

شیوع آلودگی مراکز تکثیر و پرورش مزارع قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ایران به ویروس سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی (VHS) و نکروز عفونی بافت‌های خون‌ساز (IHN) بر اساس برنامه ملی مراقبت سازمان دامپزشکی کشور

پریا دهش^۱، امرالله قاجاری^۲، علیرضا باهنر^{۳*}، نسرین شهبازیان^۲، کامبیز رخشانی مهر^۲

۱- دانشجوی دکتری تخصصی اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های آبیان، سازمان دامپزشکی کشور، تهران، ایران

۳- استاد اپیدمیولوژی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۱۹

چکیده

به منظور تعیین شیوع و پراکنش جغرافیایی بیماری‌های ویروسی سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی (VHS) و نکروز عفونی بافت‌های خون‌ساز (IHN) در ماهیان قزل‌آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) کشور و برنامه ملی مراقبت سالانه در کشور اجرا گردید. در این برنامه که در دو فاز زمستانه و بهار صورت گرفت، از تمامی مراکز تکثیر، تفریح و پرورش ماهیان قزل‌آلای کشور، نمونه‌برداری صورت گرفته و نمونه اخذ شده مورد آزمون مولکولی Real-Time PCR قرار گرفت. نتایج به دست آمده ابتدا در نرم‌افزار Excel وارد شده و با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

بر اساس نتایج به دست آمده، شیوع ردیابی بیماری VHS، در نیمه دوم سال ۹۶، در مزارع تکثیر و تفریح استان‌های خراسان رضوی (۴/۵۴٪)، کهگیلویه و بویر احمد (۳/۵٪) و چهارمحال بختیاری (۲/۰۴٪) و در سه ماهه اول سال ۹۷، استان‌های اردبیل (۱۶/۶۶٪)، زنجان (۱۵/۳۸٪) و مازندران (۲/۵۶٪) شیوع داشته است. در کل کشور شیوع ردیابی بیماری در نیمه دوم سال ۹۶، ۰/۸۶٪ و در سه ماهه اول سال ۹۷، ۱/۱۵٪ بوده است. در مورد بیماری IHN، شیوع ردیابی بیماری در نیمه دوم سال ۹۶ در بین مراکز تکثیر و تفریح، در استان‌های چهارمحال بختیاری (۴/۰۸۱٪) و مازندران (۲/۵۶٪) بوده و در سه ماهه اول سال ۹۷ در استان‌های قزوین (۷/۴٪) و مازندران (۲/۵۶٪) مشاهده گردید. در کل کشور شیوع ردیابی بیماری در نیمه دوم سال ۹۶، ۰/۸۶٪ و در سه ماهه اول سال ۹۷، ۰/۹۵٪ بوده است. با توجه به پراکندگی بیماری‌ها و همچنین اهمیت اقتصادی این بیماری‌ها توجه به روش‌های پیش‌گیری و ارتقاء شرایط امنیت زیستی مراکز به منظور تأمین بچه ماهی سالم برای کاهش خسارت مهم و ضروری است.

کلمات کلیدی: سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی، نکروز عفونی بافت‌های خون‌ساز، ماهی قزل‌آلا رنگین کمان،

شیوع

* نویسنده مسئول: دکتر علیرضا باهنر

آدرس: گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

پست الکترونیک: abahonar@ut.ac.ir

مقدمه

سازمان جهانی بهداشت دام گزارش شد (۱۲). متعاقباً گزارش پراکنده‌ای از ردیابی ویروس در کشور وجود داشت، اما در سال ۱۳۹۳ طغیان بیماری در مراکز متعددی از کشور گزارش گردید و باعث تلفات بالا در مزرعه‌های قزل‌آلا برخی از استان‌های کشور ایران شد. بیماری نکروز عفونی مراکز خون‌ساز (Infectious Hematopoietic Necrosis (IHN)، یک بیماری ویروسی از خانواده رابدوویریده است. این بیماری مهم و کشنده در گونه‌های مختلف ماهیان خصوصاً قزل‌آلا رنگین کمان می‌باشد. این بیماری به‌طور کلی در بچه ماهیان در حال رشد از طریق انتقال افقی خصوصاً از طریق آب آلوده منتقل می‌شود. میزان مرگ‌ومیر IHN در بیشتر گونه‌های حساس و بسته به شرایط محیطی مانند دما و میزان شیوع بیماری، ممکن است به ۱۰۰٪ نیز برسد. این بیماری در ماهیان درشت‌تر و در دمای بالای محیط به فرم مزمن تبدیل شده، باعث ناتوانی در ماهیان و عفونت‌های ثانویه باکتریایی در این ماهی‌ها شایع است (۶). اولین گزارش سازمان دامپزشکی از تلفات گسترده مربوط به بیماری IHN در کشور زمستان ۱۳۸۱ ثبت شده است. تلفات از ابتدای اسفند ۱۳۸۱ از مزارع استان چهارمحال و بختیاری به تعداد ۵ مزرعه با تلفات میانگین ۹۰-۵۰ درصد ثبت شده است. از سال ۱۳۸۲ ویروس بیماری IHN از مراکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین کمان توسط روش‌های کشت سلولی، سرولوژیکی و مولکولی شناسایی شده است (۱۶). این بیماری همانند بیماری VHS، در لیست بیماری‌های اختار کردنی سازمان جهانی بهداشت دام (OIE) قرار دارد برای کنترل این دو بیماری بهترین راه شناسایی مولدین آلوده و حذف بچه ماهیان مواد آلوده، استفاده از منابع آبی فاقد آلودگی و رعایت اصول بهداشتی در

بیماری سپتی سمی ویروسی خون‌ریزی دهنده (Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS)، یک بیماری حاد ویروسی است که مسئول خسارت قابل توجهی در بسیاری از گونه‌های ماهیان خصوصاً ماهی قزل‌آلای رنگین کمان است (۱۴). عامل این بیماری ویروسی از جنس نووی رابدو ویروس (Novi Rabdo Virus) و خانواده رابدوویریده (Rhabdoviridae) است (۱۰، ۱۷). مطالعات اپیدمی مولکولی نشان داده است که ویروس بیماری VHS را می‌توان به چهار ژنوتیپ اصلی بر اساس توزیع جغرافیایی (I تا IV) تفکیک کرد. جداسازی ژنوتیپ‌های I، II و III در کشورهای اروپایی انجام شده و بومی این منطقه شده است، در حالی که ژنوتیپ IV فقط در آب‌های آسیا و آمریکای شمالی یافت شده است (۸). طغیان VHS با علائم بالینی غیراختصاصی در مراحل اولیه عفونت همراه با شروع سریع مرگ‌ومیر مشخص می‌شود. این بیماری باعث واگیری و تلفات بالا در ماهیان قزل‌آلا می‌شود. به دلیل اینکه بیماری با واگیری بالا و با خسارات زیاد اقتصادی همراه است، این بیماری در لیست بیماری‌های اختار کردنی سازمان جهانی بهداشت دام (OIE) قرار دارد (۱۵). بیماری قزل‌آلا پرورشی را در تمامی سنین درگیر می‌کند، ولی معمولاً ماهیان جوان‌تر حساس‌ترند و ماهیان مسن در صورتی که قبلاً با عامل بیماری مواجهه نداشته باشند، در صورت ابتلا دچار مرگ‌ومیر شدید می‌شوند (۱۹). عموماً ماهیانی که وزنی برابر ۰/۳ تا ۳ گرم دارند، بسیار حساس بوده و دچار تلفات ۱۰۰ درصدی می‌شوند. بیشترین رخداد بیماری در دمای ۴-۱۴ سانتی‌گراد رخ می‌دهد (۱۹). در ایران نخستین بار، در سال ۱۳۸۳ توسط سازمان دامپزشکی کشور این بیماری شناسایی شد. در سال ۱۳۸۵ این بیماری به

(GIS) استخراج گردید. روش انجام مطالعه به صورت سرشماری در سطح مراکز تکثیر و تفریخ بود. در سطح مزارع پرورش حجم نمونه و تعداد مزارعی که بایستی نمونه برداری شوند، بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$+75 \times \text{تعداد مزارع پرورش در هر استان} = 75 \times \text{تعداد مزارع پرورش در هر استان} = \text{حجم نمونه}$$

پس از محاسبه تعداد مزرعه پرورش مورد نیاز هر استان برای نمونه برداری، نمونه برداری از جدیدترین سری بچه ماهیان وارد شده به مزرعه پرورش که حداقل دو هفته از زمان ورود آنها گذشته باشد و دارای وزن کمتر از ۱۰ گرم باشند، (در مناطق ناشناخته که بیماری در آنها گزارش نشده و مزارع آن تحت برنامه پایش و مراقبت قرار نگرفته، ۷۵ عدد بچه ماهی و در مزارعی که در مناطق پاک که در دو سال متوالی در سیستم مراقبت و ویروس ردیابی نشده، تعداد ۳۰ عدد بچه ماهی) برای نمونه گیری به صورت هدفمند انتخاب می شوند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

جهت توصیف داده‌ها، فراوانی مزارع به تفکیک در استان‌ها و همچنین شیوع ردیابی بیماری‌های ویروسی در دو فاز مطالعه در استان‌های مختلف کشور در نمودار و جدول نمایش داده شده است. برای رسم نمودار از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۰۷ استفاده شده است. فاصله اطمینان ۹۵ درصد برای شیوع با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ محاسبه شد.

واحد نمونه برداری و روش آزمایشگاهی

در مزارع پرورش، پس از انتخاب مزرعه، از جدیدترین سری بچه ماهیان وارد شده‌ای که حداقل دو هفته از زمان ورود آنها گذشته باشد و دارای وزن کمتر از ۱۰ گرم باشند، نمونه برداری انجام می شود. ترجیح بر این است که از بچه ماهیان جمع شده در خروجی و یا جدا شده از گله در کناره‌های استخر و یا بی حال انجام

هچری می باشد (۱۳). مطالعات بسیاری وقوع این بیماری را در ایران گزارش کرده‌اند (۲۱، ۹، ۷). یکی از ابزارهای اصلی کنترل بیماری در آبزیان، اجرای برنامه های مراقبت از بیماریها است که به منظور اطمینان بخشی از عدم حضور عوامل بیماری‌زای فوق‌الذکر، در جمعیت ماهیان پرورشی انجام می شود. روش‌های متفاوتی برای ارائه شواهدی از فقدان بیماری‌ها در آبزیان، در دهه‌های گذشته توسعه یافته است (۱۸). برنامه مراقبت از بیماری‌های ویروسی در آبزیان پرورشی در ایران از نوع مراقبت هدفمند است که اساساً تمرکز بر روی نمونه‌هایی از جمعیت‌های با خطر بالا (فاکتورهای خطر شناخته شده خاص و معمول) دارد برنامه ملی مراقبت از بیماری‌های ویروسی در مزارع قزل‌آلا رنگین‌کمان در دو فاز (نیمه دوم سال ۱۳۹۶ و سه‌ماهه اول سال ۹۷) در مزارع تکثیر، تفریخ و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مناطق پاک و ناشناخته اجرا گردید. این برنامه زمانی اجرا می‌شود که دمای آب به مدت حداقل یک هفته به کمتر ۱۴ درجه سانتی‌گراد برسد و مولدین مرکز تکثیر به رسیدگی جنسی رسیده و عملیات تخم‌کشی آغاز شده باشد. مرحله دوم طرح حداقل ۴ ماه پس از مرحله اول و در بچه ماهیان گروه سنی حساس می‌باشد.

مواد و روش کار:

طراحی مطالعه و جامعه آماری:

این تحقیق در قالب یک مطالعه مقطعی از نیمه دوم سال ۱۳۹۶ تا نیمه اول سال ۱۳۹۷ و باهدف تشخیص و تعیین شیوع ردیابی این بیماری‌ها در مراکز تکثیر، تفریخ و پرورش قزل‌آلای در استان‌های کشور انجام گرفت. جمعیت هدف در این مطالعه، مزارع تکثیر، تفریخ و پرورش ماهی قزل‌آلا بودند. اطلاعات لازم از سامانه بانک اطلاعات بیماری دامی سازمان دامپزشکی کشور

دامپزشکی هستند. در صورتی که نتیجه آزمایش‌های مولکولی در نمونه‌های بچه ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش مثبت بود، نمونه برداری مجدد جهت کشت سلولی و آزمایش‌های مولکولی در آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص سازمان انجام می‌شود.

استخراج RNA

برای استخراج از کیت‌های موجود در آزمایشگاه مرکزی از کیت Total RNA Extraction Simply p (BioFlux کد BSC52M2) استفاده شد.

روش معمول انجام این آزمایش، از بافت‌های هموژن شده (بافت کلیه، طحال و کبد) به میزان ۶۰ میلی گرم به تیوب استریل منتقل و ۶۰۰ میکرو لیتر محلول فسفات بافر سالین (PBS) به آن اضافه و سپس مخلوط گردید. سوسپانسیون حاصل به مدت پنج دقیقه در دمای محیط قرار گرفته و محلول بخش رویی تیوب استریل به ستون فیلتر دار منتقل و برای ۳۰ ثانیه سانتریفوژ گردید. بعد از حذف محلول جمع شده در پایین ستون، ۶۰۰ میکرو لیتر محلول بافر شستشو افزوده شده و مجدد ۳۰ ثانیه سانتریفوژ می‌شود. مجدد مرحله‌ی شستشو تکرار شده و سپس یک دقیقه سانتریفوژ با دور ده هزار (rpm) انجام می‌شود. محتوی ستون فیلتر دار به لوله استریل منتقل و ۵۰ میلی لیتر بافر حل کننده به آن اضافه می‌شود. نمونه حاصل در دمای محیط به مدت یک دقیقه قرار داده و سپس به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفوژ شده و RNA حاصل می‌گردد.

تکثیر قطعه ژنومی از طریق Real Time-PCR

از پرایمرهای پیشرو GTTCAACTTCAACGCCAACAGG و TGAAGTACCCACCCGAGCATC برای شناسایی ویروس بیماری IHN و پرایمرهای پیشرو CGGCCAGCTCAACTCAGGTGTCC و

شود. چراکه احتمال تشخیص آلودگی به ویروس‌های فوق‌الذکر در ماهی‌های بی حال بیشتر است و چون مراقبت به صورت هدفمند برنامه ریزی شده، تمرکز بر روی نمونه‌هایی از جمعیت با مخاطره بالا بیشتر است. در مورد لاروهای دارای کیسه زرده، می‌بایست ابتدا کیسه زرده و در مورد ماهیان کمتر از ۴ سانتی متر، قسمت انتهایی بدن جدا شود. باقی مانده مورد آزمایش قرار می‌گیرد. در مورد بچه ماهیان ۴-۶ سانتی متر ابتدا سر و دم حذف می‌شود، سپس کل بدن به همراه احشا به جز کبد برای آزمایش در ظرف استیل حاوی ماده نگه‌دارنده (محلول فسفات بافر سالین، PBS) قرار می‌گیرند. در مورد ماهیان بیشتر از ۶ سانتی متر اندام‌های هدف مانند طحال، کلیه قدامی، قلب و مغز استفاده می‌شود. نمونه برداری از مولدین در زمان تخم‌گیری با انتخاب تصادفی مولد انجام می‌شود. در واقع نمونه حاوی تخم و مایع تخمدانی از مولد ماده گرفته می‌شود و در خصوص مولد نر، اسپرم گرفته می‌شود.

جداسازی ویروس در نمونه‌های اخذ شده از مولدین به روش کشت سلولی، بر روی محیط کشت BF2-EPC-RTC2 و شناسایی ویروس در مورد نمونه‌های اخذ شده از بچه ماهیان مبتلا به روش Real-Time PCR انجام می‌شود.

مطالعات مولکولی

نمونه‌ها هر استان به نزدیک ترین آزمایشگاه مورد تأیید سازمان دامپزشکی و دفتر بهداشت آبریان است، فرستاده و مورد آزمایش قرار می‌گیرند. در کل ۹ آزمایشگاه در استان‌های آذربایجان غربی، تهران، قزوین، مازندران، کرمانشاه، چهارمحال بختیاری، خراسان رضوی، فارس و آزمایشگاه ملی تشخیص سازمان قرار دارند که همگی دارای تجهیزات مشابه و کارشناسان آموزش دیده و مورد تأیید سازمان

برای شناسایی CCAGGTCGGTCCTGATCCATTCTGTC

ویروس بیماری VHS استفاده شد (۲۲).

نتایج:

پراکنش جغرافیای مزارع تکثیر، پرورش و تفریخ ماهی‌های قزل‌آلا در جدول شماره یک نمایش داده شده است. با توجه به این جدول، بیشترین مراکز تکثیر مربوط به استان چهارمحال و بختیاری (۴۰/۷۲٪)، لرستان ۱۵٪ و مازندران ۱۵٪ است. بیشترین مراکز تفریخ در استان‌های کهگیلویه و بویر احمد (۲۱/۳۳٪)، خراسان رضوی (۱۵/۴۴٪) و مازندران (۱۳/۲۴٪) قرار دارند. بیشترین مزارع پرورش در استان‌های لرستان (۱۸/۱۷٪)، زنجان (۱۴/۴۷٪) و کهگیلویه و بویر احمد (۱۱/۰۸٪) هستند. به منظور تعیین وضعیت دقیق میزان آلودگی در بچه ماهی‌های تولیدی و با توجه به اینکه عمده مراکز تکثیر فاقد مولدند و فعالیت این مراکز شبیه به مراکز تفریخ است. لذا میزان آلودگی به بیماری‌های ویروسی را در حالتی که فعالیت مراکز تکثیر و تفریخ را یکسان در نظر بگیریم، نیز محاسبه شده است. در نمودار شماره ۱، شیوع کلی بیماری‌های VHS و IHN در دو فاز در کشور نمایش داده شده است.

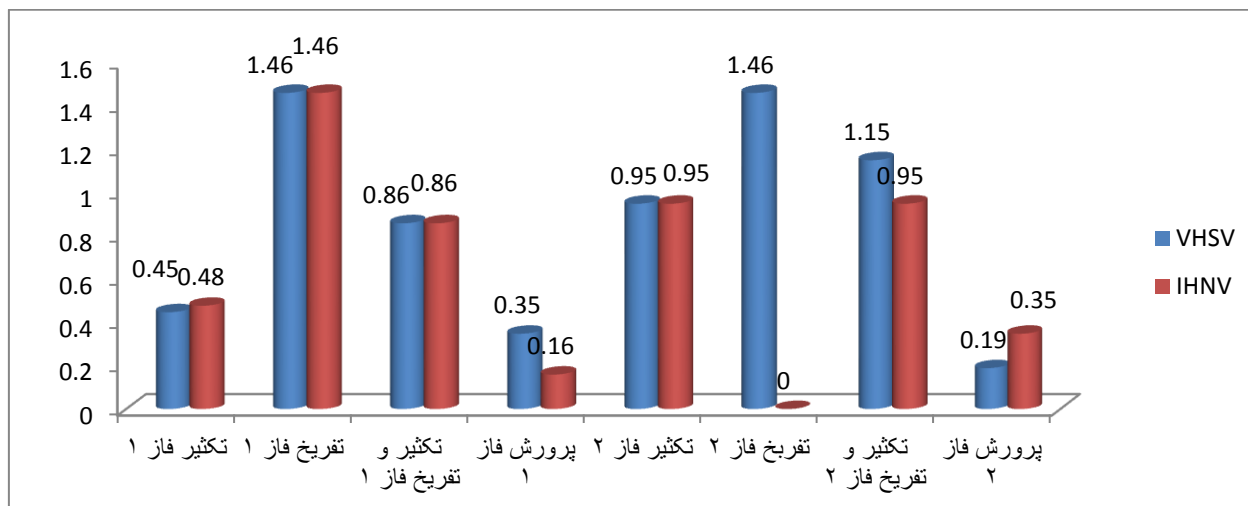
با توجه به نمودار شماره ۱، بیماری ویروسی VHS در نیمه دوم سال ۱۳۹۶، در مزارع تفریخ (۱/۴۶٪) بیشترین گزارش ثبت شده را داشته است. با توجه به جدول شماره ۲، در نیمه دوم سال ۱۳۹۶، شیوع ردیابی ویروس در مزارع تکثیر و تفریخ استان‌های خراسان رضوی (۴/۵۴٪)، کهگیلویه و بویر احمد (۳/۵٪) و چهارمحال بختیاری (۲/۰۴٪) مشاهده گردید. در سطح مزارع پرورش، استان خوزستان (۷/۱۴٪) بیشترین گزارش بیماری را داشته است. باید توجه داشت که در بین استان‌های که مزارع پرورشی دارند، استان خوزستان دارای تراکم کمتر پرورش ماهی قزل‌آلا است، از این

نظر اهمیت کمتری دارد. در سه‌ماهه اول سال ۹۷، بیماری همچنان در مزارع تفریخ (۱/۴۶٪) گزارش بالاتری دارد، علاوه بر آن، گزارش بیماری در سطح مزارع تکثیر (۴/۳۷٪) در سه‌ماهه اول سال ۹۷ افزایش پیدا کرده است. با توجه به جدول شماره ۲، استان اردبیل (۲۰٪) و مازندران (۴/۷۶٪) ردیابی بیماری را در سطح مزارع تکثیر گزارش کرده‌اند که در نیمه دوم سال ۹۶ گزارشی از بیماری نداشته‌اند. لذا باعث افزایش بیماری در سه‌ماهه اول سال ۹۷ در مزارع تکثیر شده است. در استان زنجان (۱۵/۳۸٪) بیماری در سطح مزارع تفریخ مشاهده شده که در نیمه دوم سال ۹۶ بیماری در این استان‌ها شیوع نداشته است؛ بنابراین به‌طور کلی شیوع ردیابی ویروس در مزارع تکثیر و تفریخ استان‌های اردبیل (۱۶/۶۶٪)، زنجان (۱۵/۳۸٪) و مازندران (۲/۵۶٪) مشاهده گردید.

با توجه به جدول شماره سه، بیماری IHN، در دو فاز عملیاتی شیوع تقریباً یکسانی داشته است در نیمه دوم سال ۱۳۹۶، در بین مراکز تکثیر و تفریخ، شیوع ردیابی بیماری از استان چهارمحال بختیاری (۴/۰۸۱٪) و مازندران (۲/۵۶٪) مشاهده شده است. هر دو استان با توجه به جدول شماره ۱، جز استان‌ها پرتراکم مراکز تفریخ و تکثیر می‌باشند. در سطح مزارع پرورش، استان خوزستان (۷/۱۴٪) بیشترین آلودگی را دارد. سه‌ماهه اول سال ۹۷، بیماری در مزارع پرورش افزایش گزارش داشته است. شیوع ردیابی بیماری در مزارع تکثیر و تفریخ مربوط به استان قزوین (۷/۴٪) و مازندران (۲/۵۶٪)، در سطح مزارع پرورش بیشترین گزارش از استان کهگیلویه و بویر احمد (۷/۱۴٪) است. باید توجه داشت که با توجه به جدول شماره ۱، تراکم مزارع پرورش استان کهگیلویه و بویر احمد نسبتاً بالا در رتبه ۵ قرار دارد.

جدول شماره ۱. تعداد مراکز تکثیر، تفریح، تفریح و تکثیر و مزارع پرورش به تفکیک استان‌ها

نام استان	مراکز تکثیر	مراکز تفریح	مراکز تفریح و تکثیر	مزارع پرورش
لرستان	۲۱	۵	۲۶	۴۱۲
چهارمحال بختیاری	۵۷	۳	۶۰	۳۲۸
زنجان	۱	۱۳	۱۴	۲۵۱
مازندران	۲۱	۱۸	۳۹	۲۳۲
کهگیلویه و بویر احمد	۱	۲۹	۳۰	۲۰۳
گیلان	۶	۶	۱۲	۱۷۸
آذربایجان غربی	۵	۹	۱۴	۱۳۵
آذربایجان شرقی	۲	۱۰	۱۲	۸۲
خراسان رضوی	۱	۲۱	۲۲	۸۲
همدان	۹	۳	۱۲	۷۷
خراسان شمالی	۰	۱۰	۰	۷۶
فارس	۵	۴	۹	۶۰
ایلام	۰	۱	۱	۴۸
قزوین	۴	۳	۷	۴۵
گلستان	۳	۶	۹	۰
خوزستان	۳	۰	۳	۸
اردبیل	۱	۰	۱	۱۹



نمودار شماره ۱. وضعیت کلی شیوع ردیابی دو بیماری در سطح واحد اپیدمیولوژیک در دو فاز مطالعه

جدول شماره ۲. درصد شیوع و ۹۵ درصد فاصله اطمینان شیوع ردیابی بیماری ویروسی سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی (VHS) در سطح واحد اپیدمیولوژیک به تفکیک استان در دو فاز مطالعه

نام استان	فاز اول (نیمه دوم سال ۹۶)				فاز دوم (سه ماهه اول سال ۹۷)			
	تکثیر	تفریح	تکثیر و تفریح	پرورش	تکثیر	تفریح	تکثیر و تفریح	پرورش
چهارمحال بختیاری	۲/۱۲ (۲/۰۲ و ۶/۰۲)	۲/۱۷ (-۱/۰۲ و ۶/۰۶)	۱/۳ (-۰/۰۱ و ۲/۰۵)					
مازندران			۴/۷۶ (۰/۰۴ و ۵/۵۴)	۰/۳۸ (-۰/۰۳ و ۰/۴۱)	۲/۵۶ (-۰/۰۲۴ و ۳/۷۵)			
کهگیلویه		۴/۳۵ (-۰/۰۳۵ و ۵/۱۱)	۳/۵ (۰/۰۱۶ و ۴/۱۵)	۱/۶ (۰/۰۴۲ و ۲/۰۷)			۰/۵ (۰/۰۰۵ و ۰/۶۵)	
خراسان رضوی		۴/۷۶ (۰/۰۴۳ و ۵/۱۴)	۴/۵۴ (۰/۰۳۵ و ۶/۱۳)					
زنجان					۱۵/۳۸ (۵/۰۴۶ و ۱۶/۳۵)	۱۶/۶ (۴/۰۴ و ۱۸/۳۸)		
همدان				۱/۵ (-۰/۰۰۳ و ۲/۰۴۵)				
قزوین							۱/۸۵ (۰/۰۱۵ و ۲/۰۵)	
خوزستان				۷/۱۴ (۱/۰۵۸ و ۹/۲)			۲۸/۵۷ (۲۹/۵۲ و ۵/۰۴۵)	
اردبیل					۱۶/۶۶ (۴/۱۵ و ۲۰/۶۵)	۲۰ (۲/۱۵ و ۲۲/۵۵)		
ایلام				۲/۶۳ (۰/۰۲۴ و ۳/۰۷۷)				
کل کشور	۰/۴۵	۱/۴۶	۰/۸۶	۰/۳۶	۰/۹۵	۱/۴۶	۱/۱۵	۰/۱۹

جدول شماره ۳. درصد شیوع ۹۵ درصد فاصله اطمینان شیوع بیماری ویروسی تکروز عفونی مراکز خون ساز (IHN) در سطح واحد اپیدمیولوژیک به تفکیک استان در دو فاز مطالعه

نام استان	فاز اول (نیمه دوم سال ۹۶)			فاز دوم (سه ماهه اول سال ۹۷)		
	تکثیر	تفریح	تکثیر و تفریح	تکثیر	تفریح	تکثیر و تفریح
چهارمحال	۱۰۰	۴/۰۸۱	۰/۶۴			
	(-۰/۰۱۴ و ۵/۰۹)		(۰/۰۰۲ و ۰/۷۲)			
مازندران	۴/۷۶	۲/۵۶	۴/۷۶	۲/۵۶	۴/۰۸	۰/۲۴
	(۰/۰۴۴ و ۵/۱۴)	(۰/۰۲۴ و ۳/۰۸)	(۰/۰۴۴ و ۵/۱۴)	(۰/۰۲۴ و ۴/۰۸)		
کهگیلویه		۱/۱۱				
		(-۰/۰۴ و ۲/۰۲۶)				
آذربایجان غربی		۲/۷۲				
		(۰ و ۳/۰۵۴)				
آذربایجان شرقی		۰/۵				
		(۰/۰۰۴ و ۰/۶۴)				
فارس		۳/۲۷				
		(-۰/۰۱۳ و ۴/۰۷۷)				
قزوین		۲۰	۷/۴	۱/۸۵		
		(۵/۰۴۴ و ۲۱/۱۴)	(۲/۰۲۴ و ۹/۰۷۶)	(-۰/۰۱۷ و ۲/۰۵۳)		
خوزستان		۷/۱۴		۷/۱۴		
		(۳/۰۵۸ و ۸/۲)		(۳/۰۲ و ۹/۰۱۵)		
اردبیل		۰/۸۵				
		(-۰/۰۰۱۴ و ۰/۹۸)				
کل کشور	۰/۴۸	۱/۴۶	۰/۸۶	۰/۱۶	۰/۹۵	۰/۳۵

بحث:

ظهور علائم بیماری در ماهیان قزل آلا در ایران در سال ۹۴، ۴/۸۸٪ گزارش گردید (۵). در این مطالعه شیوع ردیابی پاتوژن VHS در ماهیان بدون علائم بالینی بیماری در سه ماه دوم سال ۱۳۹۶ برابر با ۸۶٪. درصد و در سه ماه اول سال ۱۳۹۷ برابر با ۱/۱۵٪ گزارش گردید.

طی مطالعه انجام شده از اکتبر سال ۲۰۱۴ تا ژوئیه ۲۰۱۵، ویروس ایجادکننده VHS در مزارع قزل آلا در رنگین کمان در پنج مزرعه از بین شانزده مزرعه در شش استان ایران که تولیدکننده عمده قزل آلا هستند، جدا و شناسایی شد. میزان مرگ میر جمعی در مزارع VHS مثبت، از ۳۰ تا ۷۰ درصد متغیر بود (۵). آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، مازندران، لرستان، چهارمحال و بختیاری و کهگیلویه و بویراحمد شش استانها درگیر با این بیماری بودند، همانند مطالعه حاضر که شیوع

مطالعه حاضر، با توجه به اینکه برنامه سیستم مراقبت از دو بیماری فوق در سطح کشوری بوده و تمام مراکز تکثیر و تفریح و مزارع پرورش ماهی قزل آلا در کشور در این مطالعه وارد شده اند، لذا گزارشی جامع از وضعیت دو بیماری فوق، در کشور ایران است.

در ارتباط با بیماری VHS بیشترین گزارش در نیمه دوم سال ۹۶، در سطح مزارع تفریح و تکثیر، بوده است. در سه ماه اول سال ۹۷ بیماری افزایش شیوع داشته که ناشی از افزایش بیماری در مزارع تکثیر است که نیازمند توجه بیشتر برای ارتقا امنیت زیستی و کنترل بیماری است. بیماری VHS در مزارع پرورشی هم می تواند مشکل ایجاد کند ولی از آنجا که بیماری عمده و وابسته به سن است، با افزایش سن میزان بروز علائم کلینیکی بیماری کمتر می شود. شیوع بیماری VHS همراه با

PCR از ۳۰ مزرعه در استان چهارمحال بختیاری، ۲۷ نمونه آلوده به ویروس IHN گزارش دادند (۲۳). رئیسی و همکاران در سال ۲۰۱۰، ردیابی ویروس IHN را در مزارع پرورش استان چهارمحال بختیاری در حدود ۳۳/۳ درصد گزارش کردند (۱۶). در مطالعه حاضر در مزارع پرورش استان چهارمحال بختیاری شیوع ردیابی ویروس در فاز اول ۰/۶۴ درصد مشاهده شد. سلطانی و همکاران نشان دادند که مراکز تکثیر در پنج استان عمده تولیدکننده تخم چشم زده و بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان کشور شامل مازندران، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویر احمد، لرستان و فارس به ویروس بیماری IHN آلوده هستند (۲)، مشابه با مطالعه حاضر که شیوع ردیابی ویروس در دو فاز مطالعه در مراکز تکثیر استان مازندران ۴/۷۶ درصد گزارش شده است. در مطالعه‌ی انجام‌شده در ایران باهدف بررسی آلودگی در مراکز تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان توسط ویروس IHN، نمونه‌ها به روش ایمونوهیستوشیمی و Nested-PCR مورد آزمایش قرار گرفتند. با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی ۳۵ نمونه و با استفاده از روش PCR، ۴۳ نمونه مثبت بودند که نشان از ردیابی ویروس در برخی مراکز تکثیر ماهی در ایران دارد (۳). در مطالعه حاضر، شیوع ردیابی پاتوژن در سطح مراکز تفریح و تکثیر در کشور در فاز اول برابر با ۰/۸۶ درصد و در فاز دوم ۰/۹۵ درصد است. در طی مطالعه انجام‌شده توسط اخلاقی، بر روی نمونه بافتی از ماهی‌های مولد و بچه ماهی (۳۰۰-۴۰۰ روزه) از ۵ مزرعه قزل‌آلای رنگین کمان در استان کهگیلویه بویراحمد و استان فارس مشخص گردید که آنتی‌ژن‌های ویروس نکروز عفونی بافت‌های خون‌ساز (سویه فرانسوی) در بافت‌های مولدین و بافت‌های بچه ماهی‌ها در استان کهگیلویه بویراحمد با درجه حرارت

ردیابی بیماری در استان چهارمحال و بختیاری در فاز اول و در فاز دوم کهگیلویه و بویر احمد مشاهده شده است. در طی تحقیق انجام‌شده توسط فدایی فر و همکاران مشخص شد که ۲۳/۳ درصد تخم‌های مورد مطالعه آلوده و ۷۶/۷ درصد آن‌ها غیر آلوده بود. میزان آلودگی نیز در ویروس‌های IHN و VHS به ترتیب ۱۰ و ۰/۸۳ درصد بود (۱).

بیماری IHN در فاز اول در سطح مزارع تفریح و تکثیر، در استان‌های چهارمحال بختیاری و مازندران از میانگین ردیابی شده بیماری در کشور بیشتر است. در فاز دوم ردیابی این بیماری در استان مازندران و قزوین گزارش شده است. در مزارع پرورش بیماری بیشترین شیوع ردیابی را در فاز اول در استان خوزستان و در فاز دوم، استان کهگیلویه و بویر احمد داشتند. شیوع ردیابی بیماری IHN در مزارع پرورش از اهمیت کمتری برخوردار است. جابه‌جایی تخم آلوده چشم زده به احتمال زیاد صورت گرفته و باعث آلودگی مزارع شده است. بررسی وضعیت این دو بیماری هر ساله توسط سازمان دامپزشکی کشور انجام می‌شود ولی نتایج آنالیز توصیفی سیستم مراقبت بیماری IHN و VHS اولین باز گزارش می‌شود.

فلاحی و همکاران در سال ۲۰۰۶ با استفاده از تکنیک آنتی‌بادی درخشان به روش غیرمستقیم به بررسی وضعیت مزارع پرورشی در دو استان تهران و چهارمحال بختیاری پرداختند. در این مطالعه همانند فاز اول مطالعه حاضر، بیماری در مزارع پرورش استان چهارمحال بختیاری گزارش شده است (۹). مطالعات بسیاری با روش‌های تشخیصی مختلف به بررسی آلودگی در استان چهارمحال بختیاری پرداخته‌اند (۱۶، ۲۱). زرگر و همکاران در سال ۲۰۰۸ با استفاده از دو آزمون آنتی‌بادی درخشان به صورت غیرمستقیم و RT-

این مراکز و نیازمند ارتقا امنیت زیستی برای کنترل بیماری است.

منابع:

۱. فرد ف، رئیسی، مومنی، فغانی. بررسی آلودگی تخم‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان ایرانی و خارجی به ویروس‌های نکروز عفونی مراکز خون ساز، سپتی سمی خونریزی دهنده ویروس نکروز عفونی لوزالمعده: یک مطالعه مقطعی. مجله تحقیقات دامپزشکی

۲. سلطانی، زاده ه، فرهید، کاظمی، موسوی از، حسینعلی. مطالعه پراکنش بیماری نکروز عفونی بافت‌های خونساز (IHN) در پنج استان عمده تولید کننده بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کشور با استفاده از تکنیک‌های آنتی بادی درخشان به روش غیر مستقیم (IFAT) و واکنش زنجیره ای پلی‌مرز-مراز (nested-RT-PCR). مجله تحقیقات دامپزشکی (Journal of Veterinary Research). 2008;63(2):99-105.

۳. حقیقی خیابانیان اصل ع، عادل، سلطانی، حقدوست س، پور ش. بررسی بیماری نکروز عفونی مراکز خونساز (IHN) به روش ایمونوهیستوشیمی در برخی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان قزل‌آلای ایران. پاتوبیولوژی مقایسه ای. ۲۰۰۵; ۱۵۷: ۲-۶۴.

۴. مصطفی ا. مطالعه ایمونولوژیکی بیماریهای ویروسی مشکوک به نکروز عفونی بافت‌های خونساز و لوزالمعده ای ماهی قزل‌آلا. مجله تحقیقات دامپزشکی ایران (دانشگاه شیراز): ۱۳۷۹، دوره ۱، شماره ۲؛ از صفحه ۸۵ تا صفحه ۹۵.

5. Ahmadivand, S., Soltani, M., Mardani, K., Shokrpour, S., Rahmati-Holasoo, H., Mokhtari, A., Hasanzadeh, R. (2016). Isolation and identification of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Acta tropica*, **156**: 30-36.
6. Akhlaghi, M., Hosseini, A. (2007). First report on the detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) by

آب ۱۴-۱۰ درجه سانتی‌گراد تا سن ۳۰۰ روزگی وجود دارند، اما در بچه ماهی‌های مناطق فارس با درجه حرارت آب بالاتر از ۱۴ درجه سانتی‌گراد بعد از سن ۸۰ روزگی مشخص نشد (۴). در مطالعه مشابه در کره، بررسی‌های معمول برای تشخیص ویروس‌ها ذکر شده در قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی سال‌های ۲۰۰۹ تا ۲۰۰۹ انجام شد. کلیه‌های و سر ماهی‌های برای تشخیص ویروس جدا شدند و با استفاده از روش (RT-LAMP) ردیابی پاتوژن‌های انجام شد. هیچ‌یک از نمونه‌ها برای بیماری VHS و IHN مثبت نبودند (۲۰). در مطالعه انجام‌شده در چین در بین سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۴ با بررسی ۵۰ نمونه از ویروس IHN از ۷ استان در چین، نشان دادند که اکثر ویروس IHN که در داخل چین گردش می‌کند از طریق واردات و از جاهای دیگر آسیا منتقل شده‌اند (۱۱).

نتیجه‌گیری:

بیشترین فراوانی پاتوژن‌های ردیابی شده IHN و VHS در مزارع پرورش استان‌های کشور بوده است. این ویروس‌ها در چرخش در کشور وابسته به وزن بوده و غالباً در بچه ماهی‌های بالای ۲ گرم فرم بالینی بیماری و تلفات ایجاد نمی‌شود. لذا به نظر می‌رسد برای استقرار سطح قابل قبولی از نظام امنیت زیستی در سطح این مزارع، علاوه بر آموزش لازم برای پرورش دهندگان، اقدامات مؤثرتری برنامه‌ریزی و اجرا گردد. در بررسی انجام‌شده شیوع ردیابی بیماری VHS در کشور در سطح مزارع تفریح و تکثیر، خصوصاً مزارع تکثیر، اندکی بالا است. توجه بیشتری به مراکز تکثیر استان‌های مازندران، چهارمحال بختیاری و خراسان رضوی بهتر است صورت بگیرد. در رابطه با شیوع ردیابی بیماری IHN، مزارع تفریح در نیمه اول سال ۹۶ بیشترین درگیری را داشته‌اند. لذا، نیازمند توجه بیشتر به

- tissue sampled under field conditions. *Journal of Fish Diseases*, **30**, 559-568.
14. Lyngstad, T. M., Hellberg, H., Viljugrein, H., Jensen, B. B., Brun, E., Sergeant, E., Tavorpanich, S. (2016). Routine clinical inspections in Norwegian marine salmonid sites: A key role in surveillance for freedom from pathogenic viral haemorrhagic septicaemia (VHS). *Preventive veterinary medicine*, **124**: 85-95.
 15. Poissonnier, C., & Teissier, M. (2013). The role of the OIE in information exchange and the control of animal diseases, including zoonoses. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, **32**:447-57.
 16. Raissy, M., Momtaz, H., Ansari, M., & Moumeni, M. (2010). Diagnosis of infectious hematopoietic necrosis in rainbow trout hatcheries, Iran. *African Journal of Microbiology Research*, **4**: 1868-1871.
 17. Raissy, M., Momtaz, H., Ansari, M., & Moumeni, M. (2010). Use of RT-PCR in diagnosis of infectious hematopoietic necrosis in rainbow trout hatcheries, Iran. *African Journal of Microbial Research*, **4**: 1510-1514.
 18. Smail, D. A. (1999). Viral haemorrhagic septicaemia. *Fish diseases and disorders*, **3**: 123-147.
 19. Stärk, K. D., Regula, G., Hernandez, J., Knopf, L., Fuchs, K., Morris, R. S., Davies, P. (2006). Concepts for risk-based surveillance in the field of veterinary medicine and veterinary public health: review of current approaches. *BMC health services research*, **6**: 20.
 20. Stear, M. J. (2005). OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees) 5th Edn. Volumes 1 & 2. World Organization for Animal Health 2004. ISBN 92 9044 622 6.€ 140. *Parasitology*, **130**:727-727.
 21. Suebsing, R., Kim, J. H., Kim, S. R., Park, M. A., & Oh, M. J. (2011). RT-PCR in rainbow trout fry cultured in Iran. *Bulletin-european association of fish pathologists*, **27**: 205.
 7. Asl, A. H. K., Soltani, M., Kazemi, B., Haghdoust, I. S., Sharifpour, I. (2007). Use of immunohistochemical and PCR methods in diagnosis of infectious haematopoietic necrosis disease in some Rainbow trout hatcheries in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10**:230-234.
 8. Einer-Jensen, K., Winton, J., & Lorenzen, N. (2005). Genotyping of the fish rhabdovirus, viral haemorrhagic septicaemia virus, by restriction fragment length polymorphisms. *Veterinary microbiology*, **106**:167-178.
 9. Falahi, R., Soltani, M., Zorriehzaha, M. E. J., Hematzadeh, F. (2006). Serological Diagnosis of Infectious Haematopoietic Necrosis Disease (IHN) in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) using Indirect Fluorescent Antibody Test. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran*, **61**: 19-22.
 10. International Office of Epizootics. Aquatic Animal Health Standards Commission. (2006). *Manual of diagnostic tests for aquatic animals*. Office International des Epizooties.
 11. Jia, P., Breyta, R. B., Li, Q., Qian, X., Wu, B., Zheng, W., Jin, N. (2018). Insight into infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) in Chinese rainbow trout aquaculture from virus isolated from 7 provinces in 2010–2014. *Aquaculture*, **496**:239-246.
 12. Khiabani Asl, A. H., Bandehpour, M., Sharifnia, Z., Kazemi, B., Ahne, W., Bachmann, P. A., Boffey, S. A. (1975). The rhabdoviridae arch virol (Suppl 2): 250-262. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, **3**: 181-185.
 13. Knüsel, R., Bergmann, S. M., Einer-Jensen, K., Casey, J., Segner, H., & Wahli, T. (2007). Virus isolation vs RT-PCR: which method is more successful in detecting VHSV and IHNV in fish

- Detection of viruses in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Korea by RT-LAMP assay. *The Journal of Microbiology*, **49**: 741-746.
22. Williams K, Blake S, Sweeney A, Singer J.T, Nicholson B.L. (1999). Multiplex reverse transcriptase PCR assay for simultaneous detection of tree fish viruses. *Journal of Clinical Microbiology*.**25**:383-391.
23. Zargar A, Soltani M, Hematzadeh F, Kazemi B, Ebrahimzadeh M.H, M. H.(2008). Study on distribution of infectious hematopoietic necrosis (IHN) in five major province producing rianbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in Iran by indirect fluorescence antibody (IFAT) and nested-RTPCR technique. *Journal of veterinary*. **63**: 99-105

Prevalence of Infections of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Breeding Centers in Iran with Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) and Hematologic Infectious Necrosis (IHN) according to National Veterinary Organization of Iran

Dehesh P¹, Ghajari A², Bahonar A^{*3}, Shahbazian N², Rakhshani mehr K²,

1- Ph.D student of Epidemiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran

2- Iran Veterinary Organization ,Tehran, Iran

3- professor, Department of Food Hygiene and Quality control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 9 August 2020

Accepted: 17 March 2021

Abstract

The aim of this study is determination the prevalence and geographical distribution of viral haemorrhagic septicemia (VHS) and infectious hematopoietic necrosis (IHN) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by national annual surveillance program. In this study, data was conducted in two phases of winter and spring, sampling was carried out from all centers of breeding, hatching and rearing of trout in Iran. The data were entered into Excel software and analyzed by SPSS software. The results showed that the prevalence of VHS in the autumn and winter of 2017 and 2018 was 96% in Khorasan Razavi (4.54%), Kohgiluyeh and Boyer Ahmad provinces (3.5%) and Chaharmahal Bakhtiari (2.04%). In the spring of 2018, the prevalence of VHS were about 16.66 % in the Ardebil , 15.38% in the Zanzan and 2.56% in the Mazandaran . In the whole country the prevalence of disease in the autumn and winter of 2017 and 2018 was 0.86% and in the the spring of 2018 was 97.1%. About IHN , the prevalence of disease in the autumn and winter of 2017 and 2018 was 96% in the centers of reproduction and hatching in the provinces of Chaharmahal Bakhtiari (4.081%) and Mazandaran (2.56%). Also, the prevalence of IHN in the the spring of 2018 were about (7.4%) in the Qazvin and (2.56%) in the Mazandaran . In the whole country the prevalence of disease in the autumn and winter of 2017 and 2018, was 0.86% and in the the spring of 2018, was 0.95%. Considering the prevalence of diseases and the economic importance of these diseases, it is important to consider the methods of prevention and promotion of the biological safety conditions of the centers in order to provide healthy fish for the reduction of damage.

Keywords: Viral Hemorrhagic Septicemia, Hematologic Infectious Necrosis, Rainbow trout, Prevalence

*Corresponding author: Alireza Bahonar

Address: Department of Food Hygiene and Quality control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Email: abahonar@ac.ut.ir