وزارت جهاد کشاورزی

سازمان دامپزشکی کشور

بیماری ویروسی

Infection with decapod iridescent virus 1

(DIV1)

تهیه و تنظیم : دکتر رضا محمودعلوی

فروردین ۱۴۰۰

معاونت بهداشتی و پیشگیری

دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های آبزیان

"کارت اطلاعات بیماری"

Infection with decapod iridescent virus 1

(DIV1)

۱.عامل بیماری:

یک بیماری ویروسی در میگو است با ژنوم *dsDNA* (دو رشته ای)، بدون پوشش، به طول ۱۶۰ nm – ۱۴۰ و وزن ۳۰۳ Kbp – ۱۴۰، جنس *Decapodiridovirus* و خانواده *Iridoviridae* که در سال ۲۰۱۴ در برخی از استانهای ساحلی چین گزارش شد و از آن زمان به بعد، علیرغم نگرانی شدید در صنعت پرورش میگو مبنی بر گسترش آن در سراسر کشور، چندان مورد توجه عمومی قرار نگرفت. تا اینکه در سال ۲۰۱۷ برای اولین بار در میگو *P.vanameii* در کشور چین ردیابی گردید. این بیماری با نامهای مترادف در سال ۲۰۱۶ تحت عنوان *CQIV (Cherax quadricarinatus iridovirus)* و در سال ۲۰۱۷ تحت عنوان *SHIV (Shrimp haemocyte iridescent virus)* نامگذاری شد.

۱.۱. نوع پاتوژن:

ویروس

۱.۲. نام عامل بیماریزا: Infection with decapod iridescent virus 1(DIV1)

۱.۳. اسامی مترادف: Shrimp heamocyte iridescent virus (SHIV)

Infection with cherax quadricarinatus iridovirus (CQIV)

White head disease or white spot disease (of Macrobrachium rosenbergii)

۱.۴.طبقه بندی:

DIV1 توسط کمیته بین المللی طبقه بندی ویروسها International Committee on Taxonomy of Viruses(ICTV) به عنوان تنها عضو از جنس در خانواده Iridoviridae اختصاص داده شد.

۱.۵ منبع و مأخذ:

برای اولین بار DIV1 توسط Xu et al,2016 بعنوان CQIV و توسط Qiu et al,2017 بعنوان SHIV توصیف شد.

۱.۶. محیط زندگی پاتوژن:

آب شیرین– آب لب شور و آب دریا

(fresh, brackish, marine waters)

۲.روشهای انتقال بیماری:

۲.۱. (افقی ، عمودی، غیر مستقیم)

در آزمایشات بر روی *P. vannamei and E. carinicauda* و برخورد با عامل پاتوژن، انتقال بیماری بصورت افقی ثابت شده است و مهمترین روش انتقال بیماری محسوب می شود (*Qiu et al., 2017; Chen et al., 2019*). از آنجایی که ثابت شده بیماری *DIV1* از طریق بلعیدن بافت آلوده بصورت افقی منتقل میشود، غربالگری و ردیابی *DIV1* در مولدین میگو بسیار مهم است زیرا مزرعه داران را مجاب می نماید فقط از خوراک پلی کت با کیفیت بالا و عاری از ویروس برای میگو استفاده نمایند تا از انتقال عمودی بیماری به بچه میگو ها جلوگیری شود. به لحاظ اینکه ویروس همچنین توسط *PCR* در نمونه های منجمد کریل و پلی کت از چین شناسایی شده است، بیماری از طریق سخت پوستان و محصولات منجمد نیز میتواند انتقال یابد. اگر چه در نمونه هایی از هچریها موارد مثبت بیماری پیدا شده است، ولی هنوز هیچ شواهد عمده ای دال بر انتقال عمودی وجود ندارد (*Qiu et al., 2018c; Qiu et al., 2019b*). همچنین با توجه به اینکه خصوصیات بیوفیزیکال ویروس هنوز بخوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است، تعیین اهمیت انتقال غیر مستقیم توسط تجهیزات ناقل بیماری دشوار هست.

۲.۲. مخازن ویروس:

جمعیت آلوده از سخت پوستان، چه پرورشی و چه وحشی تنها مخزن ایجاد عفونت هستند ولی منبع اصلی عفونت *DIV1* هنوز مشخص نیست.

۲.۳. فاکتورهای خطر: (دما، شوری و ....)

بطور عمده ویروس در دمای پایین فعال میشود و دمای بالاتر از ۳۰ درجه ویروس را از بین می برد. با اجرای مراقبت هدفمند در چین در طی سالهای ۲۰۱۸– ۲۰۱۶، ویروس در میگو و خرچنگ در دمای ۳۲ – ۱۶ درجه سانتی گراد ردیابی شد ولی در دمای بالای ۳۲ درجه سانتی گراد ردیابی نشد (*Qiu et al., 2018c; Qiu et al 2019b*). در ماه های تابستان و پاییز که دما بالاتر بود، شیوع آن کاهش یافت.

۳. دامنه میزبانی:

۳.۱.گونه های مستعد:

بطور رایج گونه های حساس به بیماری *DIV1* که در حال حاضر شناخته شده اند عبارتند از:

P.vannamei

P.monodon

P.chinensis

M.nipponense

Giant freshwater prawn(M.rosenbergii)

Exopalaemon carinicauda (Oriental prawn)

Procambarus clarkii (Louisiana swap crayfish)

Cherax quadricarinatus(Red claw crayfish)

(Xu et al., 2016; Qiu et al., 2017; Qiu et al., 2019a; Chen et al., 2019).

تنها دو گونه خرچنگ به نامهای *Eriocheir sinensis* و *Pachygrapsus crassipe* نشان داده شده اند که از طریق تجربی و آزمایشگاهی به ویروس *DIV1* آلوده شده اند *(Pan et al., 2017)* ولی نمی توانند به عنوان گونه های حساس شناخته شوند.

۳.۲. سن حساس:

علائم بیماری و مرگ و میر در *P. vannamei* آلوده، از بچه میگو (پست لارو) تا میگو نابالغ در آزمایشات تجربی مشاهده شد *(Qiu et al., 2017)*. با مراقبت هدفمند در چین از ۲۰۱۸ – ۲۰۱۷ ویروس را در میگوها و خرچنگ های دریایی با هر اندازه ای از طول بدن ردیابی شد. بیشترین میزان تشخیص در میگوها با طول بدن ۴ سانتی متر تا ۷ سانتی متر بود *(Qiu et al., 2018c; Qiu et al., 2019b)*. گزارش های دیگر، سطوح مختلف مرگ و میر را بر اساس مرحله زندگی بررسی نکرده اند.

۴. انتشار جغرافیایی:

این بیماری به عنوان یک بیماری نوپدید در دنیا شناخته شده است. آلودگی به بیماری *DIV1* در میگو از سال ۲۰۱۴ در برخی از استانهای ساحلی چین گزارش شد *(Qiu et al., 2017)*. با مراقبت هدفمند در چین طی سالهای ۲۰۱۸ – ۲۰۱۷، ویروس در ۱۶– ۱۱ استان چین در میگو *P.vanameii* و *Crayfish* ردیابی و تأیید شد *(Qiu et al., 2018c; Qiu et al., 2019b)*. این بیماری همچنین در *June 2020* در مزارع میگو و *Crayfish* در کشور تایوان از طریق سیستم *OIE WAHIS* گزارش شد. بیماری در کشور تایلند با شیوع بسیار کم همچنین گزارش شده است ولی هنوز بطور رسمی تأیید نشده است *(Ramsden & Smith, 2018)*. در نمونه های *P. monodon* صید شده وحشی از اقیانوس هند آزمایش مثبت *DIV1* را نشان داده اند *(Srisala et al., 2020)*.

۵. علائم کلینیکی:

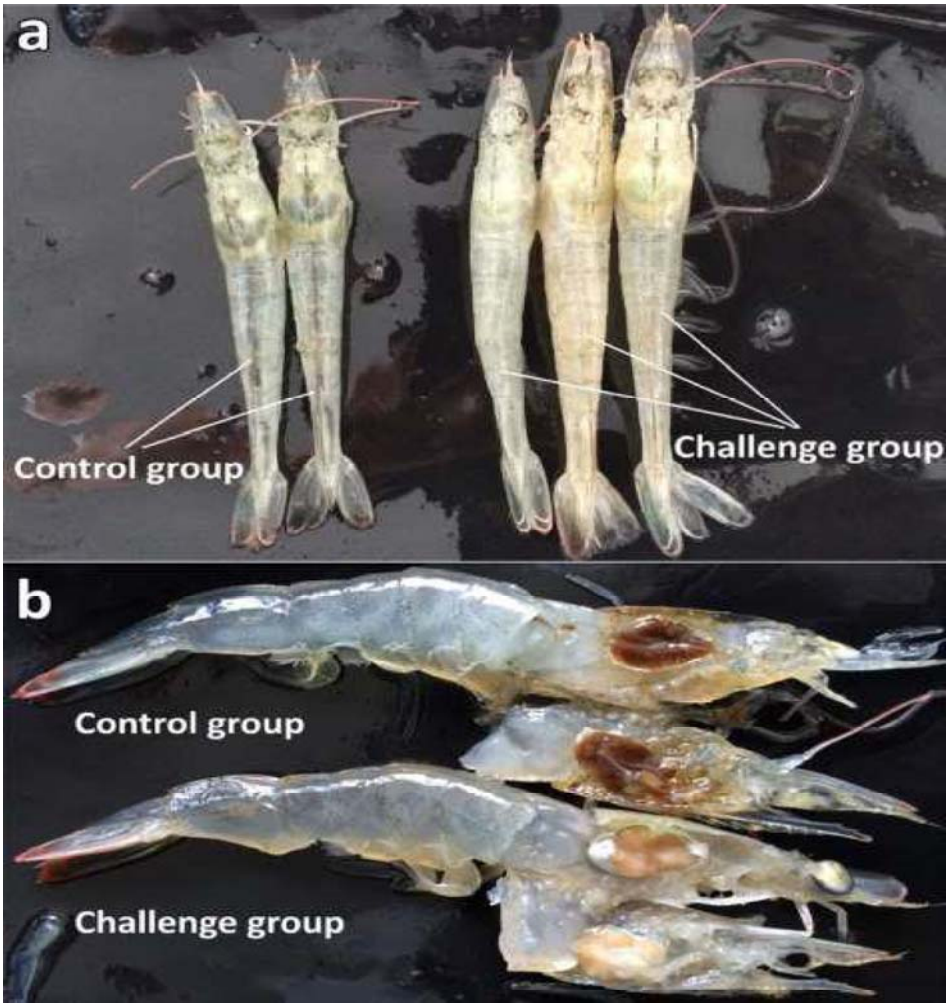
۵.۱. بافتها و اندامهای آلوده میزبان:

بافت های خونساز ، آبششها، هپاتوپانکراس، سلولهای خونی و اندام های لنفاوی می باشند *(Qiu et al., 2017)*. عفونت سطح پایین نیز ممکن است در *E. carinicauda* وجود داشته باشد *(Chen et al., 2019; Qiu et al., 2019a)*. از رشته های آبشش می توان به صورت غیر کشنده نمونه برداری کرد، در حالی که نمونه برداری از هپاتوپانکراس فقط می تواند بصورت کشنده باشد. شواهد نشان می دهد که بافت های مختلف ، از جمله همولنف ، تاژک آنتن، روستروم، آبشش، هپاتوپانکراس، پلپودها، عضله و یوروپودها می توانند حاوی غلظت بالای *DIV1* باشند. (Qiu et al., 2018a; Qiu et al., 2019a).

۵.۲. مشاهدات کلینیکی و ضایعات ماکروسکوپی:

از اولین علائم بیماری بدن میگو اندکی مایل به قرمزی شده، آتروفی هپاتوپانکراس به همراه رنگ پریدگی، معده و روده خالی، میگوهای مبتلا در حال غرق شدن در کف استخر، قطع تغذیه، بی حالی، پوسته نرم، مرگ و میر ناگهانی در بچه میگوها و میگوهای جوان و یا نابالغ. علاوه بر این برخی از میگوهای در حال مرگ کمی سفید رنگ نشان داده میشوند و در میگوی *M. rosenbergii* می توان یک منطقه مثلثی سفید رنگ در زیر کاراپاس در قاعده روستروم مشاهده کرد(*Qiu et al., 2017; Chen et al., 2019;*).

با توجه به اینکه بر اساس تحقیقات آزمایشگاهی دوره کمون بیماری تا ۸ روز می باشد، تشخیص زود هنگام بیماری از طریق آزمایشات PCR میتواند کمک بزرگی به مزرعه داران برای کنترل بیماری در مزرعه نماید.



Source: Qiu et al. 2017

Figure 1

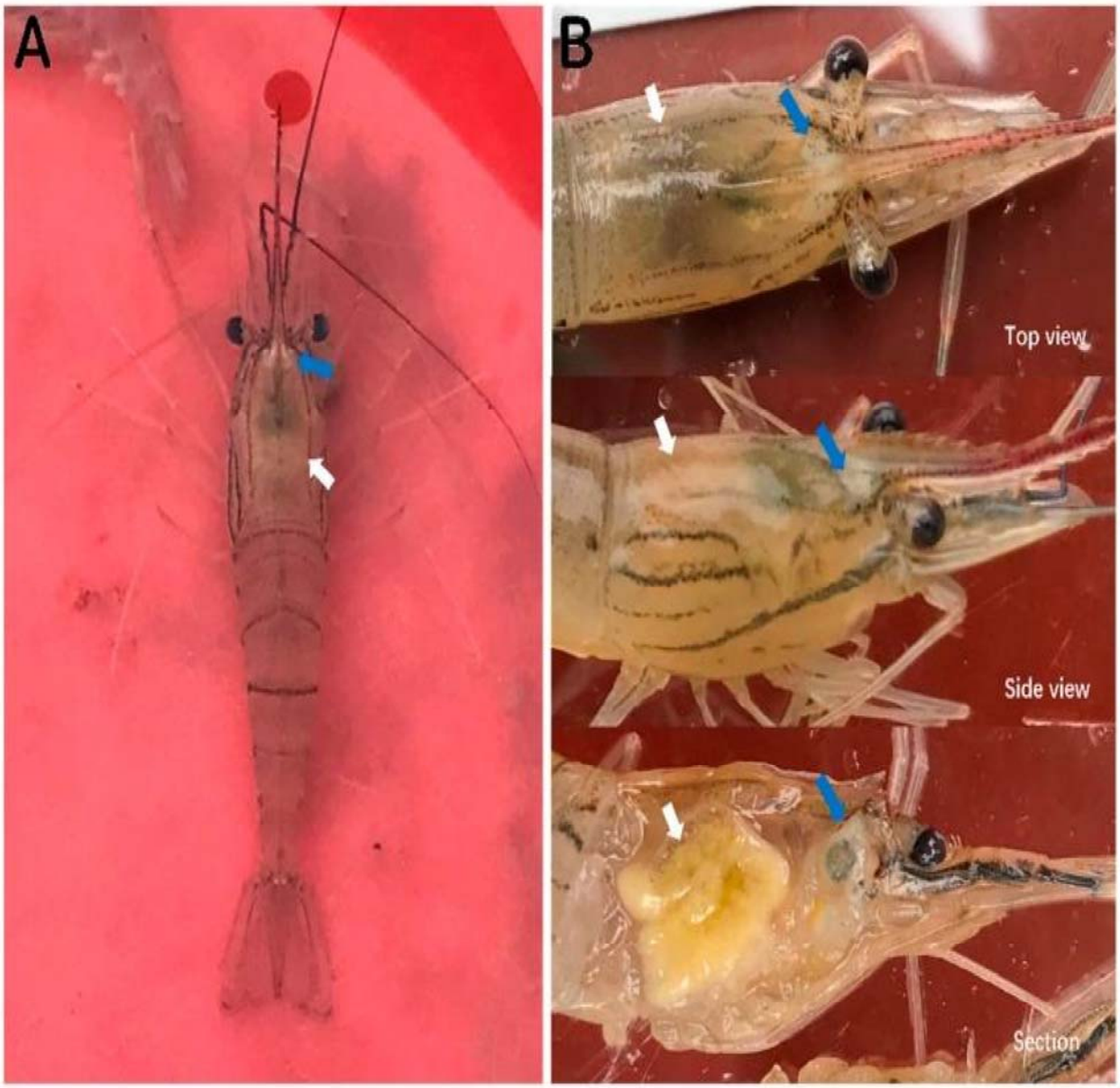


Figure 2

Clinical symptoms of *M. rosenbergii* (20180620) naturally infected with DIV1. (**A**) Overall appearance of a diseased prawn in water. (**B**) Close-up of cephalothoraxes. Blue arrows show white area under the cuticle at the base of rostrum. White arrows indicate hepatopancreas atrophy, color fading, and yellowing.

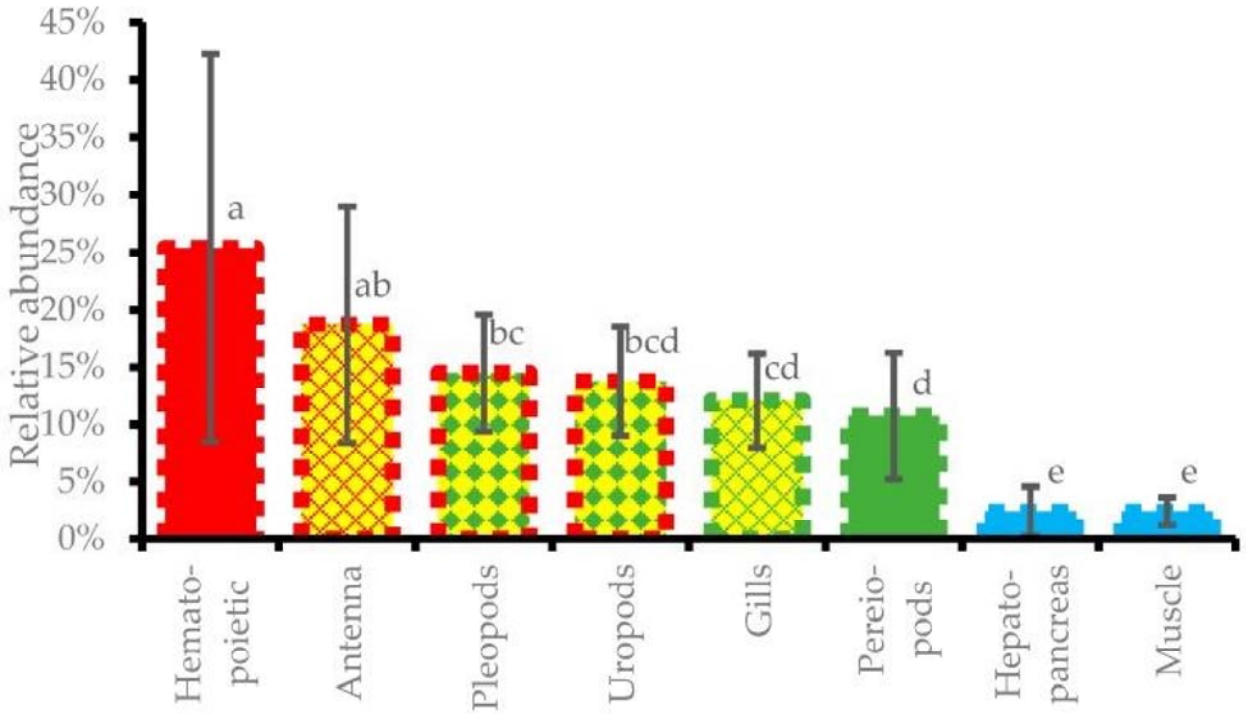


Figure 3

Relative abundance of DIV1 for different tissues of fifteen DIV1-infected *M. rosenbergii* samples. Columns without sharing of a same letter indicate significant difference of $p < 0.05$; columns without a same color indicate a highly significant difference of $p < 0.01$.

۵.۳. ضایعات میکروسکوپی و ناهنجاری های بافتی:

در آزمایش هیستوپاتولوژیک، اجزاء (گنجیدگی های) ائوزینوفیلیک تیره که با رنگ آمیزی بازوفیل ترکیب یا احاطه شده و کاریوپینکوز در بافتهای خون ساز، اپیتلیوم، اندامهای لنفاوی، سلولهای خونی آبشش، پریوپودها و سینوس های هپاتوپانکراس مشخص شده است *(Qiu et al., 2017; Qiu et al., 2019a; Chen et al., 2019)*.

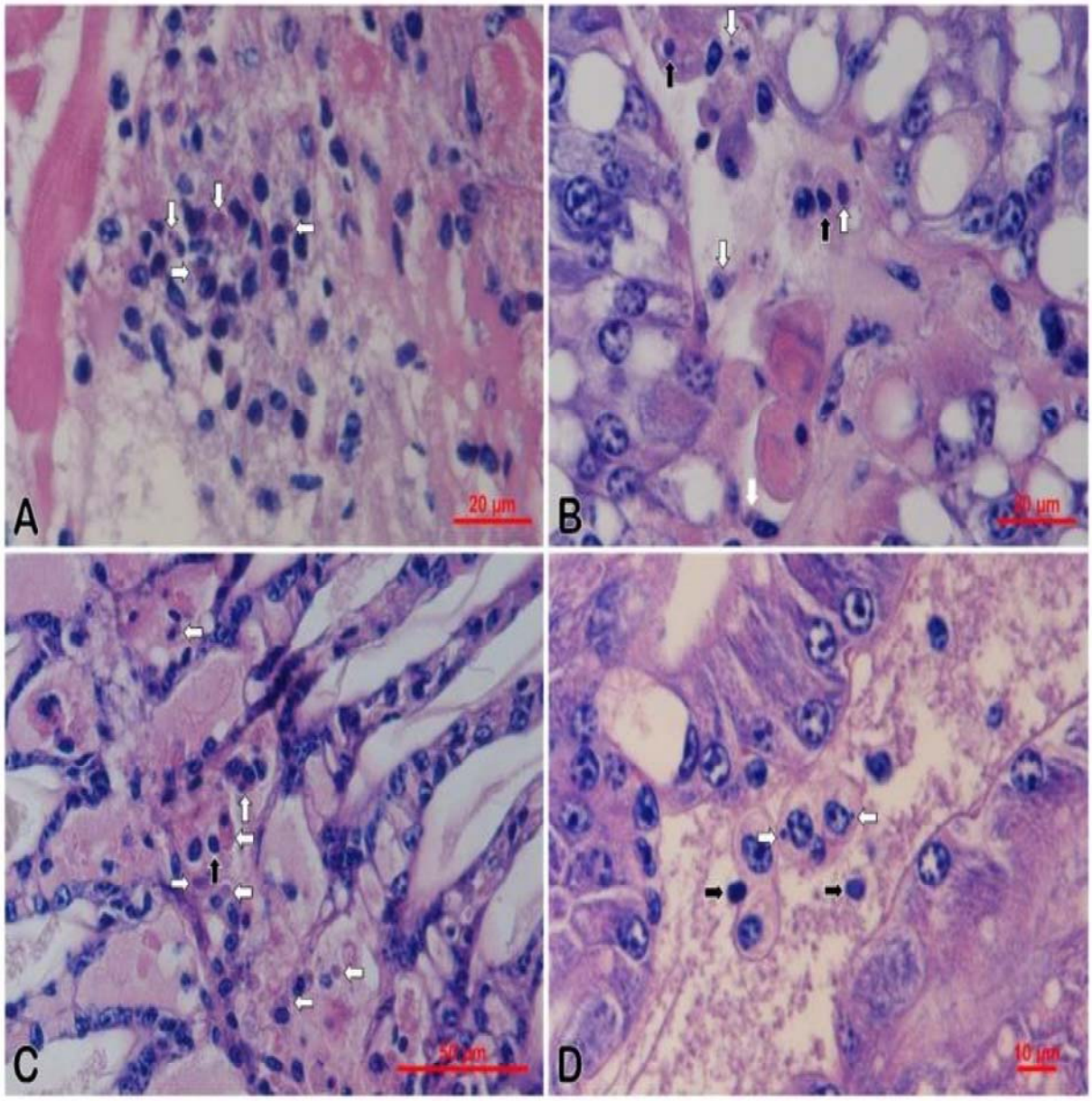


Figure 4

Histopathological features of Davidson's alcohol-formalin-acetic acid fixative (DAFA) fixed *M. rosenbergii* (**A**–**C**) and *M. nipponense* (**D**) samples 20180620. White arrows show the eosinophilic inclusions and black arrows show the karyopyknotic nuclei. (**A**) Hematoxylin and eosin (H&E) staining of the hematopoietic tissue. (**B**,**D**) H&E staining of hepatopancreas. (**C**) H&E staining of gills. Bar, 20 µm (**A**,**B**), 50 µm (**C**), and 10 µm (**D**), respectively.

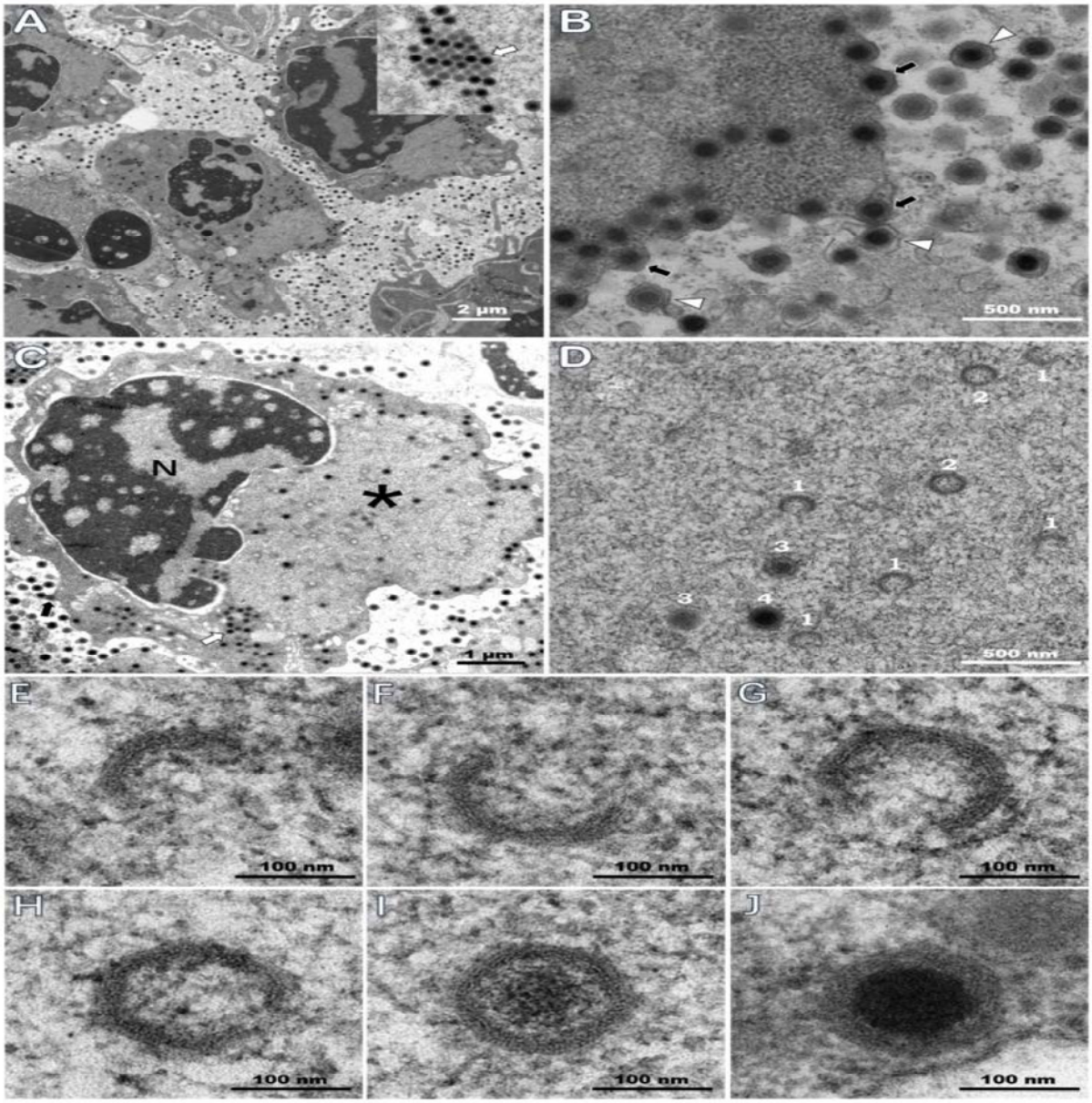


Figure 5

TEM of hematopoietic tissue of naturally infected *M. rosenbergii* samples 20180620. (**A**) A large numbers of virions in hematopoietic tissue. (**B**) DIV1 budded and acquired an envelope from the plasma membrane. (**C**) DIV1 replication and assembly in hematopoietic cells. (**D**) The stages of nucleocapsid assembly, which are indicated with numbers 1–3, and a complete nucleocapsid is indicated with number 4. The capsids at stage 2 and 3 should have a small opening at one vertex but may not be visible in the picture due to the ultrathin section. (**E**) Crescent-shaped structures. (**F–I**) As the assembling process continues, the crescent-shaped structure curves to form icosahedral capsids. (**J**) A mature virion with a dense core was eventually formed. N: nucleus; *: a large electron-lucent virogenic stroma; white arrows: paracrystalline array of viral particles; black arrows: budding virions; and white triangles: budded virions that acquired an envelope.

۵.۴. وضعیت لیست بیماری های OIE:

بیماری *DIV1* برای اضافه شدن به بیماری های لیست شده *OIE - 2016* پیشنهاد شده است ولی فعلا در دسته *Non OIE – Listed* قرار دارد. این بیماری با تعریف *OIE* از "بیماری نوظهور" مطابقت دارد و به همین ترتیب، اعضا باید آن را مطابق با ماده ۱.۱.۴ قانون آبزیان گزارش دهند. عفونت با *DIV1* در برنامه گزارش سه ماهه بیماری های آبزیان *NACA / OIE* از *2016 July* ذکر شده است.

۶. اهمیت اجتماعی و اقتصادی:

پرورش آبزیان(سخت پوستان) از نظر اقتصادی به ویژه برای برخی از کشورهای در حال توسعه در سراسر جهان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. تولید جهانی آبزی پروری سخت پوستان ۷.۹ میلیون تن با ارزش فعلی ۵۷.۱ میلیارد دلار برآورد شده است *(FAO, 2018)*.

نشان داده شده است که *DIV1* باعث مرگ و میر قابل توجهی (تا ۱۰۰٪) در *P.vanameii* می شود *(Qiu et al., 2018c; Qiu et al*, 2019b) و فقط دو یا سه روز از زمان تشخیص اولین عفونت طول می کشد تا همه میگوهای یک استخر از بین بروند. این بیماری منجر به خسارات اقتصادی جدی به پرورش آبزیان می شود *(Qiu et al.، 2018)*.

در سالنامه آماری شیلات چین در سال ۲۰۱۹ چین گفته شده است که این بیماری موجب کاهش تولید سالانه میگوی پا سفید غربی (*P.vanameii*) در کشور شده است، به عنوان مثال تولید میگو از ۱.۵ میلیون تن در سال ۲۰۱۳، به ۱.۲ میلیون تن در سال ۲۰۱۸ رسیده است.

۷. اهمیت قابل انتقال بودن بیماری به انسان:

این بیماری زئونوز و قابل انتقال به انسان نمی باشد.

۸. روشهای تشخیص بیماری:

- *In situ hybridization (ISH) (Qiu et al., 2017)*
- *PCR (Xu et al., 2016)*
- *Nested-PCR (Qiu et al., 2017)*
- *Two TaqMan probe based real-time PCR tests (Qiu et al., 2018a; Qiu et al., 2020)*
- *In situ DIG-labelling-loop-mediated DNA Amplification (ISDL) (Chen et al., 2019)*
- *روشهای Real time PCR و Nested PCR (دو مرحله ای)، تأیید شده و حساسیت بیشتری در تشخیص بیماری دارند (Qiu et al., 2017; Qiu et al., 2018a.)*

۸.۱ توصیف مورد مشکوک به بیماری:

وجود تلفات همراه با علائم مشخص و هیستو پاتولوژیک سازگار با عفونت بیماری*DIV1*

۸.۲ روشهای آزمون تأییدی:

در صورت تحقق دو یا چند معیار زیر، عفونت با *DIV1* تأیید میگردد:

- علائم بالینی مشخص همراه با علائم هیستو پاتولوژی سازگار با عفونت *DIV1*
- نتیجه مثبت تست *ISH* یا *ISDL* در بافتهای هدف
- *PCR* و بدنبال آن سکانس ژنی (توالی ژنی)
- *Nested PCR* و بدنبال آن سکانس ژنی (توالی ژنی)
- *Tag man probe* مبتنی بر *Real time PCR* با نتایج مثبت برای عفونت *DIV1*

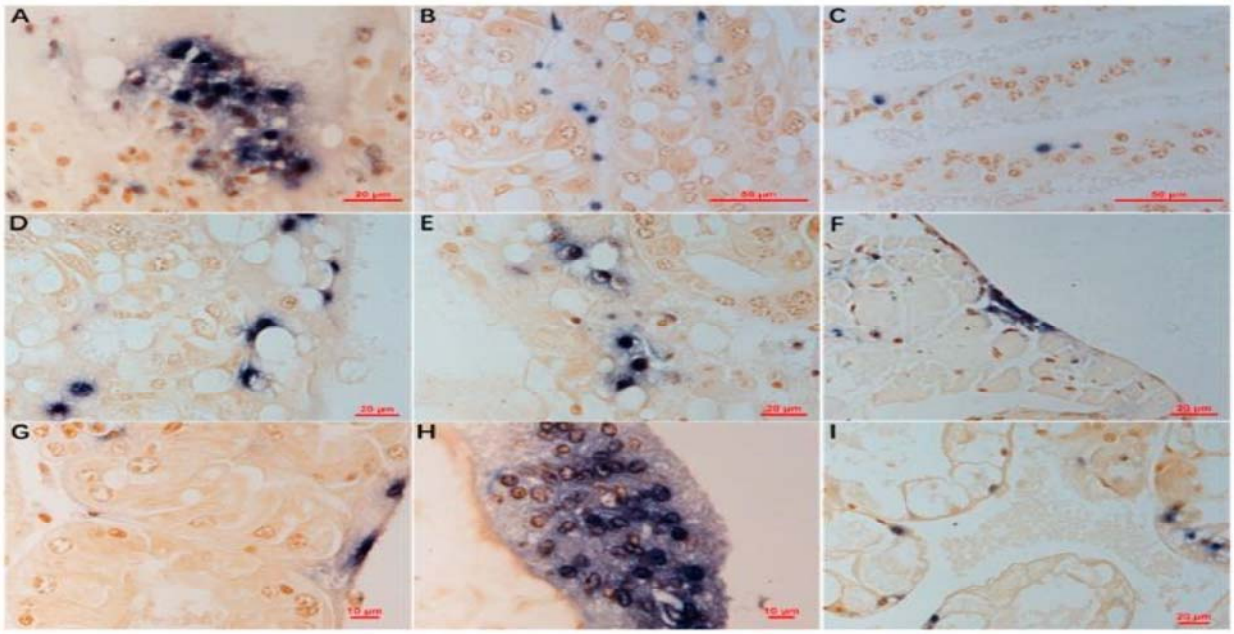


Figure 6

In situ digoxigenin-labeled loop-mediated isothermal amplification (ISDL) targeting the gene of the second largest subunit of DNA-directed RNA polymerase II of DIV1 on histological sections of *M. rosenbergii* (**A–F**), *M. nipponense* (**G**), and *Pr. clarkii* (**H**,**I**) samples 20180620. (**A**,**H**) Hematopoietic tissue; (**B**,**D**,**G**,**I**) hepatopancreas; (**C)** gills; (**E**) antennal gland; (**F**) ovaries. In (**A–C**,**H**), blue signals were observed in hematopoietic tissue, hemocytes in the sinus of the hepatopancreas, and in gills. In (**D**,**G**,**I**), blue signals exist in some hepatopancreatic R-cells and myoepithelial fibers. In (**E**), blue signals exist in the coelomosac epithelium. In (**F**), blue signals exist in the epithelium. Bar, 20 µm (**A**,**D–F**,**I**), 50 µm (**B**,**C**), and 10 µm (**G**,**H**), respectively.

۹. روشهای کنترل و پیشگیری بیماری:

- بیوسکیوریتی و امنیت زیستی پیشرفته، استراتژی اصلی برای کنترل عفونت با *DIV1* است.
- از جمله برنامه های نظارتی برای مزارع، شامل مراقبت مراقبت فعال و غیر فعال در هچریها و مزارع پرورش میگو، قرنطینه و آزمایش از نظر بیماری *DIV1* در مولدین و بچه میگوها است.
- اقدامات ایمنی زیستی عمومی برای به حداقل رساندن گسترش انتقال بیماری از طریق کنترل تردد افراد، وسایل نقلیه یا کارکنان و انتقال تجهیزات، (به عنوان مثال تمیز کردن و ضد عفونی کردن) نیز باید اجرا شود *(Qiu et al., 2018c)*.
- محدودیت در نقل و انتقال سخت پوستان زنده و حذف موجودات مرده یا در حال مرگ از مزارع آلوده، شیوع بیماری را محدود می کند.
- از پرورش سخت پوستان بصورت پلی کالچر(توأم) باید خودداری شود.
- از ده پایان مخصوصاً کرمهای پلی کت خام، زنده یا منجمد نباید در خوراک مولدین استفاده شود و تمامی خوراک هچری مخصوصاً کرمهای پلی کت زنده (در صورت استفاده) باید تست شده و عاری از بیماری *DIV1* باشند *(Qiu et al., 2018c; Qiu et al)*.
- تمامی مولدین وارداتی باید از از منابع معتبر و تأیید شده و عاری از بیماری تهیه شده باشند.
- تمامی مزارع باید قبل از ذخیره سازی آماده سازی بهداشتی شده و ضد عفونی آب ورودی صورت پذیرد.
- تشخیص به موقع *DIV1* در یک استخر میگو با استفاده از روشهای تشخیصی *PCR*، استفاده به موقع از استراتژی های کنترل، مانند افزایش هوادهی، کاهش غذا دهی و افزایش اقدامات ایمنی زیستی در استخرهای آلوده، مدیریت ویژه برای استخرهای آلوده به منظور به حداقل رساندن گسترش بیماری، قرنطینه و ایجاد موانع فیزیکی به منظور جلوگیری از انتقال بیماری به مزارع سالم، کنترل ترددها، و اولویت به برداشت استخرهای آلوده نسبت به استخرهای سالم در مزرعه اختصاص داده شود.
- اگر بیماری*DIV1* در استخرهای پرورشی تشخیص داده شود، خطر گسترش بیماری را میتوان با پایدار نگه داشتن شرایط محیطی (پارامترهای فیزیکو شیمیایی آب) تا حد ممکن کنترل نمود.

۱۰. سایر اطلاعات مفید:

- پانزدهمین نشست گروه مشاوره منطقه ای آسیا در مورد بهداشت حیوانات آبزیان، شبکه مراکز پرورش آبزیان در آسیا و اقیانوسیه (NACA)، باعث افزایش آگاهی در مورد ویروس *DIV1* و افزودن ویروس درخرچنگ *(Crayfish)* در دسته *Non OIE - listed* در گزارش سه ماهه بیماری های حیوانات آبزی *(QAAD)* از جولای ۲۰۱۶ شد.
- چین از سال ۲۰۱۷ مراقبت هدفمند سالانه را برای آلودگی به *DIV1* انجام داده است. گزارش مختصری از مراقبت سالانه در گزارش سالانه بهداشت حیوانات آبزی در چین ارائه شد که توسط اداره شیلات و وزارت کشاورزی و امور روستایی و مرکز ملی گسترش فناوری شیلات ویرایش و در نهایت توسط مطبوعات کشاورزی چین طی سالهای ۲۰۱۸ و ۲۰۱۹ در پکن منتشر شد.
- جزئیات تجزیه و تحلیل سالانه داده های مراقبت هدفمند در کتاب های سالانه تجزیه و تحلیل بیماری های مهم حیوانات آبزی در چین در سال ۲۰۱۷ و ۲۰۱۸ منتشر شده است *(Qiu et al., 2018c, 2019b)*.
- برخی از بیماری های نو ظهور حیوانات آبزی، از جمله عفونت با *DIV1* با بالاترین اقدامات ایمنی زیستی در چین از سپتامبر ۲۰۱۸ تحت کنترل قرار گرفته اند.

۱۱.منابع:

1.OIE Regional Virtual Meeting on DIV1, 20 August 2020

2.Diagnostic Technology and surveillance for DIV1 ,Jie Huang, Director General of NACA,2020

3. First report and description of Decapod Iridescent Virus-1 in giant freshwater prawns, BY Dr. Liang Qiu Dr. Xing Chen Dr. Ruo-Heng Zhao Dr. Chen Li Dr. Wen Gao Dr. Qing-Li Zhang and Dr. Jie Huang, Monday, 3 February 2020

4.Decapod Iridescent virus 1 (DIV1), Its current status & control measure in chinese Taipei.

5.Prevention and control DIV1 in china,Chenxa Cai, August ,2020

6.Surveillance and control of DIV1 in Thailand ,Department of fisheries,Thailand,20 Agust 2020

7.Infection with decapod iridescent virus1 (DIV1)- OIE

8. Description of a Natural Infection with Decapod Iridescent Virus 1 in Farmed Giant Freshwater Prawn, Macrobrachium rosenbergii,US national Library of Medicine National Institues of Health,Liang Qiu, Xing Chen, Ruo-Heng Zhao, Chen Li, Wen Gao, Qing-Li Zhang, and Jie Huang,2019,April

9. Infection with Decapod iridescent virus 1 (DIV1), Technical Disease Card, Updated May 2020