



## بیماری ویروسی لکه سفید میگو

### White Spot Diseases(WSD)

دکتر رضا محمودعلوی

سازمان دامپزشکی کشور، دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان، رئیس گروه بهداشت و مدیریت بیماریهای میگو

تلفن تماس : ۰۹۱۲۳۲۷۰۴۶۸

### چکیده:

از دهه ۱۹۹۰ که صنعت ابزی پروری در بخش تکثیر و پرورش میگو به دوران شکوفایی خود رسید تا کنون بروز بیماریهای ویروسی با ایجاد خسارات هنگفت موجب به چالش کشیدن آن گردیده است. که هر ساله موجب دهها میلیون دلار خسارت به این صنعت میشود. در این راستا بیماری لکه سفید از مهمترین بیماریهای خسارت زا در این صنعت معرفی شده است. این بیماری جزء بیماریهای اخطار کردنی سازمان بهداشت جهانی دام (OIE) محسوب میشود و براساس گزارشات سازمان خوارو بار جهانی (FAO) سالانه بین ۳۰۰ تا ۴۰۰ هزار تن میگو در جهان بر اثر بیماری لکه سفید تلف میشود چرا که این بیماری ۶۰٪ تلفات ظرف مدت ۷-۲ روز ایجاد میکند و عامل آن از طریق سخت پوستان، حشرات، پرندگان، غذا، آب، میگوهای مبتلا، تجهیزات آلوده، باد، تردد کارکنان در سطح مزارع، فرآوری میگوهای آلوده قابل انتقال است و در صورت بروز بیماری بلا فاصله گسترش مییابد.

### عامل بیماری (Etiology):

عامل ایجاد کننده لکه سفید یکی از بزرگترین ویروس ها ی جدا شده از میگو میباشد. ویروس بیماری از خانواده *Nimaviridae* و جنس *Wisovirus* میباشد که به شکل میله ای شکل و دارای یک زائده دم مانند در انتهای خود میباشد. ویروس دارای یک پوشش سه لایه است و درون آن یک کپسول با یک DNA دو رشته ای (dsDNA) وجود دارد. اندازه ویروس با قطر ۸۰-۱۲۰ نانومتر و طول ۲۵۰-۳۸۰ نانومتر میباشد. ویروس میتواند در شرایط آزمایشگاه در دمای ۳۰

درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ روز زنده بماند و همچنین به مدت حداقل ۳-۴ روز در محیط آزاد (استخر) زنده بماند و اگر میزبانی پیدا نکند از بین میرود. شوری و درجه حرارت می‌توانند به میزان زیادی حدت ویروس را تحت تأثیر قرار دهند. ویروس به شدت به pH بالای ۱۲ و زیر ۳ حساس بوده و از بین میرود.

### **فاکتورهای محیطی (Environmental Factors):**

رخداد‌های بیماری لکه سفید میگو توسط استرس‌زایی‌ها مانند تغییرات شوری آب و دمای آب می‌تواند اتفاق بیفتد بدین نحو که دمای متوسط آب بین ۱۸-۳۰ درجه سانتی گراد می‌تواند استخر را به سمت رخداد بیماری لکه سفید میگو هدایت نماید در شرایط آزمایشگاهی هنگامی که دمای آب از ۳۲ درجه سانتی گراد بالاتر می‌رود تلفات میگو کاهش پیدا می‌کند ولی دمای آب بالاتر از ۳۰ و پایین‌تر از ۲۵ درجه سانتی گراد در شرایط استخر برای میگو زیانبار است و احتمال بروز بیماری را دارد.

### **پراکندگی جغرافیایی (Epidemiology):**

بیماری لکه سفید میگو در سال ۱۹۹۲ در کشور چین موجب خسارات فراوانی به پرورش دهندگان میگو شد. با بررسی ضایعات ایجاد شده در میگو مشخص شد که بیماری در بافت‌های هیپو درم و بافت‌های هماتوپوئیتیک (Hematopoietic) ایجاد بیماری می‌کند و عامل ایجاد کننده بیماری را ویروس تشخیص دادند. در قاره آسیا بیماری در اغلب کشورها از جمله چین، هند، مالزی، سنگاپور، تایلند، فیلیپین، سری لانکا و سایر کشورهای پرورش دهنده میگو گزارش شده است. این بیماری از طریق انتقال بچه میگو به قاره آمریکا سبب ایجاد خسارت به کشورهای آن منطقه شده بطوریکه در سال ۱۹۹۹ کلیه کشورهای آن منطقه این بیماری را گزارش نمودند.

بطور کلی میگوهای خانواده پنائیده حساسیت بالایی نسبت به عفونت ویروس لکه سفید میگو دارند که غالباً با تلفات بالایی هم همراه هست. همچنین خرچنگ گرد، خرچنگ دراز آب شیرین، میگوهای آب شیرین، لابسترها، نیز به این بیماری آلوده میشوند ولی واگیری و تلفات در هر کدام متغیر است.

شیوع بیماری لکه سفید میگو بسیار متغیر است بطوریکه کمتر از ۱٪ در جمعیت وحشی و تا ۱۰۰٪ در جمعیت‌های تحت کنترل اتفاق می‌افتد.

### **خسارات اقتصادی بیماری در جهان:**

کشور چین در سال ۱۹۹۱ و ۱۹۹۲: یک میلیارد ۴۰۰ میلیون دلار خسارت مستقیم به صنعت پرورش میگو

کشور تایلند در سال ۱۹۹۶: ۵۰۰ میلیون دلار خسارت مستقیم به صنعت پرورش میگو

کشور اکوادور در سال ۱۹۹۹: ۱۵۰ هزار نفر شغل خود را از دست دادند و در سال ۲۰۰۰، ۵۸۰ میلیون دلار خسارت دیدند.

در ایران این بیماری در تابستان ۱۳۸۱ در منطقه چوئیده آبادان در استان خوزستان گزارش شده که باعث تلفات فراوان در میگوهای پرورشی گردید و کلیه فعالیتهای پرورش میگو در این منطقه متوقف شد و خسارات سنگینی به پرورش دهندگان میگو وارد گردید. همچنین در سال ۱۳۸۴ بیماری در استان بوشهر نیز گزارش شد و موجب تلفات سنگین در این منطقه شد. از آن سال به بعد بیماری بصورت پراکنده در استانهای میگو پرور کشور از جمله سیستان و بلوچستان و هرمزگان نیز گزارش گردید.

این بیماری در هچریها از طریق انتقال لارو و یا مولدین آلوده، آب آلوده، غذای آلوده میتواند انتقال یابد و در مزارع پرورش میگو نیز از طریق منابع وحشی آلوده، آب آلوده، غذای آلوده، باد، پرندگان، تجهیزات آلوده و ..... میتواند انتقال یابد.

### یافته های کلینیکی (Clinical Finding):

این بیماری در کلیه میگوهای خانواده پنائیده از مرحله تخم تا مولد دیده میشود ولی بهترین مرحله از زندگی میگو برای ردیابی ویروس لکه سفید میگو مراحل آخر PL، جوانها و بالغین میباشد. احتمال ردیابی ویروس میتواند با عوامل استرس زا مانند تخمیزی، پوست اندازی، تغییرات شوری، دما یا pH و بلوم پلانکتونی افزایش یابد.

علائم بیماری عبارت است از:

۱- اولین شواهد شیوع بیماری اغلب با افزایش ناگهانی و شدید تعداد میگوهای در حال مرگ و مرده در لبه های استخر و تلفات تجمعی صد درصدی در محدوده زمانی ۱۰ - ۳ روز میباشد.

۲- مشاهده لکه های سفید رنگ به اندازه ۳-۵mm روی کاراپاس و همچنین قسمت داخلی کاراپاس میگو که بعد از چند روز این لکه ها در بندهای پنجم و ششم بدن نیز مشاهده شده و در انتها کل بدن را فرا میگیرد. البته تنها وجود لکه های سفید نمیتواند احتمال آلودگی به بیماری ویروسی لکه سفید را محرز نماید و این لکه هامیتوانند در اثر فاکتورهای استرس زای محیطی مانند آلكالینیتی آب و یا بیماریهای باکتریایی بوجود آمده باشند و لذا لازم است علائم دیگر نیز بررسی شود.

مشاهده میکروسکوپی لکه های سفید نشان میدهد که این لکه ها شامل یک حلقه سفید دارای هسته قهوه‌ای رنگ میباشد و توسط حفره های کوچک به هم متصل بوده و در پاره ای موارد حالت دانه های تسبیح به خود میگیرد. همچنین تعدادی نقاط ملانوز قهوه ای رنگ در مرکز این لکه ها مشاهده میشود.

۳- میگوهایی که بطور حاد آلوده هستند کاهش شدید در مصرف غذا را نشان میدهند و لاغر و ضعیف میشوند. و گونه های غیر پنائیده مانند خرچنگ، لابستر و ..... بطور معمول عفونتهای تحت کلینیکی را نشان میدهند.

۴- با توجه به بروز لکه های سفید در قسمت داخلی کاراپاس میگو و در ناحیه اپیدرم ، قسمت کوتیکول میگو به آسانی از لایه اپیدرم جدا میشود بطوریکه در مقایسه با میگوی سالم عمل جدا شدن کوتیکول بسیار راحت انجام میشود.

۵- هیاتو پانکراس میگوهای آلوده تغییر رنگ داده و بصورت زرد مایل به سفید در میآید وبسیار بزرگ و شکننده میشود.

۶- همولف رقیق شده بطوریکه عمل انعقاد یا در مدت زمان طولانی انجام شده و یا هرگز انجام نمیگیرد.

۷- میگوها تمایلی به غذا خوردن نداشته و معده میگوهای الوده خالی میباشد. همچنین بدلیل کندی حرکات میگو ، ذرات و موادی روی آبشش میگو رسوب نموده و میگو بدلیل کندی حرکت قادر به پاک کردن این مواد از روی آبشش خود نمی باشد.

۸- میگوها در کنار استخر شنا نموده و در بعضی مواقع به آهستگی در سطح آب شنا میکنند تا زمانیکه در کف استخر فرو بروند.

۹- میگوهای بیحال ممکن است تغییر رنگ داده و کلیه اندامهای حرکتی و بدن میگوها قرمز میشود که ناشی از گسترش کروماتوفورهای کوتیکولار میباشد..

۱۰- مرگ و میر بسیار زیاد ۱۰۰٪-۷۰٪ معمولاً طی ۳-۴ روز بعد از ظهور علائم کلینیکی در میگوها اتفاق میافتد..

#### صفات مقایسه ای WSD بالینی و عفونت WSV تحت بالینی

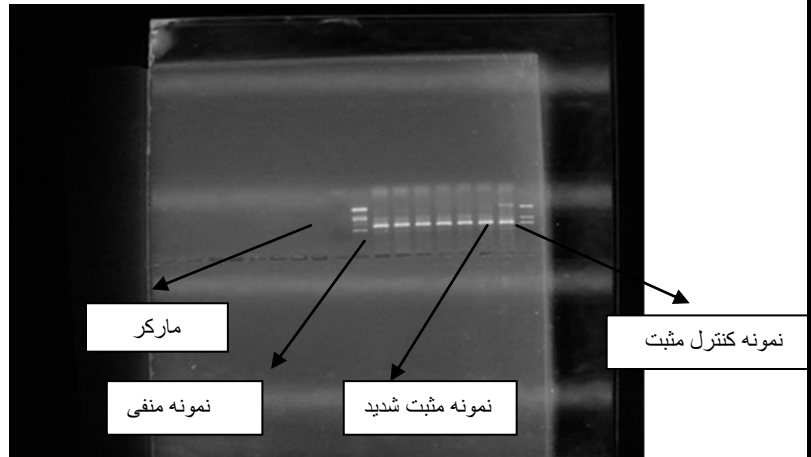
عفونت تحت بالینی ( نهفته یا پنهان)	بیماری بالینی	علامت بیماری
تمام مراحل دوره زندگی	هر مرحله از رشد	سن میگو
خیر	بله	بی اشتها
خیر	اغلب وجود دارد	لکه های سفید
خیر	اغلب وجود دارد	پوسته قرمز
اگر تحت استرس نباشد از نظر بالینی طبیعی است	۳-۴ روز	زمان مرگ



## روشهای تشخیص بیماری (Diagnosis Methods):

تشخیص اولیه بیماری با نمونه برداری و بررسی علائم بالینی وجود لکه های سفید روی کاراپاس ، تغییر رنگ بدن به قرمزی ، و بررسی آبشش امکان پذیر است و تشخیص قطعی بیماری به روش آزمایشات مولکولی ( Nested - PCR) و هیستوپاتولوژی بر روی بافت آلوده انجام میگردد که امکان تشخیص سریع و مطمئن این بیماری میباشد.

در آزمایش هیستوپاتولوژی اندامهای مختلف میگوهای بیمار با رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین (H&E) مشخص میگردد که کلیه بافتها و اندامهای دارای اکتودرم و مزودرم آلوده به این ویروس میباشند. سلولهای هیپاتوپانکراس بشدت واکوئله شده و موجب کم شدن واز بین رفتن مجاری بین سلولی میشود. افزایش سلولهای واکوئله هیپاتوپانکراس ناشی از فعالیت بالای این اندام در مقابل ویروس بوده و تلاش مینماید تا ایمنی سلول را افزایش دهد. با این حال ویروس سلولهای هیپاتوپانکراس و سلولهای اپی تلیال روده میانی را آلوده نمیکند.



### در آسیب شناسی نمونه های آلوده علائم ذیل مشاهده میگردد:

- ۱- هسته در سلولهای آلوده بزرگ شده (هیپرتروفی) که حاوی یک گنجیدگی داخل سلولی ساده هستند که در ابتدا ائوزینوفیلیک بوده و بوسیله یک هاله شفاف از کروماتین حاشیه دار جدا میگردد و سپس گنجیدگیها بازوفیلیک شده و تمام هسته را اشغال میکنند.
- ۲- سیستوپلاسم سلولهای آلوده رقیق شده و با پیشرفت بیماری روشن و شفاف میشود.
- ۳- سینوسهای لنفوی و فضای بین سلولی در غالب بافتها و اندامها بزرگ شده و بشدت توسط مایع لنفی آلوده قرمز رنگ پر شده است.
- ۴- بافتهای هدف اصلی برای ردیابی ویروس لکه سفید شامل پلئوپودها، آبششها ، همولنف، معده و عضلات شکمی میباشدو برای غربالگری غیر مرگبار اندامهای پاها (پلئوپودها) و همولنف مناسب هستند.

## میزبان و راههای انتقال بیماری:

بیماری لکه سفید میگو به دو شکل عمودی و افقی انتقال می یابد. دامنه میزبانی بیماری علاوه بر میگو سایر سخت پوستان دریایی و آب شیرین را در بر میگیرد که از مهمترین آنها میتوان به انواع خرچنگ های دریایی، لابستر و خرچنگ آب شیرین اشاره کرد. بنابراین به دلیل گسترش دامنه میزبانی ویروس بویژه در خرچنگها که علائم بالینی بیماری را از خود نشان نداده و بوفور در کنار استخرهای پرورشی یافت میشوند ، ریشه کنی بیماری به سختی انجام میشود.

### انتقال عمودی:

این بیماری از طریق مولدین میگو به بچه میگوها بطور عمودی نیز منتقل میشود در این روش هنوز مشخص نشده که آیا ویروس از طریق ژنوم میگوی مولد به بچه میگو (Intra ovum) منتقل میشود و یا از طریق چسبیدن ویروس به تخم این انتقال صورت میگیرد.

با توجه به اینکه در تولید مولدین پرورشی و همچنین در زمان نگهداری مولدین در هچریها از غذای تازه بویژه خرچنگ ها، لابستر، ماهی مرکب و ..... برای تغذیه استفاده میشود این موجودات صرف نظر از اهمیتی که در تغذیه مولدین دارند یکی از مخازن اصلی ویروس های پاتوژن بخصوص لکه سفید میباشد لذا لازم است قبل از مصرف این مواد به عنوان غذا آنها را با درجه حرارت استریلیزاسیون یا پاستوریزاسیون به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده تا ویروسهای پاتوژن در آنها از بین رفته و سپس برای غذای میگوهای مولد استفاده شود.

عامل دیگری که در انتقال بیماری میتواند نقش داشته باشد شامل بچه میگوهای تولیدی در هچری ، موجوداتی که میتوانند میزبان و یا ناقل ویروس باشند.

آب ورودی به مزارع پرورشی و سالنهای تکثیر میگو ، کارگران و شاغلین مزارع پرورشی و سالنهای هچری ، غذا و داروهای مصرفی در مزارع پرورشی و سالنهای هچری شامل فلیک آرمیا و .... باد و حشرات موجود در طبیعت ، تجهیزات و ابزار آلات آلوده، حیوانات در حال مرگ و یا مرده و .....

## عواملی که در بروز بیماری لکه سفید میگو نقش دارند:

- ۱- اکسیژن نامناسب آب (کمتر از ۴ppm)
- ۲- pH نامناسب آب (کمتر از ۷/۴ و بالاتر از ۸/۵)
- ۳- شوری نامناسب آب (کمتر از ۲۷ ppt و بالاتر از ۳۲ ppt)
- ۴- تراکم بالای ذخیره سازی
- ۵- عدم آماده سازی مناسب استخرهای پرورشی
- ۶- دمای نامناسب آب
- ۷- عدم ضد عفونی آب ورودی مزارع پرورشی و مراکز تکثیر میگو
- ۸- استفاده از غذای دست سازو تازه در مزارع
- ۹- .....

## درمان:

درمان موفقیت آمیز تا کنون برای بیماری لکه سفید میگو گزارش نشده است بنا براین باید تلاش گردد تا آنجا که امکان پذیر است تلفات این بیماری را کاهش داد. زمانی که در یک مزرعه بیماری لکه سفید تشخیص داده میشود به منظور جلوگیری از ورود آلودگی به دریا نپایستی میگوها و آب استخر را وارد دریا کرد.

## واکسیناسیون:

در حال حاضر واکسنی که میگو را علیه عفونت WSSV حفظ کند وجود ندارد.

## روشهای غیر فعال کردن عفونت (عامل بیماریزا):

در مطالعات آزمایشگاهی عامل بیماریزای لکه سفید میگو تحت شرایط ذیل غیر فعال میشود:

- ۱- حرارت: دمای ۵۵ درجه سانی گراد به مدت ۹۰ دقیقه یا ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه
- ۲- خشک کردن: ویروس لکه سفید جذب شده در کاغذ فیلتر و اجازه داده شود تا خشک شود. در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت و یا در دمای ۲۶ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت غیر فعال میشود.
- ۳- pH: ویروس در pH=3 بمدت ۶ دقیقه و در pH= 12 به مدت ۱۰ دقیقه غیر فعال میشود.
- ۴- اشعه ماوراء بنفش (UV): دز کلی  $9.30 * 10^5$  ویروس را غیر فعال میکند.
- ۵- ازن: ۰/۵ میکرو گرم در میلی لیتر به مدت ۱۰ دقیقه

۶- بنزالکونیوم کلراید : ۱۰۰ppm به مدت ۱۰ دقیقه

۷- یدوفور : ۱۰۰ ppm به مدت ۱۰ دقیقه

۸- هیپو کلریت کلسیم : ۱۰۰ppm به مدت ۱۰ دقیقه ( در شرایط مزرعه با توجه به اینکه هیپو کلریت سدیم مایع است و به محض استفاده در شرایط دمای بالای ۲۰ درجه سانتی گراد بخار میشود بدین لحاظ نمیتواند در کف استخر ته نشین شود لذا در شرایط مزرعه بهتر است از هیپو کلریت کلسیم که بصورت گرانول هست و ته نشین میشود استفاده شود تا از کف بخار شده و باعث ضد عفونی از بین رفتن ویروس میشود )

## کنترل و پیشگیری:

### ۱- پیشگیری از بیماری لکه سفید میگو در مزارع پرورش میگو

- آماده سازی کامل استخرهای پرورشی ( شخم زدن، آهک پاشی و ...) بر اساس دستورالعملهای بهداشتی صادره
- ضد عفونی آب ورودی به مزارع پرورشی با هیپو کلریت کلسیم
- استفاده از استخرهای ذخیره آب (Reservoir)
- فیلتراسیون مناسب آب ورودی به مزارع و استخرهای پرورشی با تعبیه فیلتر شنی، تعبیه فیلترهای توری (۰) با چشمه های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۳۰۰ در مسیر آب ورودی به استخرهای پرورشی
- ذخیره سازی استخر پرورش میگو با بچه میگو های عاری از ویروس لکه سفید با انجام آزمایشات مولکولی (Nested PCR)
- جلوگیری از ورود بچه میگو از دیگر کشورها و رعایت شرایط و ضوابط قرنطینه ای در واردات مولد میگو
- عدم ذخیره بچه میگو با تراکم بالا
- استفاده از پرو بیوتیک در غذای مصرفی میگوها
- استفاده از منابع آب شیرین به منظور تعدیل شوری آب با توجه به اینکه شوری بالا عامل مهار کننده و باعث توقف تغذیه میشود.
- استفاده از سیستم کشت توأم با ماهی
- افزایش سیستم ایمنی غیر اختصاصی میگو با استفاده از محرکهای ایمنی و مکملهای غذایی ( ایمونو استیمولنت ها شامل بتا گلوکان ، ویتامین C ، عصاره جلبک دریایی و دیگر ایمونو استیمولنت ها )
- ضد عفونی آب خروجی(زه کش) استخرهای پرورشی
- استفاده از حوضچه ضد عفونی خودرو در ورودی مزارع و مجتمع های پرورش میگو
- تعویض حداقلی آب استخر



- اجتناب از ذخیره سازی میگو در فصول سرد سال
- استفاده از سیستم پساب مرکزی (Shrimp Toilet)
- جلوگیری از حضور پرندگان بر روی استخرهای پرورشی
- تا حد امکان جلوگیری از تغییرات ناگهانی فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب استخرهای پرورشی (اکسیژن ، شوری، دما، pH و.....)



## ۲- پیشگیری از بیماری لکه سفید میگو در مراکز تکثیر (هچریها):

- دور نگه داشتن هچریها از مزارع پرورش میگو بر اساس استانداردهای تعیین شده
- ضد عفونی کردن آب ورودی به مراکز تکثیر (هچریها) از طریق فیلتراسیون آب با فیلتر شنی ، و اشعه ماوراء بنفش (UV)، ازن و ضد عفونی با هیپو کلریت کلسیم
- انتخاب مولدین عاری از ویروس عامل بیماریز (SPF)
- غربالگری مولدین و بچه میگو ها به روش مولکولی (Nested PCR)
- نگهداری مولدین مناطق مختلف در تانکهای جداگانه

- استفاده نکردن از ماهیان ضمنی (Trash Fish) و غذای یخ زده در تغذیه مولدین
- استفاده از محرکهای ایمنی (ایمونو استیمولنت ها) به منظور بالا بردن سطح ایمنی و مقاومت میگو در مقابل بیماری
- در صورت امکان استفاده از گونه های مقاوم به بیماری لکه سفید میگو
- ضد عفونی و درمان آب خروجی هچری

منابع و مأخذ:

#### References:

- 1-Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals,OIE-2018
- 2- Aquatic Animal Health Code,OIE-2018 -۳
- 3- Australian Aquatic Veterinary Emergency (Disease Strategy for White Spot Disease),Version-2013 -۴
- 4- Molecular Mechanisms of White Spot Syndrome Virus Infection and Perspectives On Treatments , 6/January/2016 -۵
- 5- Biology ,Host Range , Pathogenesis and Diagnosis of White Spot Syndrome Virus , 26/june/2012 -۶
- ۷- دستورالعملها و بخشنامه های سازمان دامپزشکی کشور