

## بررسی طغیان‌های سپتی‌سمی خونریزی‌دهنده ویروسی (Viral Hemorrhagic Septicemia) و عوامل مؤثر بر آن در مزرعه‌های ماهی قزل‌آلای کشور در سال ۱۳۹۳: یک مطالعه مقطعی

سعید بکایی<sup>۱</sup>، کامران آبسالان‌فرد<sup>۲</sup>، محمدحسین فلاح مهرآبادی<sup>۳</sup>، حسینعلی ابراهیم‌زاده موسوی<sup>۴</sup>، امراله قاجاری<sup>۵</sup>، نسترن شهبازیان<sup>۶</sup>

<sup>۱</sup> استاد اپیدمیولوژی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشجوی PhD اپیدمیولوژی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> دانش آموخته PhD اپیدمیولوژی، مؤسسه تحقیقات واکنس و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

<sup>۴</sup> استاد، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۵</sup> دانشجوی تخصصی پاتولوژی، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های آبزیان، سازمان دامپزشکی کشور، تهران، تهران، ایران

<sup>۶</sup> دانش آموخته تخصصی بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های آبزیان، سازمان دامپزشکی کشور، تهران، ایران

نویسنده رابط: سعید بکایی، نشانی: تهران، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تلفن ۶۱۱۱۷۰۰۰، پست الکترونیک: sbokaie@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۸/۲۰؛ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۸

**مقدمه و اهداف:** پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ایران در بیش‌تر استان‌های کشور انجام می‌شود. سپتی‌سمی خونریزی‌دهنده ویروسی از جمله مهم‌ترین بیماری‌های عفونی قزل‌آلای پرورشی و تهدید جدی صنعت پرورش این ماهی است. این مطالعه با هدف بررسی طغیان‌های بیماری در مزرعه‌های پرورش ماهی قزل‌آلای کشور در سال ۱۳۹۳ و تعیین‌کننده‌های مؤثر در ورود عامل و بروز بیماری انجام شد.

**روش کار:** داده‌های مربوط با استفاده از پرسشنامه طراحی شده جمع‌آوری شد. تشخیص بیماری با علایم بالینی، شناسایی ویروس به روش Real-Time PCR و به روش Conventional-RT-PCR انجام شد.

**یافته‌ها:** در طول ۵۲ هفته مطالعه در سال ۱۳۹۳ تعداد ۱۱۴ مزرعه از ۱۱۴۰ (۱۲/۶۳ درصد) مزرعه واقع در ۷۸ زون در ۱۴ استان کشور مبتلا به بیماری گزارش شدند. در تحلیل چند متغیره نیز ورود غیر مجاز بچه ماهی (نسبت شانس=۷/۸۱؛ فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۶/۸۰-۳/۶۳)، ورود غیر مجاز ماهی بازاری (نسبت شانس=۵/۶۰؛ فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۰/۳۵-۳/۰۳) و آب رودخانه به عنوان منبع تأمین آب (نسبت شانس=۲/۴۶؛ فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۴/۰۲-۱/۵۱) به عنوان عوامل خطر احتمالی ورود عامل بیماری به مزرعه شناسایی شدند.

**نتیجه‌گیری:** رعایت اصول امنیت زیستی در مزرعه‌ها و اجرای برنامه مراقبت مبتنی بر خطر (Risk-based surveillance) بیماری بر اساس عوامل خطر شناسایی شده و ارزیابی این عوامل به صورت منظم و دوره‌ای نقش مهمی در کنترل و پیشگیری از بیماری دارد.

**واژگان کلیدی:** سپتی‌سمی خونریزی‌دهنده ویروسی (VHS)، عوامل خطر، مزرعه‌های قزل‌آلای

### مقدمه

بیماری‌های اخطارکردنی سازمان جهانی بهداشت دام (OIE) قرار گرفته است (۴). VHS برای نخستین بار در سال ۱۹۳۸ میلادی در آلمان و در سال ۱۹۴۹ در دانمارک گزارش و به نام «بیماری اکتود» نام‌گذاری شد (۵،۶). در سال ۱۹۶۳ ویروس عامل بیماری جداسازی شد (۷). اکنون بیماری در کشورهای اروپایی، آمریکای شمالی، آسیای میانه، کره و ژاپن وجود دارد. این ویروس دارای طیف میزبانی وسیعی بوده و تاکنون از بیش از ۸۰ گونه ماهیان با یا بدون علایم در اروپا و آمریکای شمالی و آسیا جدا شده است

سپتی‌سمی خونریزی‌دهنده ویروسی (VHS)، بیماری بسیار مسری که عامل آن ویروسی از خانواده رابدوویریده و جنس نووی رابدوویروس به نام ویروس VHSV<sup>۱</sup> است. این ویروس دارای ۴ ژنوتیپ اصلی و ۳ سروتیپ است (۱،۲). بیماری اغلب ماهی قزل‌آلای پرورشی را در تمام سنین مبتلا می‌کند و از مهم‌ترین بیماری‌های این ماهیان در سراسر دنیا است (۳). به دلیل ماهیت عفونی و اثرات زیان‌بار اقتصادی آن، این بیماری در فهرست

<sup>۱</sup>Viral Hemorrhagic Septicemia Virus; VHSV

همچنین گزارش موارد بیماری به شبکه‌های دامپزشکی اجباری شده است. داده‌های مربوط به تمامی مزرعه‌ها در سامانه بانک اطلاعات بیماری‌های دامی (دام، طیور و آبزیان) سازمان دامپزشکی کشور ثبت می‌شود. در این بانک اطلاعاتی که یک سامانه مکان محور است (GIS based system) علاوه بر اطلاعات عمومی مزرعه‌ها، اطلاعات جغرافیایی مزرعه‌ها، بیماری‌ها و برنامه‌های مراقبت و نمونه‌برداری و آزمایش‌ها نیز ثبت می‌شود. در این سامانه هر مزرعه دارای یک کد اختصاصی ۱۱ رقمی است. در این سامانه، تعداد ۴۸۴۴ انواع مزرعه تکثیر، پرورش، تکثیر و پرورش و تفریح و پرورش ثبت شده است.

برای جمع‌آوری داده‌های مربوط به عوامل خطر VHS بر اساس بررسی منابع (۱۳،۱۴) و نظر کارشناسان این حوزه پرسشنامه‌ای از متغیرهای مؤثر بر ورود عامل به مزرعه و بروز بیماری از جمله منبع تامین آب مزرعه، تعداد دفعه‌های ورود بچه ماهی، منبع تامین آبی (وارداتی/داخلی)، فراوری ماهی داخل مزرعه، حصارکش اطراف مزرعه، وضع پروانه بهداشتی و منبع تامین آب مزرعه طراحی شد. اطلاعات پرسشنامه در زمان مراجعه به مزرعه‌ها با مشاهده و مصاحبه با مالکان یا مسؤولان فنی مزرعه‌ها تکمیل شده و سپس در سامانه ثبت شد. در نهایت داده‌های مورد نظر از سامانه استخراج، سازماندهی و به نرم‌افزار اکسل انتقال داده شد و پس از آماده‌سازی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### ج- نمونه‌برداری و انجام آزمایش‌ها

پس از گزارش بیماری از مزرعه‌ها حداکثر تا ۴۸ ساعت، به مزرعه‌ها مراجعه و از تعداد ۱۰ ماهی تازه تلف شده یا مبتلای دارای علائم بالینی نمونه‌گیری شد. از هر ماهی نمونه‌های بافتی هدف شامل کلیه قدامی، طحال، قلب، عضله و در صورت وجود علائم عصبی، مغز ماهی مبتلا با وسایل استریل برداشت و در ظروف استریل دارای اتانول ۷۰٪ و در مجاورت یخ به آزمایشگاه ارسال شد. برای تشخیص از دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت دام در کتابچه حیوانات آبی برای طبقه‌بندی موارد مشکوک و قطعی بیماری استفاده شد (۱۵). بر همین اساس مزرعه دارای علائم بالینی مشکوک به بیماری و تست اولیه الیزا مشکوک تلقی و سپس با آزمون‌های تکمیلی RT-PCR، Real-Time PCR و جداسازی ویروس عفونت تأیید شد. آزمون‌های تکمیلی دیگر

(۸،۹). این بیماری باعث واگیری و تلفات بالا در قزل‌آلای پرورشی می‌شود (۱۰). در ایران، مستندات کمی در خصوص اپیدمیولوژی VHS موجود است. نخستین بار در سال ۱۳۸۳ با شروع پایش و مراقبت بیماری‌های قزل‌آلای پرورشی توسط سازمان دامپزشکی کشور، سپتی‌سمی خونریزی دهنده ویروسی شناسایی شد (۱۱). در سال ۱۳۸۵ بیماری به طور رسمی از طرف این سازمان به سازمان جهانی بهداشت دام گزارش شد. طغیان‌های بیماری با اقدامات کنترلی معدوم‌سازی و ضدعفونی کاهش یافت و تا بیش از ۷ سال گزارش نشد. در سال ۱۳۹۲ وقوع مجدد بیماری با ابتلا و تلفات بالا در مزرعه‌های قزل‌آلای برخی از استان‌های کشور با علائم بالینی مشابه سپتی‌سمی گزارش شد. این مطالعه با هدف بررسی اپیدمیولوژی دومین سال (۱۳۹۳) وقوع مجدد VHS و همچنین شناسایی عوامل خطر مرتبط با وقوع این بیماری در مزرعه‌های پرورش ماهی قزل‌آلای کشور انجام شد. با استفاده از رهیافت اپیدمیولوژی در مطالعه این بیماری و عوامل مؤثر در ورود ویروس عامل بیماری به مزرعه‌ها می‌توان ضمن مداخله و به‌کارگیری توصیه‌های این مطالعه به کاهش بروز بیماری و خسارت‌های اقتصادی ناشی از آن و همچنین مراقبت مؤثر بیماری دست یافت.

## روش کار

### الف- طرح مطالعه و جامعه آماری

در ایران پرورش ماهی قزل‌آلا در بیش از ۵۰۰۰ مزرعه و ۳۰ استان کشور انجام می‌شود. از نظر نوع فعالیت مزرعه‌ها در ۴ گروه مختلف قرار می‌گیرند که شامل مزرعه‌های تکثیر، تکثیر و پرورش، تفریح و پرورش (حد واسط) و مزرعه‌های پرورشی هستند. مطالعه به صورت مقطعی و در طول سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. برای توصیف و تحلیل همه‌گیری از داده‌های مربوط به ۱۴ استان استفاده شد و مزرعه‌هایی وارد مطالعه شدند، که طول این مدت، فعال و دارای ماهی حساس به بیماری بودند.

### ب- روند جمع‌آوری و ثبت داده‌ها

اجرای برنامه ملی مراقبت بیماری‌های ماهی قزل‌آلای پرورشی توسط سازمان دامپزشکی کشور از سال ۱۳۸۳ آغاز شده است. با وقوع مجدد بیماری در بهار سال ۱۳۹۲، برنامه بازنگری (۱۲) و

شده در سامانه از آب چشمه و ۲۹ درصد از آب رودخانه استفاده می‌کنند.

در طول ۴۸ هفته مطالعه در سال ۱۳۹۳ بیماری از تعداد ۱۱۴ مزرعه از ۱۱۴۰ (۱۲/۶۳٪) مزرعه واقع در ۷۸ زون در ۱۴ استان گزارش شد. فراوانی و فراوانی نسبی مزارع فعال و مبتلا بر حسب نوع مزرعه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. بیش‌ترین فراوانی نسبی مزرعه‌های مبتلا به ترتیب مربوط به استان‌های ایلام (۶۰ درصد)، کردستان (۴۱ درصد)، کهگیلویه و بویراحمد (۳۷/۵ درصد)، همدان (۲۶/۸ درصد) و چهارمحال و بختیاری (۲۲/۸ درصد) بود (جدول شماره ۲). متوسط درصد تلفات در بچه ماهیان ۳۴٪ (حداقل ۲ و حداکثر ۹۰ درصد) و در ماهی سایز بازاری ۱۸٪ (حداقل ۳ و حداکثر ۴۲ درصد) محاسبه شد. بررسی منحنی همه‌گیری نشان‌دهنده‌ی افزایش رخداد هفتگی بوده و بیان‌گر یک منحنی پیش‌رونده (propagated) بود (نمودار شماره ۲). بررسی نمودار ستونی موارد رخداد ماهیانه بیماری نشان داد بیش‌ترین رخداد بیماری در فصل بهار و پاییز اتفاق افتاده است (نمودار شماره ۱). میانه تاریخ همه‌گیری‌ها هفته ۲۵ (چارک اول = هفته ۱۰ و چارک سوم = هفته ۳۹) است.

### تجزیه و تحلیل عوامل خطر

تحلیل آماری برای بررسی عوامل خطر روی تعداد ۹۹ مزرعه مبتلا (۹٪) واقع در ۷۸ زون آلوده و ۹۹۷ مزرعه غیر مبتلا (۹۱٪) انجام شد. نتایج تحلیل تک متغیره در جدول شماره ۳ آورده شده است. متغیرهایی که در تحلیل تک متغیره دارای مقدار P کمتر از ۰/۲ بودند (ورود بچه ماهی به مزرعه، ورود ماهی سایز بازاری به مزرعه و منبع تأمین آب) وارد تحلیل چند متغیره شدند و با روش حذف رو به عقب<sup>۲</sup> تحلیل شد. در تحلیل چند متغیره نیز ورود غیر مجاز بچه ماهی (نسبت شانس = ۷/۸۱؛ فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۶/۸۰-۳/۶۳)، ورود غیر مجاز ماهی بازاری (نسبت شانس = ۵/۶۰؛ فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۳/۰۳-۱۰/۳۵) و منبع تأمین آب (آب رودخانه با نسبت شانس ۲/۴۶؛ فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱/۵۱-۴/۰۲) به عنوان عوامل خطر احتمالی ورود عامل بیماری به مزرعه شناسایی شدند (جدول شماره ۴).

شامل آسیب‌شناسی بافتی و ایمنوفلورسانس (۱) نیز برای بررسی ضایعه‌های بافتی در بافت‌ها انجام گرفت.

### د- تجزیه و تحلیل داده‌ها

#### ۱- توصیف همه‌گیری

برای توصیف داده‌ها فراوانی مزرعه‌های مبتلا بر حسب نوع واحد بیان شد. برای توصیف همه‌گیری، نمودار بروز هفتگی بیماری بر اساس گزارش تعداد مزرعه‌های مبتلا در طول سال ۱۳۹۳ و هم‌چنین منحنی فراوانی تجمعی موارد وقوع بیماری و نمودار ستونی تعداد مزرعه‌های مبتلا بر حسب ماه برای یافتن الگوی بروز فصلی احتمالی بیماری با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۰۷ تهیه شد.

#### ۲- تجزیه و تحلیل عوامل خطر

داده‌های مربوط به متغیره‌های مربوط به عوامل خطر با استفاده از آنالیز آماری تک متغیره و چند متغیره انجام شد. برای تحلیل داده‌های کیفی از آزمون مربع کای و برای بیان ارتباط بین متغیره‌های مستقل با بروز بیماری استفاده شد. برای تعیین اندازه ارتباط، نسبت شانس و فاصله اطمینان ۹۵٪ آن بیان شد.  $P \leq 0.05$  به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد (۱۷). تمام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت.

### یافته‌ها

#### توصیف همه‌گیری

در این مطالعه در مجموع داده‌های مربوط به ۱۱۴۰ مزرعه بررسی شد. این مزرعه‌ها در ۹۰۳ زون<sup>۱</sup> مختلف (چشمه، رودخانه) قرار گرفته‌اند. از مجموع ۹۰۳ زون، تعداد ۷۸ زون (۸/۶٪) آلوده بود. کم‌ترین و بیش‌ترین تعداد مزرعه آلوده در یک زون به ترتیب یک و هشت مزرعه بود (چارک اول و دوم ۱، چارک سوم ۳ مزرعه). بیش‌تر مزرعه‌های پرورشی از منابع آب شیرین داخلی (رودخانه و چشمه‌ها) استفاده می‌کنند. ۷۱ درصد مزرعه‌های ثبت

<sup>۱</sup> زون: به معنای یک ناحیه جغرافیایی مشخص که بخشی از یک یا چند استان یا کشور بوده که دارای سامانه هیدرولوژیک یکسان است و شامل بخش‌هایی از یک حوزه آبریز از سرچشمه تا یک مانع طبیعی یا مصنوعی است، که از مهاجرت آبریزان از مناطق پایین دست به بالادست جلوگیری می‌کند.

جدول شماره ۱- فراوانی مزرعه‌های بررسی شده و مبتلا به سپتی‌سمی خونریزی دهنده ویروسی در سال ۱۳۹۳ در کشور

ردیف	نوع مزرعه	تعداد مزرعه بررسی شده	تعداد (درصد) مزرعه مبتلا به VHS
۱	مزرعه تکثیر	۲۲	۳ (۱۳/۶۴٪)
۲	مزرعه تفریح و پرورش	۴۶	۳ (۶/۵۲٪)
۳	مزرعه تکثیر و پرورش	۹۲	۱۳ (۱۴/۱۳٪)
۴	مزرعه پرورش	۹۸۰	۱۲۵ (۱۲/۷۶٪)
	جمع	۱۱۴۰	۱۴۴ (۱۲/۶۳٪)

جدول شماره ۲- فراوانی و فراوانی نسبی طغیان‌های سپتی‌سمی خونریزی دهنده ویروسی ثبت شده به تفکیک استان در سال ۱۳۹۳

استان	ابتلا به VHS		جمع
	غیر مبتلا	مبتلا	
آذربایجان شرقی	۷۵ (۷/۱۵٪)	۷ (۴/۹٪)	۸۲
آذربایجان غربی	۶۱ (۶/۱۱٪)	۹ (۶/۱۲٪)	۷۰
اردبیل	۳۸ (۳/۸٪)	۳ (۲/۱۱٪)	۴۱
اصفهان	۳۳ (۳/۳٪)	۹ (۶/۱۲٪)	۴۲
البرز	۱۶ (۱/۶٪)	۱ (۰/۷٪)	۱۷
ایلام	۸ (۰/۸٪)	۱۲ (۸/۳٪)	۲۰
تهران	۱۶ (۱/۶٪)	۲ (۱/۴٪)	۱۸
خراسان جنوبی	۳ (۰/۳٪)	۰	۳
خراسان رضوی	۴۴ (۴/۴٪)	۶ (۴/۱۲٪)	۵۰
خراسان شمالی	۳۶ (۳/۶٪)	۲ (۱/۴٪)	۳۸
خوزستان	۹ (۰/۹٪)	۰	۹
زنجان	۱۰ (۱٪)	۰	۱۰
سمنان	۱۹ (۱/۹٪)	۰	۱۹
فارس	۵۵ (۵/۵٪)	۴ (۲/۸٪)	۵۹
قزوین	۴۷ (۴/۷٪)	۰	۴۷
قم	۱۳ (۱/۳٪)	۱ (۰/۷٪)	۱۴
کردستان	۳۶ (۳/۶٪)	۲۵ (۱۷/۴٪)	۶۱
کرمانشاه	۴۰ (۴٪)	۹ (۶/۱۲٪)	۴۹
کرمان جنوب	۲ (۰/۲٪)	۰	۲
کهگیلویه و بویر احمد	۲۰ (۲٪)	۱۲ (۸/۳٪)	۳۲
لرستان	۵۸ (۵/۸٪)	۴ (۲/۸٪)	۶۲
مازندران	۷۵ (۷/۵٪)	۱ (۰/۷٪)	۷۶
مرکزی	۲۱ (۲/۱٪)	۰	۲۱
همدان	۳۰ (۳٪)	۱۱ (۷/۶٪)	۴۱
یزد	۳۳ (۳/۳٪)	۰	۳۳
چهارمحال و بختیاری	۸۸ (۸/۸٪)	۲۶ (۱۸/۱٪)	۱۱۴
گلستان	۱۷ (۱/۷٪)	۰	۱۷
گیلان	۹۳ (۹/۳٪)	۰	۹۳
جمع کل	۹۹۶ (۸۷٪)	۱۴۴ (۱۳٪)	۱۱۴۰

جدول شماره ۳- تحلیل تک‌متغیره متغیرهای بررسی شده VHS در سطح مزرعه‌های قزل‌آلای کشور در سال ۱۳۹۳

مقدار P	فاصله اطمینان ۹۵٪ نسبت شانس	نسبت شانس (OR)	وضع ابتلا به VHS		رتبه‌بندی	متغیر
			تعداد مزرعه غیر مبتلا	تعداد مزرعه مبتلا		
-	-	-	۴۰۴	۲۹	* مجاز	ورود بچه ماهی به مزرعه نداشته است
۰/۰۰۱	۱/۴۰-۳/۶۰	۲/۲۴	۲۸۹	۲۱	غیر مجاز	
۰/۹۶۷	۰/۵۷-۱/۸۱	۱/۰۱	۳۴۲	۵۵	نداشته است	
۰/۲۷	۰/۲۰-۱/۵۸	۰/۵۶	۹۶۷	۱۰۱	خیر	وضع واردات
			۶۸	۴	بلی	
<۰/۰۰۱	۱/۷۰-۴/۲۱	۲/۶۴	۲۲۶	۳۹	رودخانه	منبع تأمین آب
			۶۱۳	۴۰	چشمه	
-	-	-	۲۵۳	۱۱	*مجاز	ورود ماهی سایز بازاری به مزرعه نداشته است
۰/۰۰۱	۱/۵۱-۵/۴۶	۲/۸۷	۹۲	۸	غیر مجاز	
۰/۱۴۹	۰/۷۸-۵/۱۳	۲	۶۹۰	۸۶	نداشته است	
۰/۲۴	۰/۷۶-۲/۸۸	۱/۴۸	۲۵۳	۱۲	ندارد	وجود کوره لاشه‌سوز در مزرعه
			۵۵۵	۳۹	دارد	
۰/۸۳	۰/۸۵-۱/۹۹	۱/۰۷	۲۴۹	۱۵	ندارد	وجود فنس/حصار در محیط مزرعه
			۵۵۹	۳۶	دارد	

جدول شماره ۴- تحلیل چند متغیره VHS در سطح مزرعه‌های قزل‌آلای کشور در سال ۱۳۹۳

مقدار P	فاصله اطمینان ۹۵٪ نسبت شانس	نسبت شانس (OR)	رتبه‌بندی	متغیر
<۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۳	-	مقدار ثابت
-	-	۱	مجاز	ورود ماهی سایز بازاری به مزرعه نداشته است
۰/۰۰۱	۳/۶۳-۱۶/۸۰	۷/۸۱	غیر مجاز	
۰/۰۵۶	۰/۹۶-۸/۴۴	۲/۸۷	نداشته است	
-	-	۱	مجاز	ورود بچه ماهی به مزرعه
۰/۰۰۱	۳/۰۳-۱۰/۳۵	۵/۶۰	غیر مجاز	
۰/۸۴۹	۰/۴۶-۱/۸۸	۰/۹۳	نداشته است	
<۰/۰۰۱	۱/۵۱-۴/۰۲	۲/۴۶	رودخانه چشمه	منبع تأمین آب

## بحث

آزمایشگاهی به‌هنگام، منجر به از دست دادن مورد اولیه (شاخص) و مزارع مبتلای دیگر شد و همان‌طور که از یک بیماری با ماهیت عفونی و بسیار مسری انتظار می‌رفت، پس از برقراری نظام تشخیص مناسب، بیماری از حدود ۶۰ درصد استان‌های کشور که دارای بیش‌ترین تعداد مزرعه‌های پرورش ماهی قزل‌آلا هستند؛ گزارش شد. از ویژگی‌های همه‌گیری‌شناسی بیماری، بروز فصلی به‌دلیل تغییرات دمای آب است که بر اساس منحنی همه‌گیری

با استفاده از تحلیل گزارش‌های مراقبت طغیان‌های VHS در سال ۱۳۹۳، همه‌گیری‌شناسی و عوامل خطر مرتبط با بروز مجدد بیماری در مزارع قزل‌آلای رنگین‌کمان کشور ارائه شد. بر اساس گزارش‌های سازمان دامپزشکی کشور پس از وقوع مجدد بیماری در سال ۱۳۹۲، عدم آشنایی با تابلوی بالینی بیماری و تشخیص

استفاده از آب رودخانه به‌عنوان عوامل خطر بیماری معرفی شده‌اند (۲۰). آب خروجی مزرعه مبتلا دارای تعداد زیادی از جرم‌های زنده بیماری‌زا هستند. ویروس عامل بیماری در شرایط مناسب دمایی (۱۵ درجه سانتی‌گراد) تا ۱۵ روز در آب زنده باقی می‌ماند (۲۱).

در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین ورود تخم چشم‌زده (وارداتی و داخلی) به مزرعه و فراوانی بیماری یافت نشد. در بررسی تخم‌های چشم‌زده داخلی و وارداتی در استان چهارمحال و بختیاری (۲۲) آلودگی با ویروس VHS در تخم‌های چشم‌زده تشخیص داده شد. در مطالعه دیگری، ویروس عامل بیماری از ماهی‌های بیمار مزرعه‌های درگیر جدا شد (۲۳). ویژگی‌های مولکولی ویروس جداشده از این طغیان‌ها مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه بیان‌گر شباهت این ویروس با ویروس‌های اروپایی ژنوتیپ Ia بود (۲۴). تشخیص آلودگی تخم چشم‌زده ممکن است به‌دلیل آلودگی مزرعه مورد نمونه‌برداری بوده و شباهت ویروس جدا شده از این طغیان‌ها با انواع اروپایی نیز به‌دلیل آن‌که عمده واردات تخم چشم‌زده از کشورهای اروپایی صورت می‌گیرد؛ دور از انتظار نیست. در دانمارک، ۵۰ سال پس از نخستین جداسازی ویروس و درگیری بیش از ۸۰ درصد از کل مزارع پرورش ماهی قزل‌آلا، اجرای برنامه ریشه‌کنی و مراقبت مستمر منجر به کاهش شیوع بیماری و اعلام ریشه‌کنی بیماری در سال ۲۰۱۳ میلادی شد (۱۹). بر اساس اطلاعات موجود در سازمان دامپزشکی کشور، پرورش ماهی قزل‌آلا به‌طور عمده به واردات تخم چشم‌زده از کشورهای اروپایی وابسته است. توسعه مناطق گردشگری و تعدد رستورانها در مجاورت رودخانه‌ها در کشور و تامین ماهی از منابع مختلف جهت عرضه همچنین رها سازی پساب آلوده به رودخانه‌ها و منابع آبی تامین آب مزارع باعث انتقال آلودگی به مزارع می‌شوند.

### نتیجه‌گیری

ضد عفونی آب ورودی به مزارع پرورش با شیوه‌های موثر نظیر استفاده از ازون، آبگیری غیر مستقیم از رودخانه‌ها در زونهای آلوده نظیر استفاده از چاهک‌های حریمی، استفاده از الکتروشوک به منظور دور کردن ماهیان وحشی از منطقه آبگیری از شیوه‌های موثر کاهش احتمال ورود عامل بیماری به مزرعه می‌باشد. اجرای برنامه مراقبت مبتنی بر خطر<sup>۲</sup> بیماری و طبقه‌بندی مزرعه‌ها بر

اگرچه موارد بیماری در طول سال گزارش شده است، اما بیش‌ترین موارد بیماری (۹۰٪ موارد وقوع) در فصل‌های بهار و پاییز وقوع یافته است. در کشور دانمارک نیز بیش‌تر طغیان‌های بیماری عمدتاً در بهار و اوایل تابستان گزارش شده که علت آن تغییرات و افزایش ناگهانی دمای آب، عامل تنش و ضعیف شدن ایمنی ماهی عنوان شده است (۳). در مطالعه‌ای که توسط اولسن انجام گرفت، به نقش عواملی مانند شرایط دمایی آب شامل تغییرات دما در بهار و پاییز همراه با تغییرات سیستم ایمنی ماهیان و سایر عوامل مستعد کنند نظیر تغذیه نامناسب و عفونت‌های انگلی در رخداد بیماری اشاره شده است (۱۸). سازمان جهانی بهداشت دام نیز به بیش‌ترین رخداد بیماری در دمای ۴-۱۴ درجه سانتی‌گراد آب اشاره می‌کند (۴).

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد از بین عوامل مرتبط با وقوع بیماری منبع تامین آب (آب رودخانه)، ورود آبی زنده (بچه ماهی و ماهی بازاری) به‌صورت غیر مجاز به عنوان عوامل خطر احتمالی ورود عامل به مزرعه هستند. وجود آلودگی در مزرعه‌های پرورش ماهی قزل‌آلا در زمان اجرای برنامه ملی مراقبت سازمان دامپزشکی کشور از نمونه‌های اخذ شده در برخی مزرعه‌های بدون تابلوی بالینی بیماری تأیید شده است. در مطالعه‌ای که در اروپا برای ارزیابی مدلی برای کمی‌سازی خطر ورود و وقوع بیماری در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلا بر اساس نظر خبرگان انجام شد، نقل و انتقال آبی زنده و مواجهه از طریق آب به‌عنوان عوامل خطر اختصاصی در مزرعه‌های پرورش ماهی قزل‌آلا با بیش‌ترین وزن برآورد احتمالی<sup>۱</sup> انتقال عامل VHS در نظر گرفته شده‌اند (۱۹). در مطالعه دیگر به نقش نقل و انتقال ماهی و تخم چشم‌زده، تماس با آب آلوده و عدم رعایت اصول امنیت زیستی در ورود عامل به مزرعه و بروز بیماری مؤثر تأکید شده است (۲۰). ورود آبی از مناطق آلوده یا مزرعه‌هایی که بیماری را به‌صورت تحت بالینی دارند؛ منجر به ورود ویروس عامل بیماری به مزرعه و بروز علائم در شرایط مساعد می‌شود. توزیع گسترده مکانی و زمانی رخدادهای بیماری و عدم ارتباط زون‌های پرورش در کشور، دخالت فعالیت‌های انسانی از جمله نقل و انتقال بدون ضابطه آبی زنده را محتمل می‌نماید. ورود آبی جدید به‌عنوان جمعیت حساس به مزرعه آلوده نیز منجر به بروز بیماری در آن‌ها می‌شود. در مطالعه بررسی عوامل خطر زمانی-مکانی مرتبط با وقوع VHS در مزارع ماهی قزل‌آلا در دانمارک نیز قرار گرفتن در زون آلوده و

<sup>۲</sup> Risk-based surveillance

<sup>۱</sup> Likelihood estimate

هم‌چنین کنترل بیماری و جلوگیری از بقای عامل در مزرعه و بروز مجدد بیماری در دوره‌های پرورش بعدی بسیار مهم است.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه به‌عنوان پایان‌نامه دانشجویی در مقطع PhD با همکاری دفتر مدیریت و بهداشت بیماری‌های آبزیان سازمان دامپزشکی کشور انجام گرفت. نویسندگان از مدیریت دفتر سازمان و مسئولان دفتر آبزیان اداره‌های کل دامپزشکی استان‌ها تشکر و قدردانی می‌نمایند.

اساس عوامل خطر شناسایی شده به‌ویژه در منطقه‌های دارای خطر آلودگی بالا نقش مهمی در انجام مراقبت در کنترل این بیماری دارد. رعایت شیوه نامه‌ها و دستورالعمل‌های بهداشتی سازمان دامپزشکی در خصوص خرید و واردات تخم چشم‌زده از کشورهای عاری از بیماری، حمل‌ونقل نظامند آبزیان زنده در کشور، برنامه‌های قرنطینه و کنترل بیماری در مزرعه‌های مبتلا، تهیه بچه عاری از عفونت برای پرورش، نقش مهمی در کنترل و پیشگیری از بیماری دارند. عوامل خطر بیماری باید به صورت منظم و دوره‌ای بررسی شوند تا ضمن ارزیابی یافته‌های اجرای برنامه، موارد جدید نیز شناسایی و تحت کنترل قرار گیرند. رعایت اصول امنیت زیستی و اجرای مدیریت بهداشتی صحیح برای جلوگیری از ورود عامل و

### منابع

1. WALKER PJ, BENMANSOUR A, DIETZGEN R ET AL. (2000). Family Rhabdoviridae. In: Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, et al, eds. 563–83.
2. Tordo N, Benmansour A, Calisher C, Dietzgen RG, Fang RX, Jackson AO, Kurath G, Nadin-Davis S, Tesh RB, Walker PJ, 2005. Family Rhabdoviridae. In: Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA (Eds.), Virus Taxonomy: Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier/Academic Press, London, 623–53.
3. Olesen NJ, Korsholm H. Control measures for viral diseases in aquaculture: eradication of VHS and IHN. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 1997; 17: 229-33.
4. OIE (World Organisation for Animal Health). Aquatic animal health code, 15<sup>th</sup> edn. OIE, Paris. Available at [www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-code/access-online/](http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-code/access-online/) (accessed 1 Jun 2015).
5. Rasmussen CJ. A biological study of the Egtved disease (InuL). Ann NY. Acad. Sci. 1965; 126: 427–60.
6. Jørgensen PEV. Egtved virus: the susceptibility of brown trout and rainbowtrout to eight virus isolates and the significance of the findings for the VHS control, In: Ahne W. (Ed.), Fish Diseases: Third COPRAQ Session. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1980; 3–7.
7. Jensen MH. (1965), Research on the virus of egtved disease. Annals of the New York Academy of Science, 126: 422-6. Doi:10.1111/j.1749.6632.1965.tb14292.x.
8. Meyers TR, Winton JR. Viral hemorrhagic septicemia virus in North America. Ann. Rev. Fish Dis. 1995; 5: 3–24.
9. Skall HF, Olesen NJ, Møllgaard S. Viral haemorrhagic septicaemia virus in marine fish and its implications for fish farming - a review. J. Fish Dis. 2005; 28: 509-29.
10. Olesen NJ, Kahns S, Skall HF, Nicolajsen N. Survey and diagnosis of listed fish diseases in the European Community 2007. Report from the 12<sup>th</sup> Annual Meeting of the National Reference Laboratories for fish diseases, 17-20 June 2008, Aarhus, Denmark. Available at [www.eurl-fish.eu/](http://www.eurl-fish.eu/) (accessed 11 October 2013).
11. Haghghi Khiabani Asl A, Bandehpour M, Sharifnia Z, Kazemi B. Diagnosis of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in Iranian rainbow trout aquaculture by pathology and molecular techniques. Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 2008; 28: 170–5.
12. Iranian Veterinary Organization. Aquatic animal health section. National surveillance for VHS in Rainbow Trout farming systems. Access online from <http://aqdcs.ivo.ir>
13. Oidtmann BC, Crane CN, Thrush MA, Hill BJ, Peeler EJ. Ranking freshwater fish farms for the risk of pathogen introduction and spread. Prev Vet Med. 2011; 15; 102: 329-40.
14. VHSV Expert Panel and Working Group, Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV IVb) risk factors and association measures derived by expert panel, Preventive Veterinary Medicine, 2010; 94: 128-39.
15. OIE, 2014. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, 6<sup>th</sup> edn. World Organisation for Animal Health (OIE), Paris <http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online/>
16. Haghghi Khiabani Asl A. Histopathology and other methods for detection of viral hemorrhagic septicemia (VHS) in some Iranian rainbow trout farms. Recent. Adv. Fish Farm. 2011; 4: 95–106.
17. Wagner B, Gardner I, Cameron A, Doherr MG. Statistical Analysis Of Data From Surveys, Monitoring, And Surveillance Systems. In: Animal Disease Surveillance and Survey Systems, Methods and Applications. Salman, M.O. ( 1st ed.). Blackwell Publishing. Iowa. USA. 2003; 67-86.
18. Olesen NJ. Sanitation of viral haemorrhagic septicaemia (VHS). Journal of Applied Ichthyology. 1998; 14: 173– 77.
19. Oidtmann BC, Peeler EJ, Thrush MA, Cameron AR, Reese RA, Pearce FM, et al. Expert consultation on risk factors for introduction of infectious pathogens into fish farms. Preventive Veterinary Medicine. 2014; 115: 238-54.
20. Bang Jensen B, Ersbøll AK, Korsholm H, Skall HF, Olesen NJ. Spatio-temporal risk factors for viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in Danish aquaculture. Diseases of Aquatic Organisms. 2014; 109: 87-97.
21. Hawley LM, Garver KA. Stability of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) in freshwater and seawater at various temperatures. Dis. Aquat. Org. 2008; 82: 171–78.
22. Fadaeifard F, Raissy M, Moumeni M, Faghani M. Evaluation of infectious hematopoietic necrosis, infectious pancreatic necrosis and viral hemorrhagic septicemia viruses in Iranian and imported rainbow trout eggs: A cross sectional study. Journal of Veterinary Research. 2013; 67: 393-99.
23. Ahmadvand S, Soltani M, Mardani K, Shokrpour S, Rahmati-Holasoo H, Mokhtari A, et al. Isolation and identification of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran (2016), Acta

- Tropica. 2016; 156: 30-6.
24. Ghorani M, Adel M, Dadar M, Langeroudi AG, Kamyabi R, Vakharia VN, et al. Phylogenetic analysis of the glycoprotein gene of viral hemorrhagic septicemia virus from Iranian trout farms points towards a common European origin. *Vet Microbiol.* 2016; 15: 97-101.

# Investigation of Outbreaks of Viral Hemorrhagic Septicemia and Associated Risk Factors in Rainbow Trout Farms in Iran, 2014

Bokaie S<sup>1</sup>, Absalanfard K<sup>2</sup>, Fallah Mehrabadi MH<sup>3</sup>, Ebrahimzadeh Mosavi H<sup>4</sup>, Ghajari A<sup>5</sup>, Shahbazian N<sup>6</sup>

1- PhD in Epidemiology, Department of Food Hygiene & Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Food Hygiene & Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

4- Professor, Department of Aquatic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

5- PhD Student, Department of Health and Management of Aquatic Diseases, Iranian Veterinary Organization, Tehran, Iran

6- PhD, Department of Health and Management of Aquatic Diseases, Iranian Veterinary Organization, Tehran, Iran

**Corresponding author:** Bokaie S, sbokaie@ut.ac.ir

(Received 10 November 2016; Accepted 6 February 2017)

**Background and Objectives:** In Iran, rainbow trout farms exist in almost all provinces. Viral hemorrhagic septicemia is one of the most important infectious diseases of the rainbow trout which is a serious threat to the farming industry. This study was conducted to investigate outbreaks in 2014 and identify important determinants of the agent entry and disease occurrence in the farms.

**Methods:** Data were collected using a structured questionnaire and the disease was detected based on clinical signs and laboratory investigations by PCR methods.

**Results:** During 52 weeks of the study in 2014, 114 of 1140 (12.63%) farms were affected within 78 zones in 14 provinces. In multivariable analysis, illegal entrance of fries (odds ratio: 7.81, 95% CI: 3.63-16.8), illegal entrance of fish (odds ratio: 5.60, 95% CI: 3.03-10.35) and use of river as the water supply (odds ratio: 2.46, 95% CI: 1.51-4.02) were detected as risk factors associated with virus entry and disease outbreak in farms.

**Conclusion:** Observing biosecurity measures in the farm level, applying risk-based surveillance based on known risk factors, and assessing these factors on a regular basis are important in prevention and control of VHS.

**Keywords:** Viral hemorrhagic septicemia (VHS), Risk factors, Rainbow trout farms