



وزارت جهاد کشاورزی



سازمان دامپزشکی کشور

Iran veterinary organization



جمهوری اسلامی ایران

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی
(VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلائی رنگین
کمان در مزارع آبزی پروری (مزارع تکثیر،
مزارع تفریخ، مزارع پرورش) کشور

۱۴۰۴-۱۴۰۵

(VHS, IHN, IPN) viral diseases
targeted surveillance

آدرس: تهران، خیابان ولیعصر، دوراهی یوسف آباد، ابتدای خیابان
سیدجمال الدین اسدآبادی، ساختمان سازمان دامپزشکی کشور

تلفن: ۸۸۹۵۳۴۰۰-۳

دورنویس: ۸۸۹۵۷۲۵۲

وبگاه: [https:// ivo.ir](https://ivo.ir)

NVR:
404/02/IVO
7th Edition
2025

مقررات ملی دامپزشکی

404/02/IVO

ویرایش هفتم ۱۴۰۴



شناسنامه

عنوان فارسی:	برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا رنگین کمان در مزارع آبزی پروری (مزارع تکثیر، مزارع تفریح، مزارع پرورش) کشور ۱۴۰۴-۱۴۰۵
عنوان انگلیسی:	(VHS, IHN, IPN) Viral Diseases Targeted Surveillance
کد:	تاریخ شروع: اول آبان ۱۴۰۴

شماره و تاریخ ویرایش:	ویرایش هفتم (اردیبهشت ماه سال ۱۴۰۴)
شرح مختصر تغییرات:	به روز رسانی مطالب علمی

استناد قانونی:	۱- ماده ۵ قانون سازمان دامپزشکی کشور مصوب سال ۱۳۵۰ ۲- ماده ۳ آئین نامه مبارزه با بیماری های دامی و جلوگیری از سرایت و انتشار آنها به شماره ۱۲۸۱۰۲/ت ۴۵۹۴۹ ه در مورخ ۱۳۹۱/۰۶/۲۹ (مصوب هیئت محترم وزیران)
متن مستند قانونی:	۱- سازمان مکلف است بمنظور مبارزه با بیماریهای دامی و جلوگیری از سرایت و انتشار آنها با موافقت وزارت کشاورزی اقدامات زیر را بعمل آورد: ج- دام بیمار یا مظنون به ابتلاء بیماری یا ناقل عامل بیماری را معدوم کند و اگر قابل مصرف تشخیص شد برای ذبح به کشتارگاه اعزام دارد و طبق ضوابطی که در آئین نامه اجرائی این قانون تعیین خواهد شد غرامت بپردازد. ۲- سازمان موظف است ضمن اطلاع رسانی فهرست عمومی بیماری های دامی، سیاست مبارزه با هر یک از بیماری های دامی را با توجه به وضعیت آن بیماری در کشور و ضوابط و مقررات سازمان جهانی بهداشت حیوانات، به صورت سالیانه تعیین، اعلام و اجرا نماید.

تدوین کننده:	دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان
تصویب کننده:	شورای معاونین سازمان دامپزشکی کشور - جلسه مورخ .../.../۱۴۰۴

فهرست

صفحه	عنوان
۱	دیباچه
۱	هدف
۱	تعاریف واژه ها و اصطلاحات
۲	دامنه کاربرد
۲	مسئولیت اجرا
۳	قوانین و مقررات مرتبط
۳	مراقبت بیماری
۳	شرح عملیات
۱۱	اقدامات پس از ردیابی پاتوژن
۱۱	ثبت اطلاعات
۱۱	تعریف موارد بیماری
۱۵	آزمایشگاههای منطقه ای در تشخیص بیماری ها

دیباچه:

رخداد سه بیماری IPN، IHN، VHS و در صنعت پرورش ماهی قزل آلا کشور علی رغم کاهش چشمگیر تعداد کانون ها، هر سال موجب تلفات و خسارات اقتصادی می شود. به همین دلیل، این بیماری ها، تحت برنامه ملی مراقبت قرار دارند و سازمان دامپزشکی در تلاش است که از طریق منطقه بندی (Zoning) و کوپه بندی (Compartmentalization)، نسبت به کنترل و محدودسازی این بیماری ها اقدام نموده و در صورت امکان، آنها را ریشه کن نماید. با توجه به نتایج حاصل از برنامه های مراقبت و تاریخچه بروز بیماری، مناطق پاک، نامشخص و آلوده در کشور از نظر این بیماری ها معین شده و روابط جابجایی و حمل و نقل بین این مناطق تعریف شده و تحت کنترل است. برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (IPN، IHN، VHS) در ماهیان قزل آلا رنگین کمان در مزارع آبزی پروری (مزارع تکثیر، مزارع تفریح، مزارع پرورش) کشور ۱۴۰۴-۱۴۰۵ پس از به روز رسانی، در سال ۱۴۰۴ توسط دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان پیشنهاد و در جلسه شورای معاونین سازمان دامپزشکی کشور در تاریخ .../.../۱۴۰۴ به تصویب رسید و برای اجرا در سطح مراکز تکثیر و مزارع پرورش ماهیان سردآبی کشور به ادارات کل دامپزشکی استان ابلاغ می گردد. این برنامه در ۱۰ ماده و یک تبصره تنظیم شده است.

ماده ۱- هدف:

- شناسایی مراکز تکثیر و مزارع پرورش آلوده به پاتوژن های IPN، IHN، VHS
- به روزرسانی و اصلاح منطقه بندی (Zoning) و کوپه بندی (Compartmentalization) با توجه به نتایج حاصل از برنامه و تاریخچه بروز بیماری
- به روزرسانی فهرست مناطق پاک، نامشخص و آلوده از نظر این بیماری ها و بازنگری سیاست اجرایی متفاوت در روابط جابجایی و حمل و نقل بین این مناطق
- کنترل و محدودسازی بیماریهای IPN، IHN، VHS
- پیشگیری از بروز و کنترل وقوع این بیماریها

ماده ۲- تعاریف واژه ها و اصطلاحات:

- اصطلاحات مهمی که در این دستورالعمل به کار برده خواهد شد بر اساس کد آیزان (WOAH 2024) دارای معانی زیر است:
- ۱-۲- بهر جمعیت (Lot): گروهی از آبزیان که دارای ویژگیهای مشترک (پرورش در یک مرکز آبزی پروری، از یک گونه یکسان، دارای مولد یکسان و دارای منبع آبی مشترک) هستند.
 - ۲-۲- مراقبت (Surveillance): بررسی مداوم و سیستماتیک بر روی جمعیت آبزی هدف به منظور ردیابی وقوع بیماری با اهداف کنترلی که ممکن است نیازمند نمونه برداریهایی برای آزمایش کردن باشد.
 - ۲-۳- مراقبت هدفمند (targeted surveillance): برنامه مراقبتی است که بیماری یا عفونت خاصی را هدف گرفته و جستجو و رصد میکند.

۴-۲- مراقبت غیرفعال (Passive): برنامه مراقبتی است که معمولاً بر اساس مشاهدات علائم بالینی یا رفتاری مشکوک به بیماری

(clinical base) یا بر اساس ارزیابی میزات تلفات یا داده های میزان تولیدات مزرعه که توسط سیستم تشخیص زودهنگام یا سایر

اطلاعاتی که در اختیار مرجع ذیصلاح است به دست آید.

۵-۲- منطقه (Zone): به معنای منطقه ای در یک یا چند کشور حاوی جمعیت آبزیان با وضعیت سلامت خاص نسبت به یک بیماری، که

در آن اقدامات نظارتی و کنترلی و شرایط اولیه امنیت زیستی اعمال می شود. منطقه (Zone) باید توسط مرجع ذیصلاح تعریف شود.

۲-۶- وضعیت آلوده: چنانچه در مزرعه یا منطقه ای، بروز بیماری گزارش شده باشد ولی عملیات خشک کردن و آیش گذاری

(Following) در آن انجام نشده باشد و یا این که این عملیات انجام گرفته و مجدداً درگیر شده باشد، در وضعیت آلوده قرار می گیرند.

تبصره: چنانچه در منطقه ای با وضعیت پاک و یا نامشخص فقط یک مزرعه درگیر یکی از بیماریهای هدف شود، پس از انجام فوری عملیات تخلیه کامل، خشک کردن و آیش گذاری، برنامه تشدید مراقبت (طبق نسخه اصلاحی دستورالعمل پیشگیری و کنترل بیماریهای ویروسی در ماهیان قزل آلا کشور) در کلیه مزارع آن منطقه به مدت یک ماه اجرا خواهد شد و در صورت ردیابی ویروس عامل درگیری مزرعه یاد شده و یا وقوع فرم بالینی بیماری مذکور در مزرعه دیگری، آن منطقه در وضعیت آلوده اعلام و مشمول کلیه ضوابط و مقررات قرنطینه ای بهداشتی حاکم بر مناطق با وضعیت آلوده خواهد بود.

۲-۷- وضعیت پاک: چنانچه در مزرعه یا منطقه ای، بروز بیماریهای هدف در طی دو سال گذشته گزارش نشده باشد و در طی این دو سال

تحت برنامه مراقبت از بیماری هم بوده و ویروس عامل بیماری در آن ردیابی نشده باشد و یا فاقد پرورش ماهی قزل آلا و سایر گونه های حساس به بیماری باشد، در وضعیت پاک قرار می گیرند.

۲-۸- وضعیت نامشخص: چنانچه در مزرعه یا منطقه ای، بروز بیماری گزارش نشده ولی تحت برنامه مراقبت نبوده و یا به دنبال رخداد بیماری،

عملیات معدوم سازی و آیش گذاری انجام و مجدداً ماهی دار شده ولی دو سال مراقبت آن سپری نشده باشد، در وضعیت نامشخص قرار می گیرند.

ماده ۳- دامنه کاربرد:

این دستورالعمل به منظور مراقبت بیماری های ویروسی هدف در اماکن و جمعیت آبی زیر انجام میشود.

- مراکز تکثیر ماهیان سردآبی
- مراکز تفریح ماهیان سردآبی
- مزارع پرورش ماهیان سردآبی

ماده ۴- مسئولیت اجراء:

الف. مسئولیت اجرای برنامه با ادارات کل دامپزشکی استانها بوده و دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان مسئولیت کنترل و نظارت بر حسن اجرای دستورالعمل را عهده دار است.

ب. به منظور ارتقاء سیستم گزارش دهی و ساماندهی گزارش گیری بیماری های هدف، در دوره زمانی پرخطر وقوع بیماریها (دما و فصل مربوطه طبق بند ۷.۱)، هر ۱۵ روز یکبار، مسئولین فنی بهداشتی باید اقدام به بازدید میدانی از مرکز و ثبت فرم پایش در سامانه GIS آبزیان نمایند. لازم به ذکر است در صورت مشاهده علائم احتمالی مربوط به بیماریهای هدف (شرح داده شده در ماده ۲)، ضمن هماهنگی با اداره دامپزشکی شهرستان و نمونه برداری و ارسال آن، باید نسبت به ثبت گزارش بیماری در سامانه GIS آبزیان اقدام نمایند. نظارت بر حسن اجرا، بر عهده اداره کل دامپزشکی استان می باشد.

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

ماده ۵- قوانین و مقررات مرتبط:

- ۵-۱- بند ج ماده ۵ قانون سازمان دامپزشکی کشور مصوب سال ۱۳۵۰
- ۵-۲- بند ۳ آئین نامه مبارزه با بیماریهای دامی و جلوگیری از سرایت و انتشار آنها به شماره ۱۲۸۱۰۲/ ت ۴۵۹۴۹ ه در مورخ ۱۳۹۱/۰۶/۲۹ (مصوب هیئت محترم وزیران)

ماده ۶- مراقبت بیماری:

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

- در **مراقبت فعال**، مراکز تکثیر ماهیان سردآبی، مراکز تفریح ماهیان سردآبی و انواع مزارع پرورش ماهیان سردآبی (استخرهای بتنی، پرورش در قفس، استخرهای خاکی، آب بندان ها، ...) تحت مراقبت قرار می گیرند. در **مراقبت غیرفعال**، گزارش وقوع بیماری یا مشاهده علائم متناسب به آن در جمعیت ماهیان پرورشی و وحشی کشور مورد بررسی قرار می گیرد.

ماده ۷- شرح عملیات

۷.۱. زمان شروع و اجرای برنامه

زمان کلی آغاز برنامه از ۱۴۰۴/۰۸/۰۱ خواهد بود که بر اساس اپیدمیولوژی بیماری و با درنظر گرفتن دمای مناسب آب برای فعالیت ویروس (۱۴ درجه سانتیگراد)، زمان شروع مرحله اول برنامه در استان ها و زون ها بسته به شرایط محیطی و دمای آب متغیر است. مرحله اول اجرای برنامه از زمانی آغاز میشود که دمای آب به مدت حداقل دو هفته به کمتر از ۱۴ درجه سانتی گراد رسیده باشد و مولدین مرکز تکثیر به رسیدگی جنسی رسیده و عملیات تخم کشی آغاز شده باشد. مرحله دوم (فاز بهاره) برنامه حداقل ۴ ماه پس از مرحله اول می باشد، مشروط بر اینکه قبل از فروردین ماه نباشد و دمای آب به بالای ۱۴ درجه سانتیگراد نرسیده باشد.

توجه: به منظور پوشش حداکثری برنامه در طول سال بهتر است فاصله بین اجرای دو مرحله حتی المقدور به فاصله زمانی ۶ ماهه نزدیکتر باشد.

در مناطقی که دمای آب در اغلب فصول سال بالای ۱۴ درجه سانتیگراد می باشد ترتیبی اتخاذ شود تا برنامه از آذر ماه در قالب یک فاز اجرا گردد.

۷/۲. عملیات اجرایی

۷/۲/۱. جامعه آماری، واحد نمونه گیری و نوع نمونه:

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

جمعیت هدف (جامعه آماری) در این برنامه، کلیه واحدهای اپیدمیولوژیک فعال کشور در زمان اجرای برنامه به شرح زیر می باشد:

۱- مزارع تکثیر ماهیان سردابی (مولدین آماده تکثیر و بچه ماهی های تولیدی)

۲- مزارع تفریخ (حد واسط) ماهیان سردابی (بچه ماهی های تولیدی)

۳- مزارع پرورش ماهیان سردابی (بچه ماهی های ورودی)

واحد نمونه گیری شامل تراف، تانک و استخر بوده و نوع نمونه در این برنامه شامل بچه ماهی، بافت هدف ماهی، مایع تخمدانی و اسپرم می باشد.

۷/۲/۲. زمان و تعداد نمونه برداری:

تمام مزارع (مزارع تکثیر، مزارع تفریخ، مزارع پرورش) دو بار در سال تحت بازدید بالینی قرار می گیرند و در کلیه مناطق (با وضعیت پاک، وضعیت نامشخص، وضعیت آلوده) از مزارع تکثیر و مزارع تفریخ بر اساس جداول ذیل نمونه برداری صورت می گیرد. در زمان بازدید تمام واحدهای تولیدی مزرعه شامل سالن تکثیر، تراف ها و کل استخرها مورد بازدید و بازرسی قرار گرفته و توجه ویژه ای بایستی به خروجی تراف ها و استخرها معطوف گردد. نمونه برداری از ماهیان کل واحدهای تولیدی مزرعه به نسبت جمعیت آنها صورت می گیرد. باید توجه داشت که تمام جمعیت حساس باید در چارچوب نمونه گیری منظور شده و شانس انتخاب به عنوان نمونه را داشته باشند.

جدول شماره ۱: تعداد بازدید و نمونه برداری از مزارع تکثیر و مزارع تفریخ مناطق با وضعیت نامشخص و

وضعیت آلوده

نوع مزرعه	تعداد بازدید در سال	تعداد نمونه برداری در سال	بازدید اول		بازدید دوم		رژیم نوری		روش آزمایش
			مولد ماده *	بچه ماهی	مولد ماده	بچه ماهی	مولد ماده	بچه ماهی	
مزارع تکثیر (مزارع دارای ماهی مولد و بچه ماهی)	۲	۲	۳۰	۵۰	۰	۷۵	۳۰	۵۰	مولد ماده: کشت سلولی بچه ماهی: Real-Time PCR

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

بچه ماهی: Real-Time PCR	*	*	۷۵	*	۷۵	*	۲	۲	مزارع تفریخ (مزارع فاقد ماهی مولد)
----------------------------	---	---	----	---	----	---	---	---	--

فرانس: تصمیم اجرایی کمیسیون اتحادیه اروپا به شماره ۲۰۱۵/۱۵۵۴ مورخ ۲۰۱۵/۰۹/۱۱

[* در مناطقی که بیماری رخ داده و عملیات معدوم سازی انجام شده است و در حال حاضر بروز بیماری گزارش نشده است علاوه بر نمونه مایع تخمدانی بایستی ۳۰ نمونه اسپرم نیز طبق همان روش اخذ شود.]

تبصره: در خصوص مراکز تکثیری که دارای مولدین تحت رژیم نوری بوده و تولید تخم خارج از فصل می کنند وفق این دستورالعمل در زمان تولید خارج از فصل عملیات تکرار می شود.

روش آزمایش برای IPN، RT-PCR (Reverse Transcriptase PCR) می باشد.

جدول شماره ۲: تعداد بازدید و نمونه برداری از مزارع تکثیر و مزارع تفریخ مناطق با وضعیت پاک

روش آزمایش	رژیم نوری		بازدید دوم		بازدید اول		تعداد نمونه برداری در سال	تعداد بازدید در سال	نوع مزرعه
	بچه ماهی	مولد ماده	بچه ماهی	مولد ماده	بچه ماهی	مولد ماده *			

مولد ماده: کشت سلولی									مزارع تکثیر (مزارع دارای ماهی مولد و بچه ماهی)
بچه ماهی: Real-Time PCR	۳۰	۳۰	۳۰	۰	۳۰	۳۰	۲	۲	
بچه ماهی: Real-Time PCR	۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۲	۲	مزارع تفریخ (مزارع فاقد ماهی مولد)

رفرانس: تصمیم اجرایی کمیسیون اتحادیه اروپا به شماره ۲۰۱۵/۱۵۵۴ مورخ ۲۰۱۵/۰۹/۱۱

۷/۳. روش نمونه برداری

- در محاسبه تعداد مزارع پرورشی تحت مراقبت فعال استان در بخش الف بند ۷.۳.۱، تعداد مزارع آلوده واقع در زون های آلوده در فرمول لحاظ نمی شوند.
 - در وضعیت آلوده (زون) برنامه مراقبت در مزارع پرورشی بصورت مراقبت بالینی انجام می شود.
- تبصره: در زون های با وضعیت آلوده، در صورتیکه ظرف دو سال گذشته، گزارش تأیید شده ای از وقوع یکی از بیماریهای هدف (IPN, IHN, VHS) وجود نداشته باشد، آن زون در لیست نمونه برداری برنامه ملی مراقبت قرار می گیرد و نمونه برداری باید طبق عملیات انجمنی در زون های با وضعیت نامشخص انجام شود. بدیهی است در خصوص وضعیت بهداشتی زون های مذکور، پس از مشخص شدن نتایج آزمایشات نمونه های برداشتی، اتخاذ تصمیم خواهد شد.
- در خصوص مزارع پرورشی، نمونه برداری تنها از مزارع پرورش واقع در زونهای با **وضعیت نامشخص و پاک** انجام می شود.
 - پس از انتخاب مزرعه پرورشی هدف، نمونه برداری از جدیدترین سری بچه ماهیان وارد شده به مزرعه که حداقل دو هفته از زمان ورود آنها گذشته باشد و دارای وزن کمتر از ۱۰ گرم باشند (۳۰ قطعه بچه ماهی در مناطق با وضعیت پاک و ۷۵ قطعه بچه ماهی در

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS, IHN, IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

مناطق با وضعیت نامشخص) انجام می شود و در صورتیکه این سایز ماهی در مزرعه موجود نباشد، مزرعه مجاور که دارای این سایز باشد برای نمونه برداری انتخاب می شود. نمونه برداری ترجیحاً بایستی از بچه ماهیان جمع شده در خروجی استخر و یا جدا شده از گله و بی حال در کناره های استخر انجام شود.

- اگر همه مزارع پرورشی واقع در یک زون با وضعیت نامشخص، فاقد بچه ماهی کمتر از ۱۰ گرم بودند، با توجه به اینکه تاریخ شروع اجرای برنامه ۱۴۰۳/۰۸/۰۱ تعیین شده، ضمن هماهنگی با پرورش دهنده، زمان نمونه برداری در بازه زمانی دو ماه آینده "مشروط به ورود گله بچه ماهی جدید به مزرعه و عدم افزایش دمای آب" امکان جابجایی دارد. در غیر اینصورت از کم وزن ترین ماهیان موجود در مزرعه که حداقل دو هفته از زمان ورود آنها گذشته باشد نمونه برداری خواهد شد.
- اگر همه مزارع پرورشی واقع در یک زون با وضعیت پاک، فاقد بچه ماهی کمتر از ۱۰ گرم بودند، مزارع آن زون صرفاً مورد مراقبت بالینی قرار می گیرند و در صورتیکه فاقد تلفات و یا علائم مشکوک باشند، نمونه برداری انجام نشده و فرم پایش در سامانه GIS آبریان تکمیل می گردد.

۷.۳.۱ جمعیت آماری (انتخاب واحدها)

الف. در خصوص مزارع تکثیر و حد واسط به روش سرشماری از کل مزارع طبق جداول شماره ۱ و ۲ بند ۷.۲.۲ نمونه برداری به عمل می آید.

ب. در خصوص مزارع پرورشی واقع در زون به روش ذیل اقدام می شود:

ب.۱. تعداد مزارع پرورشی (واقع در زونهای پاک و نامشخص) هر استان در عدد ۷۵ ضرب و سپس بر مجموع تعداد مزارع پرورشی (واقع در زونهای پاک و نامشخص) استان و عدد ۷۵ تقسیم می شود:

$$\bigcirc = (75 + \text{تعداد مزارع پرورش}) \div (75 \times \text{تعداد مزارع پرورش})$$

و بدین ترتیب تعداد مزارعی که بایستی نمونه برداری شوند به دست می آید.

ب.۲. سپس جدولی باید تنظیم کرد که تعداد مزارع هر زون در آن مشخص باشد و بر اساس تعداد مزارع هر زون و درصد آنها تعداد مزارع تحت برنامه مراقبت مشخص گردد.

مثال: در یک استان تعداد کل مزارع پرورشی ۳۰۰ مزرعه می باشد. تعداد مزارع تحت برنامه مراقبت به شرح ذیل محاسبه می گردد:

$$60 = (75 + 300) \div (75 \times 300)$$

تعداد مزارع = ۶۰

ردیف	نام زونهای استان (پاک و نامشخص)	تعداد مزارع زون	نسبت مزارع	تعداد مزارع تحت برنامه مراقبت
------	------------------------------------	--------------------	------------	----------------------------------

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

۱	رودخانه A	۱۰۰	۳۳.۳٪	۲۰
۲	رودخانه B	۲۰	۶.۶٪	۴
۳	رودخانه C	۴۰	۱۳.۳٪	۸
۴	رودخانه D	۸۰	۲۶.۶٪	۱۶
۵	رودخانه E	۶۰	۲۰٪	۱۲
جمع	۵	۳۰۰	۱۰۰	۶۰

$$\Rightarrow (60 \times 33.3) \div 100 = 19.8 \approx 20$$

۳. پس از اینکه تعداد مزارع پرورشی تحت مراقبت در هر زون مشخص شد، پراکندگی این تعداد در زون بایستی بصورت ذیل تعیین شود.

زون بر اساس طول کل آن به سه قسمت ابتدایی، میانی و انتهایی تقسیم می شود و انتخاب بر اساس ۴۰٪ مزارع در قسمت ابتدایی، ۳۰٪ مزارع در قسمت میانی و ۳۰٪ مزارع در قسمت انتهایی زون صورت می گیرد.

به عنوان مثال در زون رودخانه A تعداد ۸ مزرعه در قسمت ابتدایی، ۶ مزرعه در قسمت میانی و ۶ مزرعه در قسمت انتهایی زون انتخاب می شود.

ترجیحاً مزارعی که در سال گذشته مورد نمونه برداری قرار گرفته و منفی بوده اند، در سال جاری با اولویت پایین تری برای انتخاب در نظر گرفته شوند.

ج. در خصوص مزارع پرورشی خارج از زون (مستقل) به روش ذیل اقدام می شود:

این مزارع صرفاً مورد مراقبت بالینی قرار گرفته و در صورتیکه فاقد تلفات و یا علائم مشکوک باشند، نمونه برداری انجام نگردد و تنها **فرم پایش** در سامانه GIS تکمیل می شود.

۷/۳/۲. نمونه برداری از لارو و بچه ماهی

۱. در مورد لاروهای دارای کیسه زرده، باید ابتدا کیسه زرده آن جدا شده و باقیمانده آن در ظروف استریل حاوی ماده نگهدارنده قرار داده شود.

۲. در مورد بچه ماهیان کمتر از ۴ سانتی متر، قسمت انتهایی بدن (پشت مخرج) با قیچی یا اسکالپل استریل جدا شود و باقیمانده آن در ظروف استریل حاوی ماده نگهدارنده قرار داده شود.

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

۳. در مورد بچه ماهیان ۴-۶ سانتی متری، ضروری است ابتدا دم و سر حذف شود و سپس با ایجاد یک شکاف در امتداد خط میانی شکم و پس از حذف کبد، باقیمانده نمونه در ظروف استریل حاوی ماده نگهدارنده قرار داده شود. (کل احشا به استثنای کبد به علاوه کلیه و قسمتی از مغز)

۴. در مورد ماهیان بیشتر از ۶ سانتی متر، اندامهای هدف نمونه برداری و در ظروف استریل حاوی نگهدارنده قرار داده شود. (بافتهای هدف در VHS و IHN عبارتند از ۱. طحال، ۲. کلیه قدامی، ۳. قلب ۴. مغز)

۵. حجم مایع نگهدارنده حداقل می بایست ۵ میلی لیتر در هر لوله و حداقل وزن هر نمونه بافتی نمونه برداری شده می بایست ۰.۵ گرم باشد (در هر لوله ۱۰ برابر حجم نمونه، مایع نگهدارنده قرار داده شود).

نکته: حداکثر تعداد نمونه های در هر ظرف ۱۰ عدد ماهی بوده و ماهیان دارای علائم با سایر ماهی ها مخلوط نشود.

۷/۳/۳. نمونه برداری از مولدین:

الف. نمونه برداری از مایعات تخمدانی و اسپرم:

نمونه برداری از مولدین معاینه شده آماده تخم کشی با هماهنگی با پرورش دهنده و در زمان تخم کشی ترجیحاً یک هفته پس از آغاز عملیات تخم کشی انجام شود. انتخاب مولدین به صورت تصادفی انجام می شود. تعداد مولدین مورد نمونه برداری ۳۰ مولد ماده می باشد. پس از انتخاب مولدین مورد نظر، ابتدا مولدین بیهوش شده (با مواد بیهوش کننده مجاز) و سپس 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 ظرف مدت ۴۸ ساعت از زمان نمونه برداری (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 نمونه 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 ارسال می گردد.

ب. نمونه برداری از بافت:

نمونه برداری بافتی از مولدین حذفی به روش برداشت از بافتهای هدف شامل طحال، کلیه قدامی، قلب و مغز جهت انجام آزمایشات مولکولی.

۷/۳/۴. وسایل نمونه برداری شامل موارد ذیل می باشد:

- جعبه نمونه برداری (بایستی قابل شستشو و ضدعفونی باشد)
- ماده ضدعفونی کننده مناسب و موثر
- ست کالبدگشایی شامل سینی، قیچی، اسکالپل، پنس و... استریل

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

- لوله فالكون حاوی محیط نگهدارنده (محیط نگهدارنده برای کشت ویروس (VTM) و جهت آزمایش های مولکولی الکل ۷۰ یا ۹۵ درصد یا RNA Later می باشد)
- دستکش

۷/۳/۵. نکات مهم در عملیات نمونه برداری:

- در زمان نمونه برداری و انتقال نمونه ها رعایت زنجیره سرد (دامنه دمایی +۴ الی +۸ درجه سانتیگراد) و انتقال سریع آن به آزمایشگاه رعایت شود.
- چنانچه امکان انتقال سریع نمونه به آزمایشگاه امکانپذیر نمی باشد میتوان نمونه های داخل VTM را در یخچال (دمای +۴ درجه سانتیگراد) نگهداری نمود و حتی المقدور در فاصله ۴۸ تا ۷۲ ساعت تحویل آزمایشگاه گردد. (از فریز نمودن خودداری شود)
- بر روی تمام ظروف نمونه برداری برچسبهای ضد آب مناسب چسبانده و بر روی هر یک مشخصات نمونه شامل تاریخ نمونه برداری، نام استان، شهرستان، نام وکد واحد اپیدمیولوژیک و هر آنچه که موجب تفکیک و تفریق نمونه ها از یکدیگر میشود، با مداد درج گردد.
- نمونه ها منظم و مرتب در راکهای مخصوص چیده شده و در بسته های عایق (یونولیت) حاوی یخ به خوبی بسته بندی و به آزمایشگاه ارسال گردد.
- رعایت اصول امنیت زیستی و نکات بهداشتی در زمان بازدید از مزارع الزامی است.
- به منظور حداکثر دقت در جلوگیری از ورود آلودگی احتمالی، لازم است عملیات نمونه برداری با رعایت حداکثر شرایط استریل در فیلد انجام شود.

۷/۴. آزمایش های تشخیصی:

جداسازی ویروس در نمونه های اخذ شده از مولدین به روش کشت سلولی، بر روی لاین های سلولی BF2-EPC-RTG2 و فقط در آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص سازمان انجام خواهد شد. شناسایی ویروس در مورد نمونه های اخذ شده از بچه ماهیان و ماهیان مبتلا، به روشهای Real-Time PCR و Conventional-RT-PCR انجام خواهد شد. برای ردیابی ویروسهای VHSV و IHNV روش تشخیص Real-Time PCR و برای ردیابی ویروس IPNV روش تشخیص Conventional-RT-PCR میباشد.

ماده ۸- اقدامات پس از ردیابی پاتوژن

- ۸.۱. در صورت ردیابی عامل بیماریزا در کشت سلولی مراکز تکثیر که دارای گله ماهیان مولد هستند، مزرعه به عنوان مثبت تلقی شده و نسبت به حذف مولدین اقدام می گردد.
- تبصره: بجز بند ۸.۱ سایر بندهای ماده ۸ (اقدامات پس از ردیابی بیماری) شامل کلیه مراکز تکثیر، تفریح و مزارع پرورش می شود.
- ۸.۲. چنانچه در آزمایشات مولکولی در مناطق با وضعیت پاک نتیجه آزمایشات مولکولی در نمونه‌های بچه ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش فاقد علائم بالینی مثبت بود، نمونه برداری مجدد جهت کشت سلولی و آزمایشات مولکولی انجام شود و به آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص سازمان ارسال گردد.
- ۸.۳. در مراکزی که دارای علائم بالینی تبیین بیماری بوده و نتیجه آزمایش مولکولی استان مثبت باشد، نیازی به ارسال نمونه نمی باشد و اقدامات کنترلی مطابق موارد ذکر شده در بخش مربوطه در دستورالعمل پیشگیری و کنترل بیماری های ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا کشور انجام شود.
- ۸.۴. چنانچه در آزمایشات مولکولی در مناطق با وضعیت نامشخص نتیجه آزمایشات مولکولی Real Time PCR در نمونه های بچه ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش فاقد علائم بالینی مثبت بود، با توجه به سابقه بروز بیماری در زون تصمیم گیری شود:
- با سابقه بیماری مثبت تلقی شود.
 - در غیر اینصورت با انجام آزمایشات تکمیلی تصمیم گیری شود.

ماده ۹- ثبت اطلاعات

ثبت اطلاعات مربوط به برنامه مراقبت و نمونه برداری از مزارع در سامانه GIS آبیان و تکمیل پرسشنامه ضروری است. در چگونگی ثبت موارد رخداد بیماریهای هدف در سامانه GIS آبیان، پس از بررسیهای کارشناسی اعم از بررسی علائم بالینی و کالبدگشایی، ضمن نمونه برداری برای ارسال به آزمایشگاه، رخداد بیماری تحت عنوان "در دست بررسی" در سامانه GIS ثبت اولیه می گردد. در خصوص تأیید قطعی، نحوه قضاوت و تصمیم گیری در این دستورالعمل (برنامه ملی مراقبت) توضیح داده شده است.

ماده ۱۰- تعریف موارد بیماری

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

- بیماری توسط ویروس سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی که متعلق به جنس نوی رابدوویروس و خانواده رابدوویریده می باشد، ایجاد می شود و به نوعی بیماری اول صنعت پرورش ماهی قزل آلا در دنیا می باشد.
- بیماری در تمام سنین (اوزان مختلف) دیده می شود ولی اوزان ۳ - ۰/۳ گرم حساس تر هستند.

تشخیص بالینی:

- بیماری اغلب با شروع ناگهانی تلفات، بی حالی، شنای غیرطبیعی، ملانوز، آگزوفتالمی، کم خونی، خونریزی در قاعده باله ها، آبشش، پوست، چشم و اتساع شکم ناشی از ادم در حفره شکمی رخ می دهد.

تغییرات رفتاری:

- فرم عصبی بیماری با رفتار شنای غیرطبیعی کاملاً مشهود به صورت شنای مارپیچی و فلشینگ پیوسته مشاهده می شود. این حالت به دلیل تمایل ویروس به استقرار در سیستم عصبی می باشد. برخلاف سپتی سمی های 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 ارگان های داخلی می باشد. در فرم حاد بیماری، کلیه قرمز تیره میشود اما در ماهیان در حال مرگ نکروز شدید مشاهده می شود. 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 WOAH حضور ویروس عامل بیماری VHS در صورت مواجهه با یکی از موارد ذیل محتمل است:
- وجود علائم کالبدگشایی مربوط به بیماری همراه یا بدون علائم بالینی
- مشاهده ضایعات سلولی در کشت ویروس قبل از تأیید
- زمانیکه 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 :
- 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
- تشخیص ویروس در بافت به روش ایمونواسی با استفاده از آنتی بادیهای اختصاصی ضد ویروس VHS
- تشخیص ویروس در بافت به روش مولکولی RT-PCR و متعاقب آن سکانس ژنی و یا به روش real time PCR

۱۰.۲- بیماری نکروز عفونی مراکز خونساز (IHN):

بیماری ویروسی است که اکثر گونه های خانواده آزادماهیان آب شیرین و دریا را درگیر می کند اما بیشتر در قزل آلا 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.

۱. تعریف مورد مشکوک به بیماری IHN:

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

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

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

۱/۳. مطابق با دستورالعمل WOAH مورد مشکوک به بیماری IHN با مشاهده حداقل یکی از موارد ذیل تعریف می شود:

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

۲. تعریف مورد قطعی به بیماری IHN:

تشخیص قطعی بیماری در مواردی است که یک مورد مشکوک به یکی از روشهای ذیل تأیید گردد:

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

۲/۱. در کشت سلول دارای CPE بوده و به دنبال آن به روش مولکولی و یا سرمی تأیید شود.

۲/۲. دریافت نتیجه مثبت دوم از یکی از روشهای بر پایه آنتی بادی، سکانس ژنی و یا PCR

۱۰.۳- بیماری نکروز عفونی لوزالمعده (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 آکوابیرناویروس می باشد. بیرناویروسها انتشار جهانی داشته و طیف وسیعی از ماهیان را مبتلا می کنند.

- علائم بالینی: اولین علامت وقوع بیماری در لارو آزادماهیان، مشاهده یک افزایش ناگهانی در تلفات روزانه بویژه در ماهیان با رشد سریع تر است. شنای چرخشی یا مارپیچی، 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 از غذا 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 معده

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

برنامه ملی مراقبت هدفمند بیماریهای ویروسی (VHS، IHN، IPN) در ماهیان قزل آلا شماره ... (ویرایش هفتم): ۱۴۰۴

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

در این طرح استانها پس از انجام نمونه برداری و آماده سازی آن، نمونه را به آزمایشگاه استان مربوطه طبق جدول زیر ارسال کنند:

آزمایشگاههای منطقه ای در تشخیص بیماریها :

ردیف	آزمایشگاه منطقه ای	استانهای تحت پوشش
۱	آزمایشگاه استان آذربایجان شرقی	آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، اردبیل
۲	آزمایشگاه استان تهران	تهران، البرز، قم، زنجان
۳	آزمایشگاه قزوین	قزوین
۴	آزمایشگاه کردستان	کردستان
۵	آزمایشگاه مازندران	مازندران، گلستان
	آزمایشگاه گیلان	گیلان
۶	آزمایشگاه کرمانشاه	کرمانشاه، همدان، ایلام، لرستان
۷	آزمایشگاه چهارمحال و بختیاری	چهارمحال و بختیاری، اصفهان، خوزستان
۸	آزمایشگاه خراسان رضوی	خراسان رضوی، خراسان شمالی، خراسان جنوبی، سمنان
۹	آزمایشگاه فارس	فارس، کهگیلویه و بویراحمد
۱۰	مرکز ملی تشخیص سازمان	مرکزی، کرمان، سیستان و بلوچستان