

معرفی سه ویروس مهم بیماریزای اگزوتیک (IPNV, IHN & VHSV) در ماهی

قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی

محمدسعید گنجور^۱، سید محمد جلیل ذریه زهرا^{۲*}

^۱ مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهاد کشاورزی، یاسوج، ایران

^۲ موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۹

چکیده

بیماری های ویروسی نکروز عفونی لوزالمعده ای^۱، نکروز عفونی بافت خونساز^۲ و بیماری خونریزی پوزه^۳ (سپتیسمی هموراژیک ویروسی)، هر سه بیماری های عفونی کشنده ای هستند که همه ساله در میان ماهیان حساس در مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی موجب بروز تلفات گسترده و خسارات اقتصادی شدیدی می شوند که همواره تضعیف این صنعت و کاهش علاقمندان به این صنعت سودآور را در پی دارد. این بیماری ها نه تنها عفونی و مسری بلکه جهان گستراند. که در اغلب کشور های پیشتاز در تولید قزل آلائی رنگین کمان خسارت قابل توجهی وارد می کنند. با توجه به ویروسی بودن عامل ایجاد کننده این بیماری ها، علیرغم پیشرفت های علمی جدید در دنیا، هنوز امکان درمان کامل این بیماری ها وجود ندارد. بنابراین آشنایی کامل با نحوه شیوع، انتشار و گسترش این بیماری ها و روش های بهداشتی جهت کنترل و پیشگیری از آنها می تواند نقش مهمی در کاهش خسارت اقتصادی و هزینه های پرورش دهندگان ماهی داشته باشد. رعایت اصول بهداشتی، اجرای کامل مقوله امنیت زیستی، تغذیه مناسب و اعمال مدیریت بهداشتی صحیح در مزارع، به نحو شایسته ای می تواند در کنترل، پیشگیری و کاهش تلفات و خسارات اقتصادی مربوطه موثر و کارا باشد.

کلمات کلیدی: بیماری های ویروسی، ماهیان سردآبی، IPN، IHN، VHS.

* نویسنده مسئول: m.zorriehzahra@areeo.ac.ir

^۱ - Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPN)

^۲ - Infectious Haematopoietic Necrosis Virus (IHN)

^۳ - Viral Hemorrhagic Septicemia Virus (VHS)

مقدمه

بیماریهای ویروسی شایع در ماهیان سردآبی کشور

از آنجایی که جهت شناسایی عوامل بیماری زای ویروسی نیاز به امکانات و تجهیزات بیشتری نسبت به عوامل باکتریایی، قارچی و انگلی است، لذا گزارش های مربوط به شناسایی عوامل ویروسی آبزیان در کشورمان چندان قدیمی نیستند. یکی از گزارش هائی که در آن به شناسایی بیماری های ویروسی در ماهیان قزل آلابی رنگین کمان اشاره شده است، گزارش (Zorriehzahra *et al.*, 2005) است. آنها در این مطالعه به بررسی علل احتمالی سندرم تلفات نوزادان و ماهیان جوان قزل آلابی رنگین کمان در سطح شش استان مطرح در پرورش ماهیان سردآبی در کشور پرداختند و با روش های گوناگون تشخیصی همچون کشت سلول، میکروسکوپ الکترونی، الایزا^۴، پادتن های درخشان^۵، هماتولوژی و آسیب شناسی به شناسایی این عوامل پرداخته اند و با استفاده از پادتن های اختصاصی پلی کلونال و مونوکلونال، و بهره گیری از روش های مورد توصیه سازمان جهانی بهداشت حیوانات^۶ (دام، طیور و آبزیان) علاوه بر جداسازی یک نمونه رابدوویروس (IHN-like virus) موفق شدند پادتن های مربوط به ویروس نکروز عفونی بافت خونساز^۷، ویروس نکروز عفونی لوزالمعده ای^۸ و نیز ویروس بیماری سپتی سمی هموراژیک ویروسی^۹ را در مولدین و بچه ماهیان قزل آلابی رنگین کمان شناسایی و ردیابی نمایند. نتایج آنان وجود پادتن هر سه بیماری اپی زئوتیک یاد شده را در مولدین ماهیان قزل آلابی استان های مورد مطالعه، اثبات نمود.

در مطالعه دیگری حقیقی خیابانی اصل و همکاران (۱۳۸۶) با استفاده از روش Nested-RT-PCR و ایمونوهیستوشیمی اقدام به شناسایی بیماری IHN در ۱۰۰ مراکز تکثیر، تولید تخم چشم زده و بچه ماهی قزل

آلابی در ۱۷ استان کشور نمودند. در این بررسی ۳۵ نمونه در بررسی با ایمونوهیستوشیمی و ۴۳ نمونه با روش PCR از نظر وجود ویروس IHN مثبت شناسایی شدند. البته باید در نظر داشت که نمونه های مثبت ثبت شده بر اساس این دو روش با هم همپوشانی نیز داشتند.

سلطانی و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی دیگری شناسایی مراکز تکثیر آلوده به ویروس بیماری نکروز عفونی بافت های خونساز (IHN) در پنج استان عمده تولید کننده تخم چشم زده و بچه ماهی قزل آلابی رنگین کمان کشور شامل مازندران، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویر احمد، لرستان و فارس با استفاده از تکنیک های IFAT و Nested-RT-PCR و مقایسه این دو تکنیک با یکدیگر مورد مطالعه قرار داده اند.

زرگر و همکاران (۱۳۸۷) در یک بررسی اقدام به مطالعه پراکنش بیماری نکروز عفونی بافت خونساز در پنج استان شامل مازندران، چهارمحال بختیاری، کهگیلویه و بویر احمد، لرستان و فارس با استفاده از روش های آنتی بادی درخشان به روش Nested-RT-PCR نمودند. نتایج حاصله نشان داد که تمامی پنج استان یاد شده به ویروس نکروز عفونی بافت خونساز (چهارده مزرعه از بیست و هفت مزرعه نمونه برداری شده) آلوده هستند.

در تحقیق دیگر بدنبال تلفات شدید بچه ماهیان قزل آلابی رنگین کمان با وزن ۵۶۰ میلی گرم در یک مزرعه پرورش ماهی در استان گیلان اقدام به نمونه برداری از ماهیان با علائم بالینی تیرگی رنگ، ضعف و بیحالی، قرار گرفتن در کف حوضچه، اگزوفتالمی، بادکردگی محوطه شکمی و کست مدفوعی (جدا نشدن مدفوع از ماهی) گردید (Ghasemi & *et al.*, 2011). برای تشخیص اولیه ابتدا از ماهیان فوق آزمایش الایزا با استفاده از آنتی سرم مونوکلونال و پلی کلونال ضد بیماریهای نکروز عفونی لوزالمعده، نکروز عفونی بافت خونساز و سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی انجام شد که وجود ویروس نکروز عفونی لوزالمعده شناسائی و اثبات گردید. سپس با استفاده از روش RT-PCR و با تکثیر ژن VP2 و آزمایشات خنثی سازی و ایمونوفلورسنت با استفاده از آنتی سرم مونوکلونال

⁴ - ELISA

⁵ - FAT

⁶ - OIE

⁷ - Infectious Hematopoietic Necrosis.

⁸ - Infectious Pancreatic Necrosis.

⁹ - Viral Hemorrhagic Septicemia.

اشتهایی، تلفات شدید، اگزوفتالمی (بیرون زدگی چشم) و خونریزی احشایی است. بیماری نه تنها قابل انتقال بین گله است بلکه قابل انتقال به نسل بعد است (مخیر، ۱۳۸۹؛ سلطانی، ۱۳۹۳؛ OIE, 2003). این بیماری در بسیاری از کشورها مثل دانمارک، فرانسه، سوئد، ایتالیا، اسکاتلند، ژاپن، آمریکا، کانادا، شیلی، انگلستان، تایوان، کره، افریقای جنوبی و کوزوو گزارش شده است (مخیر، ۱۳۸۹؛ Bragg, 1387; Rexhepi, 2009). کشورها سعی دارند از طریق قرنطینه، معدوم سازی و کنترل نقل و انتقالات آبیان، آن را ریشه کن کنند. ضمناً ضد عفونی سطح تخم هر چند سبب کاهش بروز بیماری می شود اما بطور موثر از انتقال بیماری به نسل بعد جلوگیری نمی کند. در ضمن با کاهش تراکم تا حدودی از شدت تلفات می توان کاست. دوره نهفته بیماری (کمون) ناشی از این ویروس در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد ۶ تا ۱۰ روز می باشد. گزارش شده که تلفات بالا معمولاً در دمای ۱۰ الی ۱۴ درجه سانتیگراد ایجاد می شود. تشخیص قطعی بیماری به کمک کشت سلولی است و برای کشت سلولی از تیره های سلولی BF-2، CHSE-214، و RTG-2 استفاده می شود. بعلاوه برای تشخیص از روشهای ایمونولوژیکی (نظیر ایمونوهیستوشیمی، خنثی سازی سرم و یا الیزا) و یا روشهای ملکولی (PCR) نیز استفاده می شود. برای تشخیص بیماری از نمونه کبد، کلیه، طحال، تخم ها و ترشحات تخمدانی ماهی ماده استفاده می شود ولی ماهیان کوچکتر از ۴ سانتیمتر بطور کامل جهت آزمایش بکار می روند. این ویروس یک "بیرنا ویریده" است یعنی ویروس RNA دار از نوع (dsRNA) است. این ویروس از خانواده بیرناویریده^{۱۰} و در جنس "اکوابیرناویروس"^{۱۱} قرار دارد و از تنوع آنتی ژنی زیاد برخوردار است. دارای دو "سروگروپ" است و از آن تا بحال جدایه های متعددی با قدرتهای بیماریزایی متفاوت جداسازی شده است. ویژگی ویروس های متعلق به خانواده بیرناویریده عبارت است از: ماده وراثتی آنها از ۲ قطعه اسید ریبونوکلیک تشکیل شده،

اختصاصی ضد اکوابیرنا ویروس انجام گرفت که نزدیکی سویه جدا شده را به سروتیپ اروپایی SP (A2) تایید کرد. این مسئله نشان می دهد که این ویروس در ایران میتواند منشا اروپایی داشته باشد. لازم به ذکر است که گزارش فوق از اولین گزارش های جداسازی و اثبات وجود این ویروس در ماهیان قزل آلی رنگین کمان در ایران بود.

ویروس نکروز عفونی لوزالمعده ای

بیماری نکروز عفونی لوزالمعده ای که عامل آن ویروس IPNV است. سبب بیماری "نکروز عفونی لوزالمعده ای قزل آلا" یا بعبارتی "عفونت کشنده لوزالمعده" می گردد. در این بیماری، لوزالمعده مهمتری عضوی از ماهی است که آسیب می بیند، این بیماری بخصوص برای ماهیان جوان و در سیستم های پرورشی و بخصوص سیستم پرورش متراکم بچه ماهی بسیار مسری است. تلفات این بیماری معمولاً بین ۱۰ تا ۹۰ درصد است اما می تواند به صد در صد نیز افزایش یابد. تلفات به عوامل مختلفی مثل سروتیپ ویروس، شدت آلودگی (تعداد ویروس) و خصوصیات میزبان، مثل سن ماهی و میزان حساسیت و آسیب پذیری ماهی ها (سوء تغذیه و استرس) بستگی دارد. شدت تلفات علاوه بر موارد مذکور به کیفیت آب، عوامل محیطی و رعایت اصول و موازین بهداشتی در کارگاه و بخصوص آب سالم ورودی به کارگاه بستگی دارد. ویروس در مدفوع، اسپرم و مایع تخمدانی ماهیان آلوده یافت می شود و از طریق آب بین ماهیان منتشر می شود. غالباً در بچه ماهی ها عوارض و تلفات شدیدتر و در بالغین فرم مزمن بیماری غالب تر و مقاومت به ویروس افزایش می یابد (مخیر، ۱۳۸۹؛ سلطانی، ۱۳۹۳؛ OIE, 2003). این بیماری در گونه های متفاوتی از ماهیان همچون قزل آلی رنگین کمان، قزل آلی خال قرمز و قهوه ای، ماهی آزاد اتلانتیک، ماهی دم زرد، توربوت، هالیبوت، ماهی روغن، کپور، مار ماهی، انواعی از دو کفه ای ها و چند گونه دیگر گزارش گردیده است (OIE, 2003). علائم ظاهری بیماری شامل تیرگی بدن، باد کردگی شکم، شنای دوار یا مارپیچی، بی

¹⁰ - Birnaviridae

¹¹ - Aquabirnavirus

طریق ادرار و مدفوع، اسپرم و ترشحات تخمدانی و حتی ترشحات موکوسی در آب انتشار می یابد. آزاد ماهیان از جمله قزل آلی رنگین کمان، ماهی آزاد قرمز، قزل آلی حلق بریده، ماهی آزاد اطلس (اصیل)، قزل آلی قهوه ای، ماهی آزاد سیاه، سگ ماهی آزاد، ماهی آزاد گیلانی (ژاپنی)، ماهی آزاد نقره ای، ماهی آیو، گونه ای تاس ماهی، ماهی روغن، شگ ماهی، مارماهی اروپایی و چند گونه دیگر به این ویروس حساس اند و حساسیت لارو ماهیان بیشتر از بالغین می باشد. احتمالاً عامل بیماری، از طریق آبشش یا قانده باله ها وارد بدن ماهی میزبان شده و سبب عفونت می شود، متعاقب آن تعداد فراوانی ویروس در اندامهای داخلی ماهی مثل کلیه و طحال تولید و آزاد می گردد. میزان تلفات، به شدت بیماری، شرایط استخر مثل دما، تراکم و سن ماهیان مربوط می شود و از چند درصد تا ۹۵ درصد متفاوت است. بیماری بومی غرب آمریکای شمالی (کانادا-ایالات متحده) است اما امروزه در اروپا و آسیا مثل کشورهای: اتریش، بلژیک، چین، کروات، چک، فرانسه، آلمان، ایران، ایتالیا، ژاپن، کره، هلند، لهستان، روسیه، اسلونی، اسپانیا، سوئیس دیده می شود. تایید شده که انتقال عفونت تنها از طریق آب و از ماهی بیمار به سایر ماهیان گله رخ می دهد. گزارش های محدودی، تاکید بر انتقال عمودی بیماری یعنی از مولدین به نسل بعد دارد. بهتر است برای ضد عفونی تخم ها، از یدوفر استفاده شود. ابتلاء به این ویروس سبب برهم خوردن توازن اسمزی ماهی، ادم، خونریزی، تکثیر ویروس در سلولهای دیواره مویرگی ماهی، بافت خونساز و سلولهای کلیوی ماهی و بالاخره بروز علائم بیماری می شود. گزارش ها حاکی از آن است که این بیماری در استان فارس و استانهای مجاور آن انتشار یافته است. هنوز هیچگونه داروی موثری علیه بیماری توصیه نشده است لیکن پژوهش برای واکسن علیه این ویروس از ۴۰ سال قبل شروع و تنها در آمریکا و جهت ماهی آزاد اطلس مجوز گرفته است. روش های مهار، پیشگیری و کنترل این بیماری عبارتند از بکارگیری اصول و دستورالعمل های بهداشتی، ضد عفونی سطح تخم با مواد گندزدا در طی

فاقد پوشش بوده و اندازه تقریبی آنها ۶۵ نانومتر است. به pH های ۳ تا ۹ مقاوم است و دمای ۶۰ درجه سانتیگراد را بمدت ۱ ساعت تحمل می کنند. چرخه تکثیر این ویروس در سلول میزبان ۱۸ تا ۲۲ ساعت است (سلطانی، ۱۳۹۳؛ ذریه زهرا، ۱۳۸۷؛ King, 2012; OIE, 2003).

گزارش های متعددی از بروز این بیماری در ایران ارائه شده همچون سال ۱۳۹۳ که گزارشی مبنی بر شناسایی این ویروس در ۱۵ استان ارائه شده است (سلطانی، ۱۳۹۳؛ فدایی فرد، ۱۳۹۱؛ Akhlaghi, 2014; Soltani et al, 2014; and Hosseini, 2007).

ویروس نکروز عفونی بافت خونساز

این ویروس از عوامل عفونت زای مسری در قزل آلی رنگین کمان و ماهی آزاد ساکن در آب شور و شیرین است. ماهیان زیر ۲ ماه حساس و با افزایش سن، این حساسیت کم تر می گردد. این ویروس در خانواده رابدوویروس^{۱۲} ها و در جنس نیماویریده^{۱۳} قرار دارد و می تواند تلفات سنگین در مزارع پرورش قزل آلی رنگین کمان ایجاد کند. اندازه ویروس ۹۰×۱۹۰ نانومتر، گلوله ای شکل (فشنگی) و حاوی یک قطعه اسید ریبونوکلیک تک رشته است که طول آن به ۱۱ هزار نوکلوتید می رسد. بیماری اغلب در دمای ۸ تا ۱۸ درجه گزارش شده، ولی در مواجهه میزبان حساس با عامل بیماری می توان در دمای ۳ تا ۱۸ درجه سانتیگراد بیماری را القاء نمود. این ویروس به اسید و اثر حساس است و از این ترکیبات می توان بعنوان ضد عفونی کننده استفاده کرد. ویروس مذکور قادر است حداقل بمدت ۱ ماه در آب شیرین و دمای پایین مخصوصاً در آب حاوی ترکیبات آلی زنده بماند. این ویروس به خشکی حساس بوده و سریعاً توسط مواد ضد عفونی کننده رایج غیرفعال می گردد لذا پیش بینی می شود که خشکاندن استخر و ضد عفونی آن با ضد عفونی کننده های رایج در پاکسازی استخر موثر باشد. ویروس از

¹² - *Rhabdoviridae*

¹³ - *Novirhabdovirus*

می افتد شیوع بیماری زمانی رخ می دهد که درجه حرارت آب در پایین ترین سطح خود قرار دارد (۴ تا ۱۴ درجه سانتی گراد). در بهار تلفات آن کمتر است و در تابستان تقریباً قطع می شود.

این ویروس در طبیعت و در شرایط پرورشی قادر است بصورت افقی از یک ماهی به ماهی دیگر و از طریق آب آلوده منتقل شود و گله ماهی را آلوده کند. انتشار این بیماری به مناطق جغرافیایی جدید از طریق نقل و انتقال تخم آلوده اثبات گردیده است و غالباً بیماری فصلی قزل آلا پرورشی در اروپای غربی تلقی می شود اما اخیراً در نواحی دیگری از جمله آمریکای شمالی و آسیا گزارش شده است (مخیر، ۱۳۸۹؛ King and et al, 2012; OIE, 2012b).

تاریخچه شناسایی و همه گیر شناسی ویروس سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی

- بیماری حاصل از این ویروس اولین بار در آلمان در سال ۱۹۶۳ م. توسط جانسون^{۱۹} توصیف شد.

- در سال ۱۹۸۷ م. عامل بیماری تحت خانواده رابدو ویروسها طبقه بندی شد.

- ۱۹۹۹ م. برای اولین بار بیماری در ژاپن و فنلاند گزارش شد.

- ۲۰۰۳ م. گزارشی از وقوع بیماری در امریکای شمالی ارائه شد.

- از سال ۲۰۰۵ م. به بعد در بسیاری از کشورها مثل اتریش، بلژیک، بلغارستان، چک، آلمان و ایران وجود بیماری گزارش شد. بطوری که تا سال ۲۰۱۳ م. وجود آن در بسیاری از کشورها قطعی شد.

- امروزه منطقه وسیعی از جهان شامل اروپا، امریکای شمالی، شرق آسیا (کره و ژاپن) و خاورمیانه با این بیماری درگیر شده اند.

- ۲۰۰۷ م. کارشناسان به بروز مجدد عفونت در برخی نقاط مشکوک شدند (مخیر، ۱۳۸۹؛ OIE, 2012b).

تکثیر، استفاده از آب تصفیه شده و آب سالم (فاقد عوامل عفونی) برای سالن انکوباسیون است. همچنین از واردات تخم یا مولدین آلوده به کشور یا نقل و انتقالات مشکوک بین کارگاهی باید پرهیز شود. استرس به ماهیان باید به حداقل رسانده شود. توصیه شده حتی الامکان از آب پاکیزه چشمه یا چاه در کارگاه استفاده شود و یا از آب تصفیه و ضد عفونی شده با نور فرابنفش و یا ازن استفاده گردد. تحقیق در زمینه تولید مولدین مقاوم به این بیماری ادامه دارد. استفاده از پروبیوتیک های ضد ویروس مطرح شده است اما هنوز محصولی تجاری در این خصوص وجود ندارد (مخیر، ۱۳۸۹؛ OIE, 2012a).

ویروس سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی

بیماری ناشی از این ویروس "سپتی سمی ویروسی خونریزی دهنده" خوانده می شود. اما این بیماری در ایران به "بیماری خونریزی پوزه" نیز معروف شده است. برخی کارشناسان بعلت مسری بودن شدید این ویروس آنرا بطور عامیانه "ابولای آبیان" خوانده اند که تنها وجه تسمیه آن با ابولا، مسری و خطرناک بودن آن است. سایر اسامی این بیماری عبارت است از بیماری اکتود^{۱۴}، عفونت ورم کلیوی و اضمحلال کبد^{۱۵}، آب آوردگی شکم قزل آلا^{۱۶}، کم خونی قزل آلا^{۱۷}، کم خونی کشنده قزل آلا^{۱۸}. عامل این بیماری یک رابدوویروس است. این ویروس به شدت به حرارت حساس می باشد. در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد در عرض پانزده دقیقه از بین می رود. در دمای صفر درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت ولی در ۲۰ - درجه سانتی گراد به مدت طولانی زنده می ماند. قزل آلا رنگین کمان در تمامی سنین حساس است با این حال در ماهیان کمتر از ۶ ماه بیماری شدیدتر بوده و مرگ و میر بیشتری ایجاد می کند. سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی یک بیماری تقریباً فصلی است و بیشتر در زمستان و پائیز و در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد اتفاق

¹⁴ - Egtved Disease

¹⁵ - Infectious Nephrotic Swelling and Liver Degeneration

¹⁶ - Abdominal Ascites of Trout

¹⁷ - Infectious Anemia of Trout

¹⁸ - Pernicious Anemia of Trout

خصوصیات ویروس سپتی سمی خونریزی دهنده**ویروسی**

این ویروس متعلق به جنس *Novirhabdovirus* از خانواده *Rhabdoviridae* است. این ویروس یک سروتیپ و چهار ژنوتیپ دارد که ویروس ایرانی شباهت زیادی با ژنوتیپ ۱، یعنی نمونه آلمانی و دانمارکی دارد (مخیر، ۱۳۸۹؛ OIE, 2012b).

نحوه انتقال عامل بیماری سپتی سمی خونریزی**دهنده ویروسی**

حضور ویروس در ادرار، ترشحات تناسلی تخمدان، اسپرم و مدفوع اعلام شده است. عامل بیماری از طریق آب یا تماس انتقال می یابد. پرندگان ماهیخوار می توانند نقش ناقل مکانیکی داشته باشند.

بسته به نژاد ویروس، مقاومت آن در خارج از بدن میزبان متفاوت است. انواع مربوط به امریکای شمالی حساس تر از انواع اروپایی گزارش شده اند. بیشترین مقاومت ویروس در ۴ درجه سانتیگراد است.

گزارش شده است که ویروس در ۴ درجه سانتیگراد و در آب شور حاوی ۱٪ سرم به مدت ۱۰ ماه عفونت زایی خودش را حفظ می نماید.

دوره کمون (نهفتگی) بیماری بستگی به دمای آب دارد و از ۱ هفته تا ۴ هفته متغیر است.

هنوز در انتقال عمودی بیماری شک وجود دارد (مخیر، ۱۳۸۹؛ OIE, 2012b).

کنترل و درمان سپتی سمی خونریزی دهنده**ویروسی**

هنوز واکسن قابل اعتماد و ارزان در دسترس نیست.

مهاری انتشار بیماری به کمک روشهای بهداشتی و پیشگیرانه است.

هنوز داروی موثر و کاربردی برای این ویروس ها در آبی پروری معرفی نشده است.

روشهای تشخیص ویروس سپتی سمی خونریزی**دهنده ویروسی**

کشت ویروس: کشت ویروس گرچه یکی از روشهای استاندارد است اما ۱ هفته تا ۱۰ روز زمان می برد. در ضمن برای تایید و تشخیص نوع ویروس نیازمند آزمایشگاهی مجهز است. همچنین برای انجام این روش نیاز به تیره سلولی مناسب است.

میکروسکوپ الکترونی.

روش های سرولوژیکی نظیر الایزا و ایمونوهیستوشیمی.

روش های ملکولی: در روش PCR نیاز به استخراج

ماده وراثتی ویروس و کنترل های مثبت و منفی است. روش "پی سی آر کیفی"^{۲۰} در حاملین ویروس (ماهیان ناقل) و در مراحل اولیه بیماری (ماهیان بدون علامت) بهتر جواب می دهد. در ضمن در روش فوق مزارع آلوده تر را می توان سریعتر شناسایی نمود. روش "پی سی آر چندگانه"^{۲۱} روشی است که در آن می توان حضور سه ویروس مذکور (ویروس نکروز عفونی لوزالمعده ای، ویروس نکروز عفونی بافت خونساز و ویروس سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی) را همزمان جستجو و شناسایی نمود.

روش آسیب شناسی (مخیر، ۱۳۸۹؛ OIE, 2012b).

توصیه های ترویجی جهت مبارزه با بیماری های**ویروسی****۱. مدیریت بهداشتی:**

در گذشته تنها راه کنترل این بیماری های ویروسی بر اساس از بین بردن تمام ماهیان استوار بود. لیکن کنترل بیماری بر اساس روش های پیشگیری ذیل قابل انجام است:

اعمال مقررات قرنطینه ای و عدم حمل و نقل ماهیانی که گواهینامه بهداشتی ندارند.

اعمال مدیریت بهداشتی در مزرعه از جمله: ضد عفونی استخرها و وسایل با آهک، فرمالین و سایر مواد ضد عفونی کننده مناسب. بهبود شرایط محیطی و بهداشتی مزرعه،

²⁰ - Real-time-PCR (RT-PCR; qPCR)

²¹ - Multiple-PCR

- اگرچه سرایت عمودی بطور کامل ثابت نشده است اما ضد عفونی تخم ها با محلول یدین به میزان ۱۰۰ ppm در pH=5.5-6 به مدت ۱۰ دقیقه توصیه شده است.

- پرورش گونه هایی با حساسیت کمتر نسبت به بیماری مثل ماهی آزاد سیاه و ماهی آزاد نقره ای.

- بهبود تغذیه و تأمین ویتامین های آ، ای و گروه "ب" و استفاده از پروبیوتیک ها و محرک های ایمنی مفید که در کاهش شدت آلودگی مؤثرند.

۲. واکسیناسیون:

امروزه از مواد شیمیایی و آنتی بیوتیکها برای مهار بیماریهای انگلی و باکتریایی در ماهیان پرورشی در برخی از کشورها همچنان استفاده می شود، اما این ترکیبات اغلب اثرات جانبی نامطلوب از قبیل انباشت در گوشت ماهی، افزایش مقاومت دارویی و آلودگی محیط زیستی دارند. بنابراین، اکثر تلاش محققان در این زمینه بر پیشگیری از بیماری متمرکز شده است. در این میان واکسیناسیون ماهیان، راهی مناسب برای افزایش میزان ایمنی بدن ماهی در برابر عوامل بیماریزای شایع می باشد. اولین واکسن در برابر بیماریهای باکتریایی در ماهیان پرورشی در دهه ۱۹۷۰ میلادی توسعه یافت و در دهه ۱۹۸۰ به صنعت آبی پروری معرفی گردید. واکسن های مورد استفاده در ماهیان به سه دسته تقسیم می شوند: گروهی از آنها که متعلق به نسل اول واکسن ها هستند که از طریق میکروب ضعیف یا کشته شده یا اجزاء بدن میکروبها تولید می شوند. برخی دیگر از آنها محصولات نو ترکیب اند که از طریق روشهای مهندسی ژنتیک حاصل می شوند و به نسل دوم واکسن ها تعلق دارند. امروزه نسل سوم واکسن ها که واکسن ژنی یا اصطلاحاً " DNA واکسن ها" هستند که به طور گسترده مورد تحقیق دانشمندان قرار گرفته اند. در این راستا تاکنون واکسن هایی از ویروسهای کشته شده بر علیه بیماریهای VHS, IHN, SVC و IPN تهیه شده است لیکن به دلیل تنوع سروتایپ های ویروسی نتایج محدودی از کاربرد این

اطمینان از عدم ورود ماهی آلوده به مزرعه، خارج کردن سریع ماهیان مرده یا مبتلاء دارای علائم بیماری، دفن بهداشتی ماهیان مبتلا و پوشاندن آنها با آهک زنده در مکان های ویژه (نسبت ۱/۱ آهک در چاله ای به عمق ۵۰ سانتی متر تا ۱۰۰ سانتی متر).

- بهره گیری از ترکیب فرمالین و سولفات مس: کاربرد این دو ترکیب شیمیایی جهت درمان و پیشگیری از برخی بیماری های باکتریایی، قارچی و انگلی و نیز مبارزه با بیماری های ویروسی در بچه ماهیان قزل آلا و ماهیان پرورشی می تواند موثر باشد. اما بسیار سمی اند و باید با مراقبت مصرف شوند.

- طرز مصرف: سولفات مس به مقدار ۲۰۰ گرم و فرمالین ۴۰ درصد تجاری به مقدار ۲ لیتر با ۵ لیتر آب به خوبی حل کرده و بر سطح استخر با رعایت تمهیدات خاص پاشیده می شود (بعلت سمیت سولفات مس، رعایت سرعت آب ورودی به استخر و حجم استخر اهمیت دارد).

- همچنین می توان از فرمالین یا آهک جهت ضد عفونی ماهیان مولد با ارزش جهت پیشگیری از بیماری استفاده نمود.

- حصار کشی مزارع پرورش ماهی با بهره گیری از سیم های نایلونی جهت محافظت از پرندگان مهاجر و مرغان ماهیخوار.

- پیشگیری از فرار ماهیان حامل ویروس از استخر به سایر استخر ها یا از کارگاه به محیط زیست.

- استفاده از ماشین های حفاظت شده برای حمل و نقل ماهیان.

- احیای مجدد مزارع آلوده با ماهیان مولد عاری از ویروس پس از ضد عفونی کردن استخر ها.

- استفاده از آب عاری از ویروس و بهره گیری از فناوری های همچون سیستم فرابنفش و یا ازن جهت ضد عفونی آب.

- استفاده از تخم و بچه ماهی بدست آمده از مولدین عاری از ویروس (SPF).

- استفاده از مولدین اصلاح شده (مقاوم به بیماری SPR).

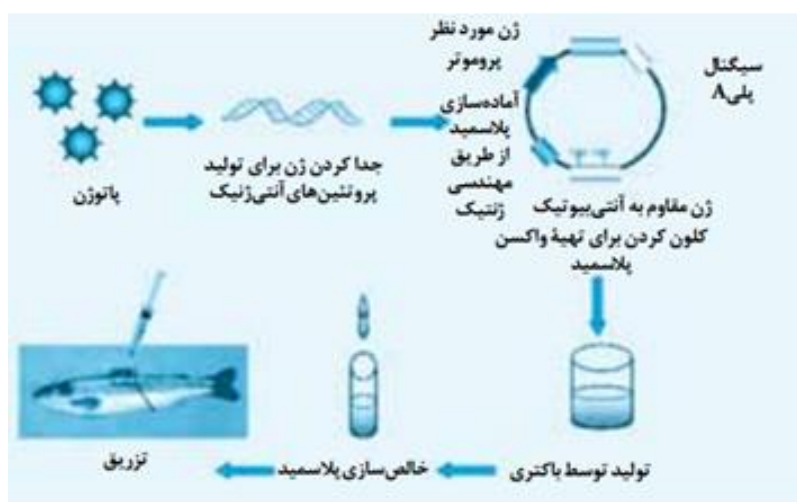
مختلف از قبیل تزریق عضلانی، تزریق داخل صفاقی، غوطه وری، انتقال از طریق میکرو جلبکها، انتقال از طریق نانو ذرات (مانند کیتوزان) به روش خوراکی به بدن ماهی انتقال داده می شود (شکل شماره ۱). واکسن های DNA در ماهیان نتایج مہیجی در بر داشته اند. تزریق پلاسمید حامل ژن پروتئین G ویروس IHNV به ماهی قزل آلا سبب حفاظت این ماهی علیه بیماری IHN شده است (Lorenzen *et al.*, 1999). علاوه بر این چندین گزارش در زمینه بیان ژن انتقالی و DNA واکسن در ماهی در مقابل عفونتهای ویروسی از قبیل VHS، عفونتهای باکتریایی از قبیل "آئروموناس ورونی" و "ویبریو آنگلوییلاریوم" منتشر شده است (Vazquez-Juarez *et al.*, 2005).

بطور کلی می توان اینگونه نتیجه گرفت که علیرغم پیشرفت های قابل توجه در زمینه تولید واکسن بر علیه بیماری های ویروسی ماهیان، به استثنای موارد محدودی همچون کاربرد واکسن تزریقی در پیشگیری از بیماری کمخونی عفونی ماهیان آزاد (ISA)، در اغلب موارد هنوز واکسن تجاری موثر و کارائی برای حفاظت کامل ماهیان از بیماری های ویروسی یاد شده به بازار مصرف عرضه نشده و اغلب واکسن های ویروسی ماهیان، جنبه تحقیقاتی و آزمایشگاهی دارند.

نوع واکسن ها حاصل شده است (Evensen *et al.*, 2013).

در ماهیان از واکسن های زنده تخفیف حدت یافته نیز استفاده شده است. در این حالت سوسپانسیونی از عامل بیماریزای زنده تخفیف حدت یافته تهیه می شود که با وجود توانایی تکثیر در بدن میزبان و ایجاد پاسخ ایمنی در ماهیان، اغلب از قدرت بیماریزایی کافی برخوردار نیستند. واکسن های زنده تخفیف حدت یافته محدودی بر علیه بیماری های IPN، IHN، و VHS تهیه شده است لیکن با وجود این، از آنجا که احتمال افزایش حدت این واکسن های زنده در بدن میزبان و انتشار ویروس زنده در منطقه مورد استفاده وجود دارد، بندرت اجازه استفاده از این نوع واکسن ها داده می شود (Evensen, 2016).

واکسن های نسل سوم واکسن های ژنی هستند. این واکسن ها در واقع تزریق مستقیم پلاسمیدی است که قدرت بیان ژن را دارد. با تزریق پلاسمید به داخل بدن موجود زنده (ماهی)، پروتئین نوترکیب در داخل بدن ماهی تولید میشود و در اختیار دستگاه ایمنی قرار میگردد. واکسن های DNA در حقیقت حاوی سوسپانسیونی از پلاسمیدهای باکتریایی حامل ژنهای مربوط به پروتئین ایمنی زا هستند. پلاسمیدی که از طریق مهندس ژنتیک حامل ژن مورد نظر شده است در باکتری / شریشیا کولی (E.coli) کلون می شود و بعد از خالص سازی از طرق



شکل ۱: مراحل آماده سازی و تزریق واکسن ژنی (Tonheim *et al.*, 2008).

خونساز، سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی و نکروز عفونی لوزالمعده: یک مطالعه مقطعی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۷، شماره ۴، صفحات: ۳۹۳-۳۹۹. مخیر، بابا، ۱۳۸۹. بیماریهای ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ ششم، ۶۳۸ صفحه.

زرگر، اشکان، سلطانی، مهدی، همت زاده، فرید، کاظمی، بهرام، و ابراهیم زاده موسوی، حسینعلی. ۱۳۸۷. مطالعه پراکنش بیماری نکروز عفونی بافت های خونساز (IHN) در پنج استان عمده تولید کننده بچه ماهی قزل آلی رنگین کمان کشور با استفاده از تکنیک های آنتی بادی درخشان به روش غیرمستقیم (IFAT) و واکنش زنجیره ای پلی مراز (Nested-RT-PCR).

- Akhlaghi, M. and Hosseini, A., 2007. First report on the detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) by RT-PCR in rainbow trout fry cultured in Iran, Bulletin Archive- European Association of Fish Pathologists, 27: 79-84.
- Bragg, R.R., and Combrink, M.E., 1987. ISOLATION AND IDENTIFICATION OF INFECTIOUS PANCREATIC NECROSIS (IPN) VIRUS FROM RAINBOW TROUT IN SOUTH AFRICA. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 7 (5). 118.
- Evensen, Ø. 2016. Development of fish vaccines: Focusing on methods. In Fish vaccines (pp. 53-74). Springer, Basel.
- Evensen, Ø. & Leong, J. A. C. 2013. DNA vaccines against viral diseases of farmed fish. Fish & shellfish immunology, 35(6), 1751-1758.
- Ghasemi, M., Olesen, N. J., Skall, H. F., Karsidani, S. H., Jonstrup, S. P., Zorriehzaha, S. J., ... & Sharifrohani, M. 2011. Infectious Pancreatic Necrosis (IPN), a New Threat of Cultured Rainbow Trout in Iran. In IMED 2011 International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance.

با توجه به موارد یاد شده می توان جمع بندی نمود که نظر به فقدان درمان و داروی مناسب جهت بیماری های ویروسی آبزیان، تمامی سعی و تلاش پرورش دهندگان بایستی بر رعایت اصول بهداشتی، اجرای کامل مقوله امنیت زیستی، استفاده از اصول قرنطینه در ابعاد گوناگون، تغذیه مناسب و سالم و اعمال مدیریت بهداشتی صحیح در مزارع باشد که اجرای صحیح و هماهنگ این موارد اصولی، به نحو شایسته ای می تواند در کنترل، پیشگیری و کاهش تلفات و خسارات اقتصادی مربوطه در مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی موثر و کارا باشد (Zorriehzaha et al., 2016).

منابع:

- حقیقی خیابانیان اصل، عادل، کاظمی، بهرام، بنده پور، مژگان. (۱۳۸۶). بررسی احتمال بیماری سپتی سمی هموراژیک ویروسی (Viral Haemorrhagic Septicaemia) در تعدادی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان قزل آلی ایران با روش هیستوپاتولوژیکی و آزمایش ملکولی PCR، پاتوبیولوژی مقایسه ای، شماره ۴ (پیاپی ۱۹)، ۳۰۵-۳۱۲.
- ذریه زهرا، سید جلیل، ۱۳۸۷. بررسی اتیولوژیک سندرم تلفات نوزادان ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مزارع تکثیر و پرورش کشور، پایان نامه دکترای تخصصی بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه پوترای مالزی (UPM). ۲۸۰ ص.
- سلطانی، م، روح الهی، ش، زرگر، ا، عبدی، ک، محمدیان، س، و قاجاری، ا، ۱۳۹۳. مطالعه ی پراکنش بیماری نکروز عفونی لوزالمعده در مزارع قزل آلی ایران به روش RT-PCR. مجله دامپزشکی ایران، دوره دهم، شماره ۲، صفحات: ۲۹-۳۸.
- فدایی فرد، ف، رئیسی، م، مومنی، م، و فغانی، م، ۱۳۹۱. بررسی آلودگی تخم های قزل آلی رنگین کمان ایرانی و خارجی به ویروس های نکروز عفونی مراکز

- Tonheim, T.C., Bogwald, J., and Dalmo, R.A., 2008. What happens to the DNA vaccine in fish? A review of current knowledge. *Fish & Shellfish Immunology* 20, pp: 1-18.
- Vazquez-Juarez, R. C., Gomez-Chiarri, M., Barrera-Saldaña, H., Hernandez-Saavedra, N., Dumas, S., & Ascencio, F. 2005. Evaluation of DNA vaccination of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) with two major outer-membrane protein-encoding genes from *Aeromonas veronii*. *Fish & shellfish immunology*, 19(2), 153-163.
- Zorriehzahra, S. J., Sharifpour, I., Pourgholam, R., Saiedi, A. A., Masomian, M., Fallahi, R., ... & Hoseinpour, R. G. 2016. A survey on health status of coldwater rearing and hatcheries fish farms in Iran (Mazandarn, Gilan, Ardebil, West Azerbaiejan, East Azerbaiejan and Kordestan provinces), Final Research Report, Iranian Fisheries Science Research Inst. P.265.
- Zorriehzahra, M.J., M. Soltani, I. Sharifpour, A.A. Saiedi, and M. Mehrabi, 2005. Preliminary study of infectious agents (Viral and Bacterial) of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry Mortality Syndrome in Iran. Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), Final research report, No.84/470, pp. 290.
- King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., and Lefkowitz, E.J., 2012. *Virus Taxonomy* "Classification and Nomenclature of Viruses". Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. International Union of Microbiological Societies, Virology Division. Elsevier academic press.
- Lorenzen, N., Lorenzen, E., Einer-Jensen, K., Heppell, J., & Davis, H. L. 1999. Genetic vaccination of rainbow trout against viral haemorrhagic septicaemia virus: small amounts of plasmid DNA protect against a heterologous serotype. *Virus research*, 63(1-2), 19-25.
- OIE, 2012a. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, (Chapter: 2.3.4, INFECTIOUS HAEMATOPOIETIC NECROSIS). Pages: 300-313.
- OIE, 2012b. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, (Chapter: 2.3.9, VIRAL HAEMORRHAGIC SEPTICAEMIA). Pages: 374-396.
- OIE, 2003. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, (Chapter: 2.1.8, INFECTIOUS PANCREATIC NECROSIS). 10 Pages.
- Rexhepi, A., Scheinert, P., Bërxfholli, K., Hamidi, A., and Sherifi, K., 2009. The occurrence of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Kosovo. *Veterinaria* 58 (1-2), 47-53.
- Soltani, M., Rouholahi, S., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Abdi, K., Zargar, A., and Mohamadian, S., 2014. Genetics diversity of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in IRAN. *Bulletin European Associate Fish Pathology*. 34(5), 155-164.

Introducing three important exotic pathogenic viruses (IPNV, IHNV &VHSV) in farmed Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mohammed Saeed Ganjoor¹ and Mohammad Jalil Zorriehzahra^{2*}

¹Genetic and Breeding Research Centre for Cold Water Fishes (Shahid-Matahari Center), Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Yasuj, I.R.Iran.

²Department of Scientific Information and Communication, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFRSI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R.Iran.

Received: February 2021

Accepted: May 2021

Abstract

Three viral diseases “Infectious pancreatic necrosis (IPN), Infectious hematopoietic necrosis (IHN), and Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS)” are deadly infectious diseases for coldwater fish that can occur each year among susceptible fish in fish farms (breeding farms). They cause mortality and severe economic losses in cold water fish farms. These diseases sometimes cause damage to this industry and also reduce the interest of investors to invest in this profitable industry. These diseases are not only infectious and contagious but also are worldwide. The diseases cause significant damage in most of the pioneer countries in the production of rainbow trout. Due to the viral nature of these diseases, despite new scientific advances in the world, it is still not possible to completely cure the diseases also no effective vaccines have been developed for them yet. Therefore, awareness of hygienic rules, control and prevention ways of these diseases, can play an important role in reducing the economic losses and expenses of the fish farmers. Also, observance of hygienic principles, full implementation of biosecurity, proper nutrition and health management practices on farms, can be properly effective and efficient in controlling, preventing and reducing the relevant morbidity, mortality and economic losses.

Keywords: Viral diseases, Coldwater fish, IPN, IHN, and VHS.

*Corresponding author: m.zorriehzahra@areeo.ac.ir