجرا در آید.

۱. برقراری قرنطینه موقت و جلوگیری از توزیع و پخش بچه ماهی های آلوده
۲. انجام آزمایشات تأییدی در محل مرکز ملی تشخیص
۳. حذف و معدوم سازی بچه ماهی های آلوده برابر دستورالعمل های سازمان
۴. پاکسازی و ضدعفونی کردن کامل استخرها و وسایل موجود در مرکز برابر دستورالعمل های سازمان
۵. قرنطینه کامل مولدین مرکز و نمونه برداری جهت انجام آزمایشات تأییدی و تکمیلی
۶. حذف مولدین در صورت نتیجه مثبت آزمایشات برابر دستورالعمل های سازمان
۷. کنترل و پایش سایر مراکز مرتبط با مرکز آلوده و در صورت لزوم نمونه برداری و انجام آزمایش
۸. ذخیره سازی مجدد مزارع و مراکز تکثیر آلوده پس از سپری شدن دوره آبش و تکمیل اقدامات بهداشتی، صرفاً با مجوز دامپزشکی امکان پذیر است.

## ۶. تعریف مورد مشکوک (Suspect Case) به بیماری SVC:

طبق تعریف OIE Definition of suspect داشتن یک مورد از موارد زیر تأیید کننده "مورد مشکوک بیماری" خواهد بود:

- مشاهده علائم تیپیک فرم بالینی همچون تیرگی، اگزوفتالمی، آسیت، رنگ پریدگی آبشش ها، تورم و بیرون زدگی مخرج و کست مدفوعی آویزان در جمعیت ماهیان مشکوک

- مشاهده علائم تیپیک هیستوپاتولوژی همچون نکروز شدید هیپاتوسیت های کبدی، تورم و چماقی شدن تیغه های آبششی، اینفیلتراسیون چربی و افزایش ماکروفاژها در کبد در مقاطع بافتی (مثل بیماری SVC)

- مشاهده CPE در تیره سلولی بدون جداسازی عامل مثبت

- مشاهده یک مورد نمونه مثبت با روش های تشخیصی a و یا b جدول 5.1 methods for targeted surveillance and diagnosis

**a** = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity

**b** = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity

- انتقال ماهی زنده از سایت مشکوک به بیماری SVC که تایید شده باشد

- سایر عوامل اپیدمیولوژیک تایید کننده بیماری SVC در سایت مذکور (همچون انتقال ماهی از یک زون آلوده به یک منطقه پاک و عاری از بیماری)

- تشخیص و تعیین آنتی بادی اختصاصی بیماری SVC

در موارد وجود علائم بالینی مشخص بیماری در جمعیت حساس و یا وجود علائم هیستوپاتولوژی مشخص در مقاطع بافتی یا مشاهده اثرات سایتوپاتیک در کشت سلول بدون تعیین عامل و یا حصول یک نتیجه مثبت از یکی از روش های جدول (۲) ذیل به وجود بیماری مشکوک می شویم.

جدول شماره (۲): روش های تشخیصی بیماری SVC مطابق با دستورالعمل OIE

تشخیص قطعی	تشخیص اولیه	مراقبت هدفمند		روش
		بچه ماهی	بالغ	
d	b	d	d	علائم بالینی
c	b	d	d	هیستوپاتولوژی
d	d	d	d	میکروسکوپ الکترونی
a	a	a	a	جداسازی در کشت سلولی
c	a	d	d	تست برای آنتی ژن ویروس



d	c	c	c	تست برای آنتی بادی های علیه ویروس
a	a	c	c	RT- PCR
a	a	NA	NA	سکانس ژنی

a: روش آزمایش به دلیل قابلیت استفاده، در دسترس بودن و اختصاصیت و حساسیت تشخیصی توصیه می شود.

b: روش آزمایشی استاندارد با اختصاصیت و حساسیت تشخیصی مناسب می باشد.

c: این روش قابل انجام است ولی هزینه بر بودن و صحت آن و یا برخی عوامل دیگر، استفاده از آن را محدود می سازد.

d: این روش در حال حاضر توصیه نمی شود.

na: غیر قابل انجام

**RT- PCR** : reverse-transcription polymerase chain reaction (Conveintional PCR)

**RQT- PCR**:real time PCR

۷. تعریف مورد قطعی بیماری:

اولین مورد رخداد بیماری در یک منطقه جدید و یا در منطقه ای که بیماری SVC قبلاً اتفاق افتاده است اما طی دو سال اخیر در برنامه مراقبت ردیابی نشده باشد، به عنوان Index Case در نظر گرفته می شود.

با توجه به این که روش تشخیصی مورد استفاده در برنامه RT-PCR و یا RQT- PCR می باشد، به منظور تشخیص قطعی index case، محصول بایستی سکانس ژنی شود.

بعد از تأیید مورد اول بیماری در منطقه، سایر موارد با روش RT-PCR و یا RQT- PCR همراه با مشاهده علائم بالینی به عنوان موارد قطعی در نظر گرفته می شود.

عملیات اجرایی: (۹۸/۱۰/۱۵ لغایت ۹۹/۱/۳۱)

جدول شماره (۳): عملیات اجرایی، بازدید، نمونه برداری و محدوده عملیات به تفکیک استانها

ردیف	نام استان	تعداد مراکز تکثیر بازدید شده	تعداد مراکز تکثیر/نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش بازدید شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش/نمونه برداری شده	تعداد مزارع پرورشی استان/نمونه برداری شده	تعداد مزارع پرورشی استان/بازدید شده
۱	البرز						
۲	کرمان جنوب						
۳	خ رضوی						
۴	آ. غربی						
۵	گلستان						
۶	مازندران						
۷	خوزستان						
۸	سیستان و بلوچستان						
۹	گیلان						
۱۰	اردبیل						

						کرمان	۱۱
						فارس	۱۲
						تهران	۱۳
						خراسان جنوبی	۱۴
						اصفهان	۱۵
						جمع	