



وزارت جهاد کشاورزی

سازمان دامپزشکی کشور

برنامه ملی مراقبت بیماری

ویروسی KHV در کشور

معاونت بهداشتی و پیشگیری

دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان

دی ماه 1400

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 تلفات بالایی در جمعیت ماهی ها شوند و خسارات اقتصادی فراوان و گاهاً غیر قابل جبرانی به بار آورند، لذا از اهمیت بالایی برخوردار بوده و پیشگیری از بروز و وقوع آنها در زمره اولویت های برنامه های بهداشتی سازمان دامپزشکی کشور می باشد.

در این برنامه، مراقبت بیماری ویروسی Koi Herpes Virus (KHV) 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 KHV در گونه های گرمابی پرورشی (کپور معمولی)، کوی زیتتی 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.

1. تعاریف:

1.1 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 باشند.

1.2 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.

1.3 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.

1.4 مراقبت غیرفعال (Passive) : جمع آوری منفعل داده ها شامل گزارش موارد بالینی یا تحت بالینی مشکوک و گزارشات آزمایشگاهی توسط متخصصین، کلینیسین ها، پرورش دهندگان و سایر افراد به صلاحدید خودشان به مسئولین بهداشت و سلامت است.

1.5. مراقبت بر پایه علایم بالینی (Clinical Base): در این مدل، مراقبت بر اساس علایم بالینی مشکوک به بیماری (Risk Base) و تلفات پایه ریزی می گردد و نمونه برداری فقط از موارد مشکوک رصد شده انجام می شود.

2. اهداف برنامه

1. پیشگیری از بروز و کنترل وقوع بیماری اخطارکردنی KHV

2. شناسایی مراکز تکثیر و مزارع پرورش آلوده KHV

3. عملیات اجرایی:

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

در مراقبت فعال، مراکز تکثیر ماهیان گرمابی، مراکز تکثیر ماهیان کوی و قرمز و مزارع پرورش ماهیان گرمابی تحت مراقبت قرار می گیرند. در مراقبت غیرفعال، گزارش وقوع بیماری یا مشاهده علائم منتسب به آن در جمعیت ماهیان پرورشی و وحشی کشور مورد بررسی قرار می گیرد.

3.1. مراقبت فعال

با توجه به ردیابی ویروس عامل بیماری مورد اشاره در برنامه پایش و مراقبت سال 1400 مقرر گردید در سال آتی برنامه مراقبت KHV از مدل "Clinical Base" به مدل مراقبت هدفمند به همراه نمونه برداری (طبق جدول) تبدیل گردد، این برنامه بر اساس بازرسی، معاینه، مشاهده علائم بالینی، ارزیابی بهداشتی و نمونه برداری هدفمند در مراکز انجام می شود و نمونه ها طبق برنامه ریزی استانی به آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص و یا آزمایشگاههای معین استانی (گیلان و خوزستان) ارسال می گردد.

الف- نمونه برداری و محدوده ی عملیات

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

جدول شماره (1): لیست استان ها و تعداد مراکز تکثیر و پرورش فعال ماهیان گرمابی کشور

ردیف	نام استان	تکثیر	تکثیر و پرورش	پرورش
1	خوزستان	1	4	401
2	گیلان	0	5	667
3	مازندران	1	0	1055
4	آذربایجان غربی	0	1	10
5	گلستان	4	0	145
6	سیستان و بلوچستان	1	0	163
7	خراسان رضوی	0	1	88
8	کرمان جنوب	0	1	25
9	فارس	0	0	10
10	آذر بایجان شرقی	0	0	31
11	اصفهان	0	0	23
12	البرز	0	0	2
13	ایلام	0	0	9
14	تهران	0	0	3
15	چهار محال و بختیاری	0	0	2
16	خراسان جنوبی	0	0	50
17	خراسان شمالی	0	0	1
18	زنجان	0	0	3

11	0	0	سمنان	19
3	0	0	قزوین	20
3	0	0	قم	21
6	0	0	کردستان	22
22	0	0	کرمان	23
2	0	0	کرمانشاه	24
15	0	0	لرستان	25
1	0	0	مرکزی	26
1	0	0	هرمزگان	27
5	0	0	همدان	28
2	0	0	یزد	29
29	0	0	اردبیل	30
2788	12	7	تعداد 30 استان	جمع کل

(منبع: سامانه الکترونیک پایش و مراقبت بیماری های آبزیان GIS سال 1400)

جدول شماره (2): لیست استان ها و تعداد مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی کشور

ردیف	استان	پرورش ماهیان زینتی	تکثیر و پرورش ماهیان زینتی	تکثیر ماهیان زینتی
1	آذربایجان شرقی	3	6	2
2	آذربایجان غربی	1	5	0
3	اردبیل	0	1	0
4	اصفهان	9	216	0
5	البرز	1	29	4
6	ایلام	0	0	0
7	بوشهر	0	0	0
8	تهران	11	56	1
9	چهارمحال و بختیاری	0	0	0
10	خراسان شمالی	1	3	0
11	خراسان رضوی	24	6	9
12	خراسان جنوبی	2	0	0
13	خوزستان	1	1	0
14	زنجان	0	1	3
15	سمنان	1	0	0
16	سیستان و بلوچستان	0	0	0
17	فارس	2	3	0
18	قزوین	8	12	2
19	قم	1	1	0
20	کردستان	0	0	3
21	کرمان	0	1	0
22	کرمان جنوب	0	0	0
23	کرمانشاه	0	0	0
24	کهگیلویه و بویراحمد	0	0	1
25	گلستان	0	2	0
26	گیلان	0	44	0
27	لرستان	3	1	0
28	مازندران	5	17	2
29	مرکزی	2	6	0
30	هرمزگان	2	0	1
31	همدان	6	1	0
32	یزد	0	0	4

(منبع: سامانه الکترونیک پایش و مراقبت بیماری های آبزیان GIS سال 1400)

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 از سامانه پایش بیماریهای آبزیان قابل استخراج نیست.

ب: تعداد نمونه و زمان بازدید و نمونه برداری در مراقبت فعال مراکز تکثیر

در مراقبت فعال، تمامی مراکز تکثیر ماهی گرمابی و ماهی کوی دو بار در سال بازدید و مورد ارزیابی خطر (با توجه به جدول شماره 2 برنامه زمانی بازدید، ارزیابی خطر و نمونه برداری هدفمند)، ارزیابی بهداشتی و تکمیل پرسشنامه وضعیت بهداشتی (پیوست شماره 2) قرار گرفته و با احتمال شیوع 2% یکبار نمونه برداری (بر اساس جدول OIE Aquatic -Free Calc - animal health code 2021-chapter 1.4) با تعداد 150 عدد نمونه (هر 5 نمونه pool شده و بصورت یک نمونه آزمایشگاهی در می آید) انجام می شود.

در خصوص کپور پرورشی، تعداد 7 مرکز تکثیر فعال که در خوزستان (1 مرکز)، مازندران (1 مرکز)، گلستان (4 مرکز)، سیستان و بلوچستان (1 مرکز) و تعداد 12 مرکز تکثیر و پرورش فعال که در خوزستان (4 مرکز)، گیلان (5 مرکز)، آذربایجان غربی (1 مرکز)، خراسان رضوی (1 مرکز)، کرمان جنوب (1 مرکز) می باشند، بصورت دو بار بازدید و یک بار نمونه برداری در سال و در محدوده زمانی مناسب دمایی هر استان (یک بار فقط از لارو و بچه ماهیان 1-3 گرمی) تعیین می گردد.

در خصوص مراکز تکثیر ماهی کوی، هدف کلیه مراکز تکثیر عمده ای است که توزیع ماهی کوی به سایر استانهای کشور انجام می دهند. (قبل از نمونه برداری هماهنگی با دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان صورت پذیرد).

در خصوص مراکز تکثیر ماهی قرمز، هدف 10 درصد مراکز تکثیر عمده ماهی قرمز در دو استان گیلان و مازندران است. اولویت انتخاب این مراکز، بر اساس احتمال ارتباط با مراکز پرورش ماهی کوی و کپور و علاوه بر آن توزیع عمده بچه ماهی به خارج از استان می باشد. در خصوص بقیه مراکز، مراقبت تشدید بالینی و بازدید صورت می گیرد. (قبل از نمونه برداری هماهنگی با دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان صورت پذیرد).

نکته مهم: در صورت مثبت بودن نتایج آزمایشگاهی اولیه از نمونه های اخذ شده در مراکز تکثیر، مرکز مذکور بلافاصله قرنطینه شده و اقدام به نمونه برداری بافتی از مولدین و انجام آزمایشات تکمیلی می گردد.

زمان بازدید: بازدید اول در زمانی که دمای آب به بالای 17 درجه سانتی گراد رسیده باشد و سه هفته از آن گذشته باشد و بازدید دوم با فاصله زمانی حداقل 3 ماه از بازدید اول و زمانی که لارو و بچه ماهیان، به وزن یک تا سه گرم رسیده باشند، انجام می شود.

در **مزارع پرورش ماهی گرمابی** بر اساس اولویت بندی و ارزیابی خطر توسط استان مربوطه یک بار در سال بازدید (مطابق با جدول شماره 1) به همراه یک بار نمونه برداری (تعداد 10 عدد نمونه مشکوک و یا مرضی اخذ شده و هر 5 عدد پول شده و 2 نمونه آزمایشگاهی تهیه می شود) و ارسال به آزمایشگاه انجام می شود.

نکته: اگر نمونه ماهی با علائم تبییک بیماری مشاهده شود، باید بصورت مستقل اخذ و به آزمایشگاه ارسال می گردد.

استانهای ذیل اشاره که در مجموع 2431 مزرعه پرورشی از تعداد 2788 کل را دارا می باشند بصورت زیر عمل خواهند نمود:

1-خوزستان (401 مزرعه پرورشی فعال)

2-گیلان (667 مزرعه پرورشی فعال)

3-مازندران (1055 مزرعه پرورشی فعال)

4-گلستان(145 مزرعه پرورشی فعال)

5-سیستان و بلوچستان (163 مزرعه پرورشی فعال)

نکته مهم:

انتخاب و تعیین این 5٪ مزارع بصورت هدفمند بر اساس اولویت بندی موارد زیر انجام می گردد:

1- آب بندانها و مزارعی که سابقه بروز و رخداد بیماری داشته و شرایط بهداشتی مورد نیاز برای آماده سازی اولیه را نیز مهیا نکرده باشند.

2- مراکزی که اقدام به عملیات حد واسط (تحویل لارو از مرکز تکثیر، نگهداری، پرورش و توزیع بچه ماهی به سایر مزارع پرورش ماهیان گرمابی) می کنند.

3- مزارعی که در مجتمع های پرورشی واقع شده اند.

4- مزارعی که ارتباط آبی با سایر منابع آبی داشته باشند.

5- مزارعی که دارای تراکم بالا و ریسک بالای انتقال عوامل بیماریزا باشند.

نکته: انتخاب مزارع بر اساس شرایط فوق و با صلاحدید کارشناسی هر استان صورت می گیرد.

در سایر استان ها، برنامه مراقبت بصورت بالینی و پایش تشدیدی و تکمیل چک لیست های لازم انجام خواهد شد. در صورت مشاهده علائم و تلفات مشکوک به بیماری، نمونه برداری مرضی (اخذ 10 عدد نمونه و تهیه 2 نمونه آزمایشگاهی) انجام شده و به آزمایشگاه ارسال می گردد.

جدول شماره (3): برنامه زمانی بازدید و ارزیابی بهداشتی مراقبت فعال

ردیف	نوع مرکز	تعداد دفعات بازدید (سالیانه)	زمان نمونه برداری
1	• مرکز تکثیر ماهیان گرمابی (کپور پرورشی و دریایی)	دو	یکبار نمونه برداری بر اساس شیوع 2% و ترجیحاً دمای آب 17 درجه به بالا باشد و 3 هفته از رسیدن به این دما گذشته باشد.
	• مرکز تکثیر ماهیان کوی	دو	
	• 10% مراکز تکثیر ماهی قرمز (استان های گیلان و مازندران)	یک	
2	• مزارع پرورش ماهی گرمابی	یک	یکبار نمونه برداری از 5% مزارع در 5 استان مشخص شده و ترجیحاً دمای آب 17 درجه به بالا باشد و 3 هفته از رسیدن به این دما گذشته باشد

عملیات اجرایی در طول دوره پرورش بر اساس جدول شماره 4 صورت پذیرد.

جدول شماره (4): عملیات اجرایی، بازدید، نمونه برداری و محدوده عملیات

تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده
5 استان مشخص شده / نمونه برداری شده	تعدادمزارع پرورشی استان بازدید شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش بازدید شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش بازدید شده	تعداد مراکز تکثیر و پرورش بازدید شده
%5	%100	%100	%100	%100	%100	100%

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

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

2- اندام های هدف برای نمونه برداری کلیه، طحال، مغز و آبشش می باشد. اندام های هر 10 قطعه ماهی در مراکز تکثیر و حد واسط و تعداد 10 نمونه ماهی بصورت نمونه های مرضی در مزارع پرورشی که بصورت 2 تایی پول شده باشند، می توانند با یکدیگر در اتانول 70% فیکس و با حفظ زنجیره سرد ارسال شوند.

3.2. مراقبت غیرفعال:

مراقبت غیرفعال، در طول سال برقرار بوده و بر اساس گزارش دهی اشخاص حقیقی مانند مسئولین فنی بهداشتی، دامپزشکان بخش خصوصی، پرورش دهندگان، ... و یا حقوقی مانند: اتحادیه ها، شیلات، به صورت گزارش غیرفعال (Passive Report) می باشد. به منظور ارتقاء سیستم گزارش دهی و به منظور ساماندهی گزارش گیری بیماری اخطارکردنی KHV در دوره زمانی پرخطر وقوع بیماری (دما و فصل مربوطه)، هر 15 روز یکبار بایستی مسئولین فنی بهداشتی مطابق فرم ارزیابی علایم تبییک بالینی 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.

3.2.2. 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) 10 قطعه ماهی بیمار در شرایط استریل نمونه برداری جهت آزمایشات مولکولی ارسال می شود. نمونه ها در اتانول 70٪ فیکس شده و به آزمایشگاه ارسال می شوند. همچنین از تعداد 10 قطعه ماهی جهت انجام آزمایشات پاتولوژی نمونه برداری و در ماده فیکساتیو (فرمالین 10٪) به مرکز ملی تشخیص ارسال گردد.

4. تشخیص

روش تشخیص، بر اساس انجام آزمایشهای ملکولی PCR و با کیت تشخیصی (مورد تأیید سازمان) بوده که در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایشات نمونه های اولیه، انجام آزمایشات تکمیلی و تأییدی (آزمایشهای ملکولی PCR) توسط مرکز ملی تشخیص صورت خواهد گرفت. در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایش بچه ماهیان، نمونه برداری مجدد از مولدین بصورت اخذ نمونه بافتی مولدین انجام می شود.

تشخیص به روش پاتولوژی با روشهای استاندارد موجود انجام خواهد شد.

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

5. اقدامات بعد از تشخیص بیماری:

5.1. در صورت تأیید اولیه رخداد بیماری و یا ردیابی عامل بیماریزا در مراکز تکثیر، بایستی مطابق برنامه اضطراری کنترل KHV یا Contingency Plan اقدامات ذیل به اجرا در آید:

1. برقراری قرنطینه موقت و جلوگیری از توزیع و پخش بچه ماهی های آلوده
2. انجام آزمایشات تأییدی در محل مرکز ملی تشخیص
3. حذف/ معدوم سازی بچه ماهی های آلوده برابر دستورالعمل های سازمان
4. پاکسازی و ضدعفونی کردن کامل استخرها و وسایل موجود در مرکز برابر دستورالعمل های سازمان
5. قرنطینه کامل مولدین مرکز و نمونه برداری جهت انجام آزمایشات تأییدی و تکمیلی
6. حذف مولدین در صورت نتیجه مثبت آزمایشات برابر دستورالعمل های سازمان
7. کنترل و پایش سایر مراکز مرتبط با مرکز آلوده و در صورت لزوم نمونه برداری و انجام آزمایش
8. ذخیره سازی مجدد مزارع و مراکز تکثیر آلوده پس از سپری شدن دوره آیش و آماده سازی بهداشتی، صرفاً با مجوز دامپزشکی امکان پذیر است.

5.2. در صورت تأیید وقوع بیماری در مزارع پرورشی، بایستی مطابق برنامه اجرایی کنترل بهداشتی بیماری KHV ابلاغی سازمان و دستورالعمل آماده سازی بهداشتی مزارع پرورش ماهیان گرمابی، اقدامات لازم به اجرا در آید.

6. تعریف مورد مشکوک (Suspect Case) به بیماری KHV:

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

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

1. مشاهده علائم بالینی مشخص بیماری در جمعیت ماهیان گونه های حساس
2. مشاهده علائم هیستوپاتولوژی مشخص در مقاطع بافتی
3. مشاهده ضایعات سیتوپاتیک CPE مشخص در محیط کشت حساس بدون تشخیص عامل مسبب

4. یک نتیجه مثبت از یکی از روشهای تشخیصی، که به عنوان a یا b در جدول شماره 4 اشاره شده است.

5. 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.

6. ارتباط مزارع پاک با سایر مزارعی که بیماری KHV در آن وجود دارد. (مانند انتقال ماهی از یک زون آلوده به یک منطقه پاک و عاری از بیماری)

7. تشخیص و تعیین آنتی بادی اختصاصی بیماری KHV

نکته: در موارد 5 و 6 چنانچه دمای آب به سطحی برسد که برای رخداد بیماری مناسب باشد (بیشتر از 17 درجه)، آزمایش KHV انجام می شود. اگر دمای آب پایین تر باشد، نمونه های زنده بایستی در دمای بالاتر از 20 تا 24 درجه نگهداری شوند و 14 الی 21 روز بعد آزمایش شوند.

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 ذیل، (شماره 5) به وجود بیماری مشکوک می شویم.

جدول شماره (5) : روش های تشخیصی بیماری KHV مطابق با دستورالعمل OIE

تشخیص قطعی	تشخیص اولیه	مراقبت هدفمند		روش
		بالغ	بچه ماهی	
d	b	d	d	علایم بالینی
c	b	d	d	هیستوپاتولوژی
d	d	d	d	میکروسکوپ الکترونی
d	d	d	d	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	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

PCR : (Conveintional PCR)

Q- PCR:Real time PCR

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

PCR : (Conveintional PCR)

Q- PCR:Real time PCR

با توجه به این که روش تشخیصی مورد استفاده در برنامه، روش PCR و یا Q-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 PCR و یا Q-PCR همراه با مشاهده علائم بالینی به عنوان موارد قطعی در نظر گرفته می شود.

معیارهای ذیل بایستی جهت تأیید مورد قطعی بیماری لحاظ شوند:

1: مرگ و میر، علایم بالینی و تغییرات پاتولوژی مرتبط با بیماری KHV و شناسایی ویروس با یکی از روش های ذیل:

1.1. شناسایی ویروس با روش PCR و یا (ریل تایم) Q-PCR

1.2. شناسایی ویروس در آماده سازی بافت با روش های آنتی بادی اختصاصی بر علیه ویروس (به عنوان مثال IFA)

2. در زمان عدم وجود علایم بالینی و تلفات با یک یا هر یک از روشهای ذیل:

2.1. شناسایی و تأیید بیماری با روش PCR (مطابق با روش ارایه شده در OIE)

2.2. حصول نتیجه مثبت از دو روش مختلف تشخیصی سطوح a و b در جدول شماره 5

پیوست شماره ۱:

بیماری هرپس ویروس ماهیان کوی (KHV) Koi Herpes Virus

عامل بیماری از خانواده آلوهرپس ویریده می باشد. مهمترین راه ورود ویروس به بدن کپور از طریق پوست نواحی باله ها و بدن می باشد.

عامل بیماری یک DNA ویروس از گروه ۱ (dsDNA) Group I ، خانواده آلوهرپس ویریده، جنس هرپس ویروس تیپ ۳ می باشد

گونه های حساس به بیماری:

common carp (Cyprinus carpio) – ornamental koi

کپور معمولی – ماهی زینتی کوئی

این بیماری به صورت طبیعی تنها از کپور معمولی و وارپته های آن مانند ماهی کوی گزارش شده است.

مطالعات نشان میدهد که ویروس در آب ۲۳-۲۵ درجه به مدت ۴ الی ۲۱ ساعت زنده می ماند و در برخی مطالعات مشاهده شده که ویروس در آب استریل شده به وسیله اتوکلاو تا بیش از ۷ روز بیماریزایی خود را حفظ کرده است. بیماری KHV به صورت طبیعی تنها از کپور معمولی و وارپته های آن مانند ماهی کوی گزارش شده است. کلیه گروه های سنی ماهی به بیماری حساس می باشند ولی در شرایط تجربی ماهیان ۲/۵ الی ۶ گرم حساس تر از ماهیان ۲۳۰ گرم بوده اند. روش معمول انتقال بیماری به صورت افقی می باشد ولی نیابستی احتمال انتقال عمودی بیماری را نادیده گرفت.

راه های انتقال بیماری:

روش معمول انتقال بیماری به صورت افقی می باشد ولی نبایستی احتمال انتقال عمودی بیماری را نادیده گرفت (oie,manual 2018) مهمترین راه ورود ویروس به بدن کپور از طریق پوست نواحی باله ها و بدن می باشد.

طول دوره و روند بروز بیماری در دمای مطلوب ۲۳-۲۵ درجه سریع بوده ولی در دمای زیر ۲۳ درجه کندتر می شود. بیماری ممکن است سه روز پس از معرفی ماهی های جدید به استخرهای واجد ماهی آلوده خود را نشان دهد. ولی در برخی از مطالعات این مدت ۸ الی ۲۱ روز عنوان شده است. واگیری در جمعیت مبتلا تا ۱۰۰ درصد و تلفات به ۷۰ الی ۸۰ درصد می رسد. درجه حرارت آب، حدت ویروس، سن ماهی و شرایط آن، میزان تراکم ماهی در استخر و عوامل استرس زا (از قبیل حمل و نقل، تکثیر، کیفیت پایین آب) می توانند در الگو و بروز بیماری نقش داشته باشند. بیماری وابسته به درجه حرارت بوده و بین ۱۶ تا ۲۵ درجه سانتیگراد رخ می دهد. ولی ماهیان زنده مانده از بیماری در دماهای پایین ممکن است به عنوان مخزن ویروس در آیند.

پراکنش و گسترش بیماری در جهان:

بر اساس آخرین گزارشات OIE ۲۰۱۷ در آمریکا، هلند، آلمان، ژاپن و فلسطین اشغالی بیماری بصورت کشوری گزارش شده است همچنین در کشورهای انگلستان، آفریقای جنوبی، رومانی، مالزی، لیتوانی، کره جنوبی، چک، کرواسی، چین تایپه، بلژیک و کانادا بصورت محدود در بعضی از مناطق کشور بیماری گزارش شده است. در لهستان و چین ردیابی ویروس انجام شده است.

ماهی های بیمار علائم بی حالی نشان می دهند و جدا از گله در ورودی یا کناره های استخر تجمع یافته و در سطح آب تنفس می کنند. ماهی ها ممکن است دچار عدم تعادل و اختلال در حرکت شوند.

مهمترین علائم بالینی شامل موارد زیر می باشند: زخم های بزرگ جلدی، کاهش ترشح موکوس، چشم گود افتاده (Sunken eyes)، خونریزی در باله ها، رنگ پریدگی یا قرمز شدن پوست، سخت شدن (سمباده

ای شدن) پوست، جراحات به صورت نواحی نکروزه کم‌رنگ (Pale patches) تا تغییر رنگ وسیع، نکروز شدید همراه با التهاب آبششی، چسبندگی در محوطه بطنی، بزرگ‌شدگی در کلیه و کبد همراه با خونریزی‌های پتشی بر روی آنها، مشاهده گنجیدگی‌های داخل سلولی در ضایعات هیستوپاتولوژیکی

تغییرات رفتاری:

ماهی‌های بیمار علائم بی‌حالی نشان می‌دهند و جدا از گله در ورودی یا کناره‌های استخر تجمع یافته و در سطح آب تنفس می‌کنند. بعضی ماهی‌ها ممکن است دچار عدم تعادل و اختلال در حرکت شوند ولی ممکن است علائم فعالیت بیش از حد هم نشان دهند.

تشخیص بالینی:

مهمترین علائم بالینی، زخم‌های بزرگ جلدی، افزایش ترشح موکوس و خونریزی در باله‌ها می‌باشند. در معاینه از راه نزدیک ماهیان مبتلا، علائم بارز بیماری نظیر رنگ‌پریدگی یا قرمز شدن پوست که ممکن است با سخت شدن (سمباده‌ای شدن) پوست همراه باشد، کنده شدن موضعی یا کامل اپیدرم، افزایش یا کاهش تولید موکوس در نواحی سمباده‌ای شده روی پوست و آبشش و رنگ‌پریدگی آبشش‌ها مشاهده می‌شود. سایر علائم شامل فرورفتگی چشم‌ها و خونریزی روی پوست و قاعده باله‌ها و زخم‌های روی پوست می‌باشد.

علائم کالبدگشایی:

جراحات کالبدگشایی اختصاصی برای بیماری وجود ندارد. مهم‌ترین علامت کالبدگشایی در آبشش‌ها دیده می‌شود. در آبشش‌ها جراحات به صورت نواحی نکروزه کم‌رنگ تا تغییر رنگ وسیع، نکروز شدید و التهاب آبشش‌ها قابل مشاهده است. علامت قابل مشاهده بعدی حضور نواحی کم‌رنگ و غیر منظم بر روی پوست به

همراه افزایش ترشح موکوس و نیز کاهش ترشح موکوس و خشکی قسمت هایی از پوست که دچار سختی و سمباده ای مانند شده اند می باشد. زخم های با ابعاد متغیر بر روی اندام های داخلی بدن دیده می شود که اغلب در موارد تلفات ناگهانی قابل مشاهده نیستند. چسبندگی در محوطه بطنی با یا بدون تغییر رنگ اندام های داخلی را می توان مشاهده کرد. کلیه یا کبد ممکن است بزرگ شده و خونریزی های پتشی بر روی آنها دیده شود.

اپیدمیولوژی بیماری:

عوامل مهمی همچون درجه حرارت آب، حدت ویروس، سن ماهی و شرایط آن، میزان تراکم ماهی در استخر و عوامل استرس زا (از قبیل حمل و نقل، تکثیر، کیفیت پایین آب) می توانند در الگو و بروز بیماری نقش داشته باشند. بیماری وابسته به درجه حرارت بوده و بین ۱۶ تا ۲۵ درجه سانتیگراد رخ می دهد. ولی ماهیان زنده مانده از بیماری در دماهای پایین ممکن است به عنوان مخزن ویروس در آیند

سن ابتلا:

کلیه گروه های سنی ماهی به بیماری حساس می باشند ولی در شرایط تجربی مقایسه ای، ماهیان با وزن پایین تر (۲ الی ۶ گرم) حساس تر از ماهیان با وزن بالاتر (۲۰۰ گرم) بوده اند

میزان واگیری و تلفات بیماری:

واگیری در جمعیت مبتلا تا ۱۰۰ درصد و تلفات به ۷۰ الی ۸۰ درصد می رسد. طول دوره و بروز تلفات بیماری در دمای ۲۳-۲۵ درجه سریع بوده ولی در دمای زیر ۲۳ درجه کندتر می شود

پیشگیری:

- رعایت دقیق ضوابط بهداشتی و اصول امنیت زیستی به منظور کاهش مخاطرات بهداشتی و زیست محیطی در هنگام رخداد بیماری
- مقاوم سازی استخرهای پرورشی در مقابل رخداد بیماریها

- استفاده از انواع بهبود دهنده های آب در مزارع ماهیان گرمابی
- کنترل تردد و نقل و انتقالات داخل استانی، بین استانی (استانهای مرزی) و کنترل دقیق ارتباط و تردد بین آبی پروران
- ضرورت استفاده از توری های مخصوص جهت جلوگیری از ورود تلفات احتمالی و ماهی های هرز به داخل رودخانه های استانهای مرزی
- اطلاع رسانی و آگاه سازی سازمان ها و نهاد های مرتبط با موضوع
- برقراری یک سیستم امنیت زیستی دقیق به همراه شستشو و ضدعفونی همه وسایل و محصولات و فرآورده های آبیان گرمابی

References

Thistleton, John (13 June 2016). "Millions of Lake Burley Griffin carp face swift death from cyprinid herpesvirus release". *The Canberra Times*. Fairfax Media. Archived from the original on 13 June 2016.

"What is Koi Herpesvirus? - Fishing Bait World Blog". *Fishing Bait World Blog*. Retrieved 2017-07-14.

Cerny, David W. (1 May 2016). "Australia to spend over \$11mn to eradicate carps by releasing herpes virus into rivers". Archived from the original on 2 June 2016.

Kilvert, Nick; Thomas, Kerrin (1 May 2016). "Herpes virus to be used in fight against carp in Murray River, Christopher Pyne says". *ABC News*. Australian Broadcasting Corporation. Archived from the original on 5 May 2016.

Bergmann SM, Schutze H, Fischer U, Fichtner D, Riechardt M, Meyer K, Schrudde D, Kempter J. (2009b). "Detection of koi herpes virus (KHV) genome in apparently healthy fish." *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. 29:145-152.

Costes B, Stalin Raj V, Michel B, Fournier G, Thirion M, Gillet L, Mast J, Lieffrig F, Bremont M, Vanderplasschen A. (2009). "The major portal of entry of koi herpesvirus in *Cyprinus carpio* is the skin." *J Virol* 83:2819-2830.

OIE 2018- Aquatic Animal Health manual-chapter 2.3.7 manual OIE 2018

DIAGNOSIS OF KOI HERPESVIRUS

(KHV) DISEASE, National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards Ministry of Agriculture and Cooperatives ICS 11.220 ISBN 978 – 974 -403 -826 - 5

پیوست شماره ۲:

پرسشنامه ارزیابی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی دفتر آبریان سازمان دامپزشکی کشور

وضعیت بهداشتی آب

- ۱- آیا عملیات درمان آب ورودی مرکز تکثیر گرمابی مطابق دستورالعمل های سازمان صورت می گیرد؟ بلی خیر
- ۲- آیا شستشو و تخلیه اولیه آب استخر صورت گرفته است؟ بلی خیر
- ۳- آیا استخر(های) ضد عفونی آب ورودی مرکز مطابق دستورالعمل های سازمان وجود دارد؟ بلی خیر
- ۴- آیا فیلتراسیون آب ورودی مطابق دستورالعمل های سازمان انجام شده است؟ بلی خیر
- ۵- آیا کانالهای جمع آوری آب خروجی سر پوشیده است؟ بلی خیر
- ۶- آیا وضعیت بهداشتی کانالها و سازه های ورودی و خروجی مطابق دستورالعمل های سازمان است؟ بلی خیر
- ۷- آیا آب ورودی به مرکز خصوصیات فیزیکی شیمیایی مطابق دستورالعمل های سازمان را دارا است؟ بلی خیر
- ۸- آیا سیستم خروجی آب داخل سالن مطابق دستورالعمل های ابلاغی سازمان است؟ بلی خیر
- ۹- آیا برنامه کنترل میکروبی آب ورودی و آب موجود در سالن تکثیر مطابق دستورالعمل های سازمان صورت می گیرد؟ بلی خیر
- ۱۰- آیا آب خروجی از مرکز ضد عفونی و تیمار می گردد؟ بلی خیر
- ۱۱- آیا سیستم آبرسانی قرنطینه از سایر قسمت ها کاملا مجزا می باشد؟ بلی خیر

سالن های مرکز - آزمایشگاه

- ۱۲- آیا سطوح کف و دیواره های سالن های تکثیر گرمابی قابل شستشو و ضد عفونی می باشد؟ بلی خیر
- ۱۳- آیا عملیات پاک سازی و ضد عفونی بین دوره ای مرکز/ مزرعه مطابق دستورالعمل های سازمان صورت گرفته است؟ بلی خیر
- ۱۴- کف سالنها بتونی و بدون خلل و فرج، دارای شیب مناسبی به سمت کف شوی است؟ بلی خیر
- ۱۵- آیا کف سالن و تاسیسات از سطح زمین محوطه بیرونی بالاتر است؟ بلی خیر
- ۱۶- آیا مرکز دارای محل جداگانه و مناسبی برای کشت جلبک می باشد؟ بلی خیر
- ۱۷- آیا مرکز دارای سالن قرنطینه می باشد؟ بلی خیر
- ۱۸- آیا مرکز دارای آزمایشگاه با امکانات لازم جهت آزمایشات اولیه میکروبی و آزمایشات آب می باشد؟ بلی خیر
- ۱۹- آیا مرکز دارای سالن جداگانه ای برای بسته بندی می باشد؟ بلی خیر
- ۲۰- آیا مرکز دارای سالن جداگانه با ظرفیت مجاز جهت نگهداری مولدین است؟ بلی خیر

استخر های مرکز

- ۲۱- آیا در آماده سازی مزرعه خشک کردن و شخم زدن ادواری کف استخر ها مطابق دستورالعمل های سازمان انجام شده است؟ بلی خیر
- ۲۲- آیا در آماده سازی مزرعه آهک پاشی کف استخر ها مطابق دستورالعمل های سازمان انجام شده است؟ بلی خیر
- ۲۳- آیا بستر استخر های مزرعه دارای خاک سیاه می باشد؟ بلی خیر

- ۲۴- محوطه مرکز/مزرعه از نظر بهداشتی در وضعیت مناسب می باشد؟
 بلی خیر
- ۲۵- آیا مزرعه / مرکز دارای حوضچه آرامش (رسوب گیر (می باشد؟
 بلی خیر
- ۲۶- آیا مزرعه (مدار بسته) دارای سیستم بیوفیلتراسیون می باشد ؟
 بلی خیر
- ۲۷- آیا مزرعه دارای استخر قرنطینه می باشد؟
 بلی خیر
- ۲۸- ترمیم دیواره ها و شیب بندی کف استخرها انجام شده است ؟
 بلی خیر
- ۲۹- آیا مرکز دارای حوضچه جمع آوری پساب خروجی می باشد؟
 بلی خیر

ضد عفونی و بهداشت عمومی

- ۳۰- آیا مزرعه /مرکز دارای حوضچه های ضد عفونی مناسب نفر و خودرو در مبادی ورودی می باشد؟
 بلی خیر
- ۳۱- آیا انبار غذا قابل شستشو و ضدعفونی است؟
 بلی خیر
- ۳۲- آیا چاه فاضلاب/سپتیک (حوضچه ضد عفونی پساب) در مسیر مناسب و سر پوشیده است؟
 بلی خیر
- ۳۳- آیا سالن اصلی مرکز تکثیر دارای حوضچه ضد عفونی ورودی است؟
 بلی خیر
- ۳۴- آیا مزرعه / مرکز دارای حصارکشی می باشد؟
 بلی خیر
- ۳۵- آیا مرکز / مزرعه دارای گواهینامه های رسمی مدیریت بهداشتی نظیر HACCP می باشد ؟
 بلی خیر

انبارها

- ۳۶- آیا مزرعه /مرکز دارای انبار غذا می باشد؟
 بلی خیر
- ۳۷- آیا انبار مرکز / مزرعه دارای پالت جهت نگهداری غذا می باشد؟
 بلی خیر
- ۳۸- آیا انبار غذا دارای سیستم تهویه(هواکش) می باشد؟
 بلی خیر
- ۳۹- آیا انبار دارو / مواد شیمیائی قابل شستشو و ضدعفونی است ؟
 بلی خیر
- ۴۰- آیا انبار نگهداری دارو و مواد شیمیایی به صورت قفسه بندی شده می باشد ؟
 بلی خیر

تجهیزات و تاسیسات

- ۴۱- آیا تانکها/ حوضچه ها و تراف های مرکز بدون خوردگی و دارای سطح صاف و قابل شستشو می باشند؟
 بلی خیر
- ۴۲- آیا جانمایی تاسیسات مرکز مطابق ضوابط فنی و بهداشتی سازمان دامپزشکی کشور می باشد؟
 بلی خیر
- ۴۳- آیا وسایل اختصاصی تانک ها / حوضچه ها /آکواریوم ها و تراف ها موجود در مرکز به نحو مناسب علامت گذاری (لیبل گذاری) شده و به طور اختصاصی مورد استفاده است ؟
 بلی خیر
- ۴۴- آیا مزرعه مجهز به تجهیزات لازم جهت فیلترینگ و رسوب گذاری آب چرخشی می باشد ؟
 بلی خیر
- ۴۵- آیا در بدنه حوضچه / تانکها /آکواریوم ها/ تراف ها از مواد و رنگ های فاقد اثرات مخرب بهداشتی و زیست محیطی استفاده شده است ؟
 بلی خیر

۴۶- آیا مرکز/ مزرعه دارای کوره لاشه سوز / چاه تلفات جهت عملیات دفن بهداشتی می باشد؟ بلی خیر

۴۷- آیا ساختمان اداری و خانه های کارگری در ابتدای مبادی ورودی احداث و یا از قسمت های پرورشی جداگانه می باشد؟ بلی خیر

۴۸- آیا رختکن و حمام در مبادی ورودی قرار دارد؟ بلی خیر

پروانه بهداشتی

۴۹- آیا مرکز دارای پروانه بهداشتی معتبر می باشد؟ بلی خیر

۵۰- آیا مرکز دارای مسوول فنی بهداشتی می باشد؟ بلی خیر

نظریه نهایی کارشناسی / امضا:

.....

پیوست شماره ۳:

پرسشنامه ارزیابی بالینی موارد مشکوک به بیماری توسط مسوول فنی بهداشتی:

- | | |
|---------|---|
| بلی خیر | ۱- آیا تیرگی بر روی پوست بدن ماهی قابل مشاهده می باشد؟ |
| بلی خیر | ۲- آیا ماهی دارای اگزوفتالمی یک طرفه و یا دوطرفه می باشد؟ |
| بلی خیر | ۳- آیا در کالبد گشایی آسیت مشاهده می گردد؟ |
| بلی خیر | ۴- آیا رنگ پریدگی در آبشش ها قابل رویت می باشد؟ |
| بلی خیر | ۵- آیا تورم و بیرون زدگی مخرج وجود دارد؟ |
| بلی خیر | ۶- آیا کست مدفوعی آویزان مشاهده می گردد؟ |
| بلی خیر | ۷- آیا خونریزی در پوست و بدن ماهی مشاهده می گردد؟ |
| بلی خیر | ۸- آیا زخم در بدن ماهی مشاهده می گردد؟ |
| بلی خیر | ۹- آیا فلس ریختگی در بدن ماهی مشاهده می گردد؟ |
| بلی خیر | ۱۰- آیا موکوس غیر طبیعی در پوست و آبشش ها مشاهده می گردد؟ |

نظریه کارشناسی / امضا:

.....

.....

..