

بررسی علائم بالینی و کالبد گشائی (پاتولوژی ظاهری) بیماری سپتی سمی

خونریزی دهنده ویروسی (VHS) در ماهیان قزل آلائی رنگین کمان

(*Oncorhynchus mykiss*) در ایران (۱۳۹۲-۱۳۹۴)

محمد جواد قراگزلو^۱، امراله قاجاری^{۱*}، کاظم عبدی^۲، پروانه صیفوری^۳، محمد حسین فلاح مهربادی^۳، نسترن شهبازیان^۲

* amrellahhajari1352@gmail.com

۱- گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- سازمان دامپزشکی کشور، تهران، ایران

۳- موسسه تحقیقات سرم و واکسن سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۵

چکیده

بیماری سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی (Viral Hemorrhagic Septicemia) VHS یک بیماری ویروسی حاد بوده که باعث تلفات و مرگ و میر گسترده در بسیاری از گونه‌های ماهیان از جمله قزل آلائی پرورشی می شود. این بیماری دارای سه فرم کلاسیک حاد، مزمن و عصبی بوده که علائم بالینی و کالبد گشائی متنوعی را نشان می دهد. به منظور یافتن چهره و الگوی پاتولوژی ظاهری بیماری در ایران در خلال سال های ۱۳۹۲ لغایت ۱۳۹۴ این مطالعه بر روی ۲۶۴۱ مزرعه تکثیر، تکثیر و پرورش و پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان صورت گرفت. در این مطالعه علائم مشاهده شده به ۵ گروه (گروه ۱ با علائم عمومی سپتی سمی، گروه ۲ با علائم هموراژیک، گروه ۳ با علائم عصبی، گروه ۴ با علائم کم خونی و گروه ۵ با میزان تلفات بالا) تقسیم بندی گردیدند. تمامی مزارع درگیر بیماری بازدید شد. علائم بالینی و کالبد گشائی مطابق فرم های طراحی شده در سامانه پایش و مراقبت از بیماری های سازمان دامپزشکی کشور ثبت گردید و نتایج به دست آمده در سال های مختلف هم به صورت توصیفی و هم به صورت تحلیلی (تحلیل داده های کیفی از آزمون مربع کای) مورد ارزیابی قرار گرفتند. بیشترین علائم ظاهری ثبت شده در سال ۹۲ مربوط به گروه تلفات، در سال ۹۳ گروه علائم عمومی و در سال ۹۴ نیز گروه علائم عمومی می باشند. طی سه سال، در مجموع کمترین علامت بالینی مشاهده شده گروه علائم کم خونی بوده و بیشترین گروه مشاهده شده گروه علائم عمومی بود. با توجه به مطالعه صورت گرفته می توان نتیجه گیری کرد که روند بیماری VHS در ایران از فرم حاد با الگوی تلفات بالا به فرم مزمن تغییر یافته است. از طرفی با توجه به غالب بودن گروه علائم عمومی لازم است کلینیسین ها در هنگام برخورد با هر گونه علائم عمومی وجود بیماری VHS را در نظر داشته باشند.

کلمات کلیدی: سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی، ماهیان قزل آلا، علائم بالینی و کالبد گشایی

* نویسنده مسئول

مقدمه

بیماری سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی VHS (Viral Hemorrhagic Septicemia) یک بیماری ویروسی حاد بوده که باعث تلفات و مرگ و میر گسترده در قزل آلای پرورشی می شود. این بیماری، جزء بیماری-های اخطار کردنی سازمان بهداشت جهانی دام بوده و به نوعی بیماری اول صنعت پرورش ماهی قزل آلا در دنیا می باشد (OIE, 2016). بیماری در تمام سنین دیده می شود. معمولاً ماهیان جوانتر، حساس تر هستند. عموماً ماهیان مسنی که سابقه مواجه با ویروس را نداشته اند، در صورت ابتلا دچار تلفات شدید می شوند. ولی وزنهای ۳-۰ گرم بسیار حساس تر هستند و مرگ و میر در آنها تا ۱۰۰ درصد می رسد (OIE, 2016). بیشترین رخداد بیماری در دمای بین ۴ تا ۱۴ درجه سانتی گراد است و در دمای ۹-۱۲ درجه سانتی گراد بیشترین تلفات رخ می دهد. اگرچه رشد ویروس در دمای ۲۵ درجه نیز ثبت شده است. میزان مرگ و میر بین ۸۰ تا ۱۰۰ درصد در ماهیان جوان و ۵۰-۱۰ درصد در ماهیان مسن تر می باشد. علائم بیماری در ماهیان شامل تیرگی رنگ بدن، اگزوفتالمی یا بیرون زدگی چشمها و آسیت یا آب آوردگی و انبساط شکم و خونریزی وسیع می باشد. بیماری ممکن است به سه فرم فوق حاد، مزمن و عصبی (تأخیری) ظاهر شود. اما، اغلب در ماهیان آب شیرین به سه فرم حاد، مزمن و عصبی دیده می شود. میزان مرگ و میر به بسیاری از شرایط فیزیولوژیکی و محیطی بستگی دارد که بسیاری از آنها تعیین نشده اند. بسیاری از عوامل، حساسیت به بیماری را تحت تأثیر قرار می دهند (Noga, 2011; OIE, 2016). در قزل آلای رنگین کمان بنظر می رسد که تنوع ژنتیکی و سن مهم باشد. سایر عوامل مستعد کننده بیماری شامل تراکم بالا، وضعیت فیزیکی شیمیایی آب، وضعیت بهداشتی نامناسب آب، استفاده از آب رودخانه، تراکم زیاد مزارع در منطقه، استفاده از آب خروجی سایر مزارع، عدم رعایت امنیت زیستی مزارع مانند خرید تخم چشم زده و بچه ماهی از شرکت ها و مزارع غیر مجاز، عدم وجود فنس کشی، عدم وجود حوضچه ضد عفونی نفر و خودرو، ورود افراد غیر مسئول و بازدید کننده به مزارع، عدم ضد عفونی آب ورودی و... می باشد (Oidtmann et al., 2014).

پرورش ماهی قزل آلا یکی از مهمترین صنایع آبی پروری در بسیاری از مناطق کشور می باشد (Sepahdari et al., 2014; Ganjor et al., 2015) و با توجه به

علائم کلینیکی متنوع و گسترده و فرم های متفاوت این بیماری و همچنین عوامل متعدد موثر بر شدت و حدت بیماری، دست یابی به یک الگو و تابلو مشخص بیماری سخت می باشد. در این مطالعه که بر اساس داده های ثبت شده از رخداد بیماری در سال های ۱۳۹۲ لغایت ۱۳۹۴ در مزارع تکثیر و پرورش کشور انجام گرفته، علائم بالینی و کالبد گشایی این بیماری طی این مدت با هدف دست یافتن به الگوی تظاهرات بالینی و کالبد گشایی این بیماری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

الف- طراحی مطالعه و جامعه آماری: این مطالعه به صورت مقطعی و از ابتدای سال ۱۳۹۲ تا انتهای سال ۱۳۹۴ در سراسر کشور انجام گرفت. جمعیت هدف در این مطالعه، مزارع قزل آلای کشور (مزارع تکثیر، تکثیر و پرورش و مزارع پرورش) می باشد که اطلاعات آنها در سامانه بانک اطلاعات بیماریهای دامی سازمان دامپزشکی کشور (GIS) ثبت شده است.

ب- طراحی پرسشنامه و جمع آوری داده ها: در سازمان دامپزشکی کشور در طی سالهای گذشته، بانک اطلاعاتی بیماریهای دامی شامل دام، طیور و آبزیان که یک سامانه مکان محور می باشد، طراحی شده است. در این بانکهای اطلاعاتی، داده های عمومی مزارع مانند نوع مزرعه، ظرفیت، موقعیت جغرافیایی، تعداد استخر و سایر موارد به عنوان اطلاعات پایه ثبت شده است (Fallah et al., 2016). همچنین اطلاعات بیماریهای آبزیان و روشهای انجام آزمایش و نمونه برداری و نتایج آزمایشگاهی ثبت شده است. داده های مربوط به برنامه های پایش و مراقبت بیماریها و همچنین داده های مربوط به رخداد بیماریها نیز در این سامانه ثبت می شود. جهت جمع آوری داده های مزارع مبتلا، پرسشنامه ای برای متغیرهای مستقل و زمینه ای در مورد علائم بالینی و کالبد گشایی و سایر اطلاعات مورد نیاز از مزارع بر اساس مرور مقالات تهیه شد. در پرسشنامه طراحی شده، علائم بالینی در ۵ گروه علائم سپتی سمی عمومی، علائم هموراژیک، علائم عصبی، تلفات و علائم کم خونی طبقه بندی شدند. پرسشنامه در زمان مراجعه به واحدها و مشاهده مستقیم علائم بالینی و علائم کالبد گشایی تکمیل گردید و سپس در سامانه ثبت شد.

ج- روند انجام آزمایشات: پس از دریافت گزارش بیماری از مزارع، با مراجعه به مزرعه ضمن بازدید و

خونریزی سطح بدن، خونریزی پتشی در احشا، خونریزی پتشی در چربی بین زواید باب المعده، خونریزی پتشی در صفاق، خونریزی پتشی در کیسه شنا، خونریزی در پایه چشم، خونریزی در ساقه دم و طحال قرمز تیره)، علائم عصبی (شامل شنای دایره‌ای و شنای غیر عادی)، تلفات (شامل افزایش ناگهانی و پیشرونده تلفات و تلفات بالا) و علائم کم خونی (شامل کبد رنگ پریده و رنگ پریدگی آبشش) تقسیم بندی گردیدند.

برای تحلیل داده‌های کیفی از آزمون مربع کای برای استفاده شد. $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 22 انجام گرفت.

نتایج

بررسی وضعیت بالینی بیماری از هر مزرعه ۵ ماهی تازه تلف شده و یا دارای علائم اخذ و بر اساس اصول استاندارد کالبد گشائی صورت گرفت و نمونه برداری از بافت های هدف انجام شد. نمونه ها مطابق دستورالعمل سازمان دامپزشکی به آزمایشگاه مرجع بیماری های آبزیان سازمان دامپزشکی ارسال و پس از انجام آزمایشات به طریق RT-PCR و QRT-PCR پاسخ نیز در سامانه ثبت گردید (Noga, 2011; OIE, 2016).

۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت توصیف داده‌ها، فراوانی و فراوانی نسبی مزارع مبتلا و علائم بالینی آن‌ها بیان شد. جهت توصیف علائم بالینی بیماری، این علائم به ۵ گروه علائم سپتی سمی عمومی (شامل آسیت، اگزوفتالمی یک طرفه و دو طرفه، تیرگی پوست، بی اشتهايي نسبی و کامل و بی حالی)، علائم هموراژیک (خونریزی در قاعده باله‌ها، خونریزی در کره چشم،

جدول ۱: فراوانی علائم بالینی و کالبدگشایی مشاهده شده از بیماری سپتی سمی خونریزی دهنده عفونی در مزارع قزل آلاي کشور به تفکیک علامت و سال

Table 1: Frequency of clinical and necropsy sign of VHS in rainbow trout farms by year and sign

مجموع	تعداد مزرعه دارای علائم			گزارش علائم بیماری
	سال ۱۳۹۴	سال ۱۳۹۳	سال ۱۳۹۲	
۱۹۱	۱۹	۴۷	۱۲۵	آسیت یا آب آوردگی شکم
۲۶۹	۳۱	۵۷	۱۸۱	افزایش ناگهانی و پیشرونده تلفات
۱۱۱	۱۶	۴۳	۵۲	اگزوفتالمی (بیرون زدگی چشم) یکطرفی
۳۸۱	۵۸	۱۱۵	۲۰۸	اگزوفتالمی (بیرون زدگی چشم) دو طرفه
۱۷۲	۳۸	۶۶	۶۸	بی اشتهايي نسبی
۷۰	۱۱	۲۶	۳۳	بی اشتهايي کامل
۱۷۴	۳۶	۵۵	۸۳	بی حالی
۳۴۷	۳۷	۷۵	۲۳۵	تلفات بالا
۳۳۲	۴۵	۹۷	۱۹۰	تیرگی پوست کل بدن
۱۸۶	۲۱	۴۹	۱۱۶	خونریزی در قاعده باله ها
۱۹۵	۲۶	۵۶	۱۱۳	خونریزی در چشم
۱۴۷	۲۳	۳۹	۸۵	خونریزی سطح بدن
۳۱۶	۳۷	۷۸	۲۰۱	خونریزی پتشی در احشا
۱۴۳	۱۷	۳۸	۸۸	خونریزی پتشی در چربی بین زواید باب المعده
۱۲۱	۱۰	۲۶	۸۵	خونریزی پتشی در صفاق
۲۶۹	۲۷	۴۷	۱۹۵	خونریزی پتشی در عضلات
۱۷۷	۱۹	۳۹	۱۱۹	خونریزی پتشی در کیسه شنا
۲۰	۱۸	۲	۰	خونریزی در پایه چشم
۱۳	۱۳	۰	۰	خونریزی در ساقه دم
۲۹۱	۴۲	۶۳	۱۸۶	رنگ پریدگی آبشش
۲۳۲	۲۶	۵۶	۱۵۰	سپتی سمی
۳۳۳	۲۹	۸۵	۲۱۹	شنای دایره ای

ادامه جدول ۱:				
۱۷۳	۵۸	۴۰	۲۷۱	شنای غیر عادی
۱۲۰	۳۷	۲۱	۱۷۸	طحال قرمز تیره
۱۵۵	۴۸	۳۸	۲۴۱	کبد رنگ پریده

عصبی، ۷۵ مزرعه تلفات بالا و در ۶۳ مزرعه علائم کم خونی مشاهده شد. از بین علائم بالینی، اگزوفتالمی دو طرفی، تیرگی کل پوست بدن، شنای دایره‌ای و تلفات بالا دارای بیشترین فراوانی بودند (جدول ۱).

نتایج توصیفی سال ۹۴: در سال ۱۳۹۴ داده‌های مربوط به ۱۳۹۳ مزرعه فعال مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این سال تعداد ۶۸ مزرعه مبتلا به سپتی سمی خونریزی دهنده بودند (۴/۸۸٪) و ۲۰ مزرعه با تایید آزمایشگاهی همراه بودند (۲۹/۴۱٪). بر اساس نتایج در ۵۸ مزرعه علائم عمومی، ۴۵ مزرعه علائم خونریزی، ۴۰ مزرعه علائم عصبی، ۳۷ مزرعه تلفات بالا و در ۴۲ مزرعه علائم کم خونی مشاهده شد. از بین علائم بالینی، اگزوفتالمی دو طرفی، تیرگی کل پوست بدن، رنگ پریدگی آبشش و شنای غیر عادی دارای بیشترین فراوانی بودند (جدول ۱). فراوانی علائم مشاهده شده به تفکیک علامت و سال در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتایج توصیفی سال ۹۲: در این مطالعه در سال ۱۳۹۲ داده‌های تعداد ۲۶۴۱ مزرعه فعال مورد بررسی قرار گرفت. در این سال تعداد ۳۵۵ مزرعه مبتلا به سپتی سمی خونریزی دهنده بودند (۱۳/۴۴٪) که ۸۰ مزرعه با تایید آزمایشگاهی همراه بودند (۲۲/۵۳٪). بر اساس نتایج در ۲۰۸ مزرعه علائم سپتی سمی عمومی، ۲۰۱ مزرعه علائم خونریزی، ۲۱۹ مزرعه علائم عصبی، ۲۳۵ مزرعه تلفات بالا و در ۱۸۶ مزرعه علائم کم خونی مشاهده شد. از بین علائم بالینی، تلفات بالا، شنای دایره‌ای و اگزوفتالمی دو طرفی دارای بیشترین فراوانی بوده است (جدول ۱).

نتایج توصیفی سال ۹۳: در سال ۱۳۹۳ داده‌های مربوط به ۱۰۸۳ مزرعه فعال مورد بررسی قرار گرفتند که تعداد ۱۴۵ مزرعه مبتلا به سپتی سمی خونریزی دهنده بودند (۱۳/۳۹٪) و ۵ مزرعه با تایید آزمایشگاهی همراه بودند (۳۶/۵۵٪). بر اساس نتایج در ۱۱۵ مزرعه علائم عمومی، ۹۷ مزرعه علائم خونریزی، ۸۵ مزرعه علائم

جدول ۲: فراوانی و فراوانی نسبی مزارع مبتلا به بیماری VHS در مزارع قزل آلا به تفکیک سال

Table 2: Frequency and relative frequency of infected rainbow trout farms due to VHS by year

متغیر	سال نمونه‌برداری	تعداد مزارع فعال	تعداد مزارع مبتلا (درصد مزارع مبتلا)	p-Value
سال	۱۳۹۲	۲۶۴۱	۳۵۵ (۱۳/۴)	<0/001
	۱۳۹۳	۱۰۸۳	۱۴۵ (۱۳/۴)	
	۱۳۹۴	۱۳۹۳	۶۸ (۴/۹)	
مجموع	-	۵۱۱۷	۵۶۸ (۱۱/۱)	

نگردید ($p > 0/05$). در این سال فراوانی نسبی مزارع گروه با تلفات بالا از نظر آماری به طور معنی داری بیشتر از فراوانی نسبی مزارع گروه علائم عمومی بود ($p < 0/05$). در سال ۱۳۹۳ فراوانی نسبی مزارع گروه علائم سپتی سمی عمومی به طور معنی داری بیشتر از فراوانی نسبی مزارع گروه سایر علائم بود ($p < 0/05$). در سال ۱۳۹۴ نیز گروه علائم عمومی سپتی سمی به طور معنی داری فراوانی نسبی بیشتری نسبت به گروه سایر علائم داشت ($p < 0/05$). در مجموع سه سال نیز از بین گروه

نتایج تحلیلی: در این مطالعه بین درصد مزارع مبتلا در سال‌های مختلف از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد، به گونه‌ای که در سالهای ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ نسبت مزارع آلوده به طور معنی‌داری بیشتر از سال ۱۳۹۴ می‌باشد ($p < 0/05$) اما بین سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ اختلاف آماری معنی‌داری بین این نسبت وجود ندارد ($p > 0/05$). در سال ۱۳۹۲ بین علائم گروه سپتی سمی عمومی با گروه خونریزی دهنده، گروه عصبی و گروه کم خونی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده

علائم بالینی مشاهده شده نسبت علائم کم خونی از لحاظ آماری نسبت به سایر علائم کمترین فراوانی را داشته ($P < 0.05$) ولی بین سایر گروههای علائم اختلاف آماری معنی داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳: آنالیز تک متغیره علائم بالینی و کالبدگشایی بیماری VHS در مزارع قزل آلا به تفکیک سال و علائم بر اساس آزمون مربع کای

Table 3: Univariable analysis of clinical and necropsy sign of VHS in rainbow trout by on yaer and sign (Chi-square test)

مجموع	p-Value			مجموع (درصد)	تعداد مزارع مبتلا			*گروه علائم
	۱۳۹۴	۱۳۹۳	۱۳۹۲		۱۳۹۴ (۶۸)	۱۳۹۳ (۱۴۵)	۱۳۹۲ (**۳۵۵)	
-	-	-	-	۳۸۱(۶۷/۱)	۵۸(۸۵/۳)	۱۱۵(۷۹/۳)	۲۰۸(۵۸/۶)	عمومی
۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۱۷	۰/۵۹۵	۳۴۳(۶۰/۶)	۴۵(۶۶/۲)	۹۷(۶۶/۹)	۲۰۱(۵۶/۶)	هموراژیک
۰/۰۲۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱>	۰/۳۹۹	۳۴۴(۶۱/۱)	۴۰(۵۸/۸)	۸۵(۵۸/۶)	۲۱۹(۶۱/۷)	عصبی
۰/۰۳۵	۰/۰۰۱>	۰/۰۰۱>	۰/۰۳۶	۳۴۷(۶۱/۱)	۳۷(۵۴/۴)	۷۵(۵۱/۷)	۲۳۵(۶۶/۲)	تلفات
۰/۰۰۱>	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱>	۰/۰۹۷	۲۹۱(۵۱/۲)	۴۲(۶۱/۸)	۶۳(۴۳/۴)	۱۸۶(۵۲/۴)	کم خونی

*علائم عمومی پایه قرار داده شده و بقیه با آن مقایسه شده است

** تعداد مزارع مبتلا

بحث

برداری و کمک به تشخیص صحیح ضروری است. در بسیاری از موارد، الگوهای متعدد بیماری می تواند نشان دهنده روند تکاملی بیماری باشد (Rose, 2008). در این مطالعه، الگوی ظاهری بیماری خونریزی دهنده ویروسی ماهیان قزل آلا در طی سه سال بعد از رخداد بیماری در ایران (سال های ۱۳۹۲-۱۳۹۴) مورد بررسی قرار گرفت. این مدل از مطالعه در بیماری های آبیان منحصر به فرد می باشد، اگرچه در مورد سایر دام ها چنین مطالعاتی وجود دارد. در مطالعات مشابهی که در سالهای ۲۰۱۱ و ۲۰۱۲ بر روی تظاهرات بالینی رخداد بیماری تب برفکی (FMD) انجام گرفت، فراوانی علائم کلینیکی در دامهای مبتلا بررسی شد. محققین در مطالعه مذکور نتیجه گیری کردند که این کار در ایجاد هوشیاری عمومی بویژه بین کارگران مزارع و در نتیجه ردیابی فوری رخداد بیماری FMD موثر می باشد (Yoon et al., 2012).

از آنجائیکه علائم ظاهری مشاهده شده در بیماری های ماهی دارای شباهت های زیادی می باشند، یافتن علائم اختصاصی بیماری کمک فراوانی در تشخیص اولیه و هدایت کلینیسیسین و نمونه بردار جهت انتخاب نمونه مناسب می نماید. با توجه به اینکه بیماری VHS دارای تظاهرات بالینی متعددی می باشد، در این مطالعه علائم بالینی و کالبد گشایی به ۵ گروه تقسیم بندی گردید که

ویروس ها معمولا برای حفظ بقا و گسترش خود از دو استراتژی "زدن و فرار کردن" یا "زدن و ماندن" استفاده می کنند. مشابه سایر ویروس های حاد سیتولیتیک که باعث مرگ و میر بالا می شوند، رابدوویروس های ماهی به طور مشخصی از استراتژی "زدن و فرار کردن" استفاده می کنند. بیماری های ناشی از این ویروس ها به طور رایجی چهره سپتی سمی خونریزی دهنده دارند که ارگان های مختلفی را درگیر کرده و باعث بروز علائم کلینیکی عمومی نظیر تیرگی پوست، آسیت و بیرون زدگی چشم ها می شوند، لیکن فرم های مختلفی از بیماری هم برای IHN (فرم بافت خون ساز و فرم عصبی) و VHS (فرم حاد، مزمن و عصبی) در قزل آلا رنگین کمان توصیف شده است (Wolf, 1998). ایجاد حامل های عفونی بدون علائم هم برای VHS و هم IHN گزارش شده است که اغلب ولی نه به صورت همیشگی همراه با درگیری سیستم عصبی می باشند. مطالعات اندکی در خصوص تغییرات تظاهرات بالینی این ویروس ها وجود دارد زیرا اغلب مطالعات آزمایشگاهی از مدل های حاد بدلیل داشتن دوز بالای ویروس برای ایجاد مرگ و میر استفاده می کنند (Purcell et al., 2012). از طرفی دانستن چهره ظاهری بیماری ها برای فهم دقیق آسیب شناسی بیماری ها، انتخاب دقیق بافت ماهی برای نمونه

مقاومت ماهیان موجود در مقابل بیماری باشد. در خصوص تغییر حدت ویروس یا افزایش مقاومت ماهیان مدارک مستدلی وجود ندارد. در خصوص حدت ژنوتیپ-های مختلف در دو مطالعه بر روی ماهیان آمریکا و کانادا، نشان داده شد که اگرچه ویروس VHS ژنوتیپ IVa باعث مرگ و میر قابل ملاحظه ای در ماهیان در تابستان ۱۹۹۸ گردید، لیکن هیچ گونه ضایعات پاتولوژیک ظاهری مشاهده نگردید (Meyers et al., 1999; Lumsden et al., 2007). با توجه به ژنوتیپ های متعدد و تعداد بسیار زیاد گونه های حساس، تنوع گسترده ای در دامنه و حدت ضایعات بیماری وجود دارد. تنوع شدت خونریزی به طور قابل ملاحظه ای حتی در یک ژنوتیپ نیز وجود دارد. از آنجائیکه ژنوتیپ جدا شده از ایران Ia می باشد (Ahmadivand et al., 2016; Ghorani et al., 2016) و این ژنوتیپ در ماهیان قزل آلا ای آب شیرین دارای حدت بالائی می باشد، تغییر حدت آن در سال بعد دور از ذهن می باشد. اگرچه این فرضیه نیازمند تحقیقات بیشتری است. لیکن این مورد در خصوص برخی از بیماریهای دامی مانند تب برفکی وقتی بیماری برای اولین بار در جمعیت حساس بروز میکند (سویه های جدید غیر بومی بیماری) به دلیل وجود جمعیت حساس و غیر ایمن، میزان ابتلا و مرگ و میر بیشتر است و به مرور زمان و با بومی شدن بیماری و کاهش جمعیت حساس میزان ابتلا و مرگ و میر کاهش یافته و در برخی موارد علائم بالینی و شدت ضایعات نیز کاهش می یابد (Yoon et al., 2012). از طرفی سایر عوامل نظیر سن ماهی و شرایط محیطی نیز در تغییر الگوی ظاهری بیماری موثر هستند به طوری که بالا رفتن دما به بیش از ۲۰ درجه سانتیگراد باعث توقف تلفات می گردد (Sano et al., 2009). افزایش وزن ماهی به بالاتر از ۲۰ گرم باعث کاهش قابل ملاحظه تلفات می گردد (گزارش منتشر نشده سازمان دامپزشکی کشور، ۱۳۹۳).

در خصوص علائم ظاهری مشاهده شده در ۱۴۵ مزرعه مبتلا در این سال اگزوفتالمی دو طرفی ۷۹/۳٪، تیرگی پوست کل بدن ۶۶/۸٪، شنای چرخشی ۵۸/۶٪، خونریزی پتشی در احشا ۵۳/۷٪ و تلفات بالا ۵۱/۷٪ فراوانترین علائم مشاهده شده بودند. در این تحقیق اگزوفتالمی علامت غالب بود که نتایج این تحقیق مشابه یافته های دو مطالعه دیگر است که توسط کینگ و همکاران (۲۰۰۱) و یانسن و همکاران (۲۰۰۶) انجام گرفت و نشان دادند که عمده ترین علامت کلینیکی، بیرون زدگی چشم ها

مطابق با فرم های بیماری بود (Wolf, 1998; Noga, 2011). از نظر بالینی بیماری VHS به سه فرم م حاد، مزمن و عصبی تظاهر پیدا می کند. بیماری در ابتدا به صورت فرم حاد بروز کرده و نهایتاً به فرم مزمن و یا به همراه فرم عصبی تغییر می کند. همچنین ممکن است که سه فرم بیماری همزمان در یک استخر مشاهده شوند (Mitro and White, 2008; Olson, 2013).

بر اساس آنالیز تحلیلی صورت گرفته بیشترین علائم مشاهده شده در سال ۱۳۹۲ تلفات بالا در مزارع پرورش بود و ۴ گروه دیگر شرح داده شده، تفاوت آماری معناداری نداشتند. به نظر می رسد فرم حاد بیماری، فرم غالب مشاهده شده در کشور بوده است. عواملی همچون گونه، سن ماهی و حدت ایزوله ویروس در میزان مرگ و میر بیماری نقش دارند. به طوریکه در بچه ماهیان گونه حساس آلوده شده به ایزوله های حاد ویروس مرگ و میر تا ۱۰۰٪ می رسد (CFSPH, 2003). مشخص ترین ضایعات پاتولوژی فاز حاد، خونریزی های وسیع چند کانونی داخلی و خارجی می باشند. علائم کلینیکی مرحله حاد VHS اغلب غیر اختصاصی بوده و ممکن است تکی و یا توأم با هم دیده شوند ولی تلفات در فرم حاد همیشه ناگهانی و عمدتاً زیاد است، بطوریکه در بچه ماهیان تا ۱۰۰٪ و در بالغین ۳۰-۹۰٪ می باشد (Olson, 2013). با توجه به اینکه پس از سال ۱۳۸۲ بیماری در کشور مشاهده نشده بود و در سال ۱۳۹۲ بیماری مجدداً بعد از یک دوره بدون بیماری رخ داد که به دلیل وجود جمعیت حساس فراوان غالبیت فرم حاد قابل توجیه می باشد. میزان فراوانی علائم ظاهری مشاهده شده در ۳۵۵ مزرعه مبتلا به ترتیب تلفات زیاد ۶۶/۱٪، شنای چرخشی ۶۱/۴٪، اگزوفتالمی دو طرفه ۵۸/۵٪، خونریزی پتشی در احشاء ۵۶/۶٪ و خونریزی پتشی در عضلات ۵۳/۵٪ فراوان ترین یافته های ظاهری بودند.

در سال ۱۳۹۳ گروه علائم عمومی سپتی سمی به طور معنی داری فراوانی نسبی بیشتری نسبت به سایر علائم داشت. این یافته نشان دهنده غالب بودن فرم مزمن بیماری بود و می تواند نشان دهنده تغییر روند و حدت بیماری در مزارع قزل آلا کشور باشد. از آنجائیکه این یافته توأم با کاهش معنی دار مزارع درگیر بیماری نسبت به سال ۱۳۹۲ بود، بیان کننده شناخت بیشتر آبری پروران از بیماری و اثر بخشی اقدامات صورت گرفته می باشد. از طرفی تغییر چهره بیماری از فرم حاد به مزمن می تواند بیان کننده تغییر حدت ویروس یا افزایش

لحاظ کلی در طی سه سال آگزوفتالمی دو طرفه با ۶۷٪ فراوانی بیشترین علامت کلینیکی مشاهده بود و بعد از آن تلفات بالا ۶۱٪، شنای چرخشی ۵۸/۶٪، تیرگی کل پوست بدن ۵۸/۴٪، رنگ پریدگی آبشش ۵۱/۲٪ قرار دارند. در مطالعه ای که بوسیله Lovy و همکاران (۲۰۱۲) بر روی پاتولوژی همراه سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی در لاروها و بچه ماهی هرینگ اقیانوس آرام (Pacific herring) که به صورت تجربی در آزمایشگاه آلوده شده بودند، بیماری را به دو فاز حاد و مزمن همراه تلفات تقسیم بندی کردند. ماهی هایی که در خلال فاز حاد تلف شدند عفونت سیستمیک را در بافت های شامل زیر مخاط دستگاه گوارش، طحال، کلیه، کبد و منتر داشتند. بعد از آن بیماری وارد فاز مزمن گردیده که مشخصه آن بروز علائم عصبی شامل شنای تحریکی و چرخشی و تیرگی پوست نواحی پشتی بود. در خلال فاز مزمن ویروس در بافت های عصبی شامل منتر و سلول های پارانشیم مغز و در یک مورد در سلول های عصبی اعصاب محیطی حضور دارد. این در حالی است که ویروس عمدتاً از سایر بافت های بدن پاک شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که تمایل ویروس به بافت های مختلف متفاوت بوده و بسته به زمان ایجاد عفونت دارد. بعلاوه اهمیت بافت های عصبی برای ایجاد و ادامه عفونت های مزمن در هرینگ اقیانوس آرام را نشان دادند (Lovy et al., 2012).

بر اساس این مطالعه، بیماری در سال ۱۳۹۲ با الگوی حاد و تلفات بالا وجود داشت و در طی سال های بعد الگوی مزمن با غالبیت علائم عمومی سپتی سمی جایگزین گردید. از آنجائیکه علائم عمومی سپتی سمی فراوان ترین گروه علائم ظاهری مشاهده شده می باشند و با توجه به بروز این علائم در انواع بیماری های ویروسی و باکتریائی ماهی، احتمال عدم توجه کلینیسین ها به بیماری VHS وجود دارد. لذا ضروری است با توجه به شیوع این بیماری در مزارع قزل آالی کشور در صورت مشاهده علائم عمومی سپتی سمی در مزارع، به علائم بالینی دیگری مانند شنای چرخشی و آگزوفتالمی یک طرفه یا دو طرفه که می تواند در تشخیص تفریقی رهیافت مناسبی باشد نیز توجه نمود و جهت تایید بیماری VHS، نمونه برداری انجام شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با همکاری دفتر بهداشت و مدیریت بیماری-های آبزیان سازمان دامپزشکی کشور انجام گرفته و

(آگزوفتالمی) می باشد (King et al., 2001; Einer-Jensen et al., 2006). در خصوص تیرگی رنگ پوست در تحقیقی که توسط الحسین (۲۰۱۱) انجام گرفت، بیان شد که تیرگی رنگ پوست اگرچه ممکن است در تمام مراحل عفونت ویروسی قابل ملاحظه باشد لیکن شدت آن بسته به گونه ماهی دارد (Al-Hussinee, 2011).

اگرچه در سال ۱۳۹۲ از نظر علائم بالینی مشاهده شده، گروه علائم عصبی نسبت به گروه علائم عمومی سپتی سمی فراوانی کمتری داشت لیکن شنای چرخشی به عنوان یکی از علائم عصبی، به تنهایی از نظر فراوانی در رتبه سوم قرار دارد. شنای چرخشی دومین یافته مشاهده شده بود و این یافته قابل اعتنا مهم بین علائم ظاهری می باشد. در مطالعه انجام گرفته توسط الحسین، وی معتقد است که علائم بالینی عصبی بیماری در اواخر بیماری مشاهده میشود (Al-Hussinee, 2011) که این موضوع با یافته های این تحقیق مغایرت دارد، زیرا در این تحقیق علائم بالینی در اوایل بیماری مشاهده شده است.

در سال ۱۳۹۴ نیز گروه علائم عمومی سپتی سمی به طور معنی داری فراوانی نسبی بیشتری نسبت به سایر علائم داشت که کماکان نشان دهنده غالبیت فرم مزمن بوده و تایید ادامه روند وضعیت بیماری می باشد. آگزوفتالمی دو طرفه (بیرون زدگی چشم) ۸۵/۲٪، تیرگی پوست کل بدن ۴۴/۱٪، رنگ پریدگی آبشش ۶۱/۷٪، شنای غیر عادی ۵۸/۸٪ و بی اشتها نسبی ۵۸/۸٪ فراوان ترین علائم ظاهری بودند. علیرغم عدم مشاهده تغییر معنی دار بین سایر گروه ها با گروه علائم عمومی سپتی سمی لیکن رنگ پریدگی آبشش سومین یافته ظاهری بود. این مورد به همراه کبد رنگ پریده نشان دهنده توجه به علائم کم خونی باشد. این در حالی است که در مجموع سه سال از بین علائم بالینی مشاهده شده نسبت علائم کم خونی از لحاظ آماری نسبت به سایر علائم کمترین فراوانی را داشته ولی بین سایر گروه های علائم اختلاف آماری معنی داری مشاهده نگردید. علامت کم خونی معمولاً متعاقب خونریزی های وسیع دیده می شود. اگرچه کم خونی بدون حضور خونریزی قابل ملاحظه هم می تواند وجود داشته باشد (Bowden, 2003). علائم مرتبط با خونریزی در فاز حاد به طور ثابت در همه واگیری های گزارش شده چه به صورت طبیعی و چه به صورت تجربی وجود دارد لیکن رنگ پریدگی عمومی به عنوان اصلی ترین یافته در ماهیان گوبی دایره ای گزارش گردید (Groocock et al., 2007). از

- DOI:10.1016/j.prevetmed.2016.1001.1031.
- Ganjour, M.S., Zorriezahra, S.J., Mehrabi, M., R, Gandomkar, H. and Mohammadpoor, M., 2015.** A case report of enteritis redmouth disease in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Kohkyluyeh va Boyerahmad province in Iran. Iranian Scientific Fisheries Journal, 24: 133-137.
- Ghorani, M., Adel, M., Dadar, M., Langeroudi, A.G., Kamyabi, R., Vakharia, V.N. and Einer-Jensen, K., 2016.** Phylogenetic analysis of the glycoprotein gene of viral hemorrhagic septicemia virus from Iranian trout farms points towards a common European origin. Veterinary microbiology, 186: 97-101. DOI: 110.1016/j.vetmic.2016.1002.1019.
- Groocock, G.H., Getchell, R.G., Wooster, G.A., Britt, K.L., Batts, W.N., Winton, J.R., Casey, R.N., Casey, J.W. and Bowser, P.R., 2007.** Detection of viral hemorrhagic septicemia in round gobies in New York State (USA) waters of Lake Ontario and the St. Lawrence River. Diseases of Aquatic Organisms, 76: 187-192. DOI: 110.3354/dao076187.
- King, J.A., Snow, M., Smail, D.A. and Raynard, R.S., 2001.** Distribution of viral haemorrhagic septicaemia virus in wild fish species of the North Sea, north east Atlantic Ocean and Irish Sea. Diseases of aquatic organisms, 47: 81-86. DOI: 110.3354/dao047081.
- Lovy, J., Lewis, N.L., Hershberger, P.K., Bennett, W., Meyers, T.R. and Garver, K.A., 2012.** Viral tropism and pathology associated with viral hemorrhagic septicemia in larval and juvenile Pacific herring. Veterinary Microbiology, 161, 66-76.
- نویسندگان از مجموعه دفتر و کارکنان محترم استان ها تشکر و قدردانی می نماید.
- منابع**
- Ahmadvand, S., Soltani, M., Mardani, K., Shokrpoor, S., Rahmati-Holasoo, H., Mokhtari, A. and 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. DOI:10.1016/j.actatropica.2016.1001.1005.
- Al-Hussinee, L., 2011.** Pathogenesis of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV Vb) in Great Lakes fish. Dissertation, University of Guelph.
- Bowden, T.J., 2003.** A study of the susceptibility of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), to viral haemorrhagic septicaemia virus isolated from turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). J Fish Dis, 26: 207-212.
- CFSPH, C.f.F.S.a.P.H., 2003.** Aquatic Animal Diseases, Viral Hemorrhagic Septicemia. available at: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=viral-hemorrhagic-septicemia&lang=en>.
- Einer-Jensen, K., Peter, A. and Lorenzen, N., 2006.** Genetic stability of the VHSV consensus sequence of G-gene in diagnostic samples from an acute outbreak. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 26: 62-67.
- Fallah Mehrabadi, M.H., Bahonar, A.R., Vafsi Marandi, M., Sadrzadeh, A., Tehrani, F. and Salman, M.D., 2016.** Sero-survey of Avian Influenza in backyard poultry and wild bird species in Iran—2014. Preventive Veterinary Medicine, 128: 1-5.

- Strain Ivb: viral detection ,mechanisms of infection ,and host-virus interactions in the Yellow Perch(*Perca Flavescens*). Dissertation, University of Wisconsin – Milwaukee.
- Purcell, M.K., Laing, K.J. and Winton, J.R., 2012.** Immunity to fish rhabdoviruses. *Viruses*, 4: 140-166.
- Rose, A.G., 2008.** Atlas of gross pathology: With Histologic Correlation Cambridge University Press.
- Sano, M., Ito, T., Matsuyama, T., Nakayasu, C. and Kurita, J., 2009.** Effect of water temperature shifting on mortality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* experimentally infected with viral hemorrhagic septicemia virus. *Aquaculture*, 286: 254-258. Doi: 210.1016/j.aquaculture.2008.1009.1031.
- Sepahdari, A., Saeedi, A.S., Kakoulaki, S., Habibi Kotanaee, F. and Babaalian, A.R., 2014.** Incidence of streptococcosis in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) farms in Haraz River in Mazandaran Province, Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22: 41-50.
- Wolf, K., 1998.** Viral hemorrhagic septicemia. In: fish viruses and fish viral diseases. Comstock Pub Assoc Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Yoon, H., Yoon, S.S., Wee, S.H., Kim, Y.J. and Kim, B., 2012.** Clinical manifestations of foot-and-mouth disease during the 2010/2011 epidemic in the Republic of Korea. *Transboundary and Emerging Diseases* 59: 517-525. DOI: 510.1111/j.1865-1682.2011.01304.x.
- DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.1007.1020.
- Lumsden, J.S., Morrison, B., Yason, C., Russell, S., Young, K., Yazdanpanah, A., Huber, P., Al-Hussinee, L., Stone, D. and Way, K., 2007.** Mortality event in freshwater drum *Aplodinotus grunniens* from Lake Ontario, Canada, associated with viral haemorrhagic septicemia virus, type IV. *Diseases of Aquatic Organisms*, 76: 99-111. DOI: 110.3354/dao076099.
- Meyers, T.R., Short, S. and Lipson, K., 1999.** Isolation of the North American strain of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) associated with epizootic mortality in two new host species of Alaskan marine fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 38: 81-86. DOI:10.3354/dao038081.
- Mitro, M.G. and White, A.L., 2008.** Viral hemorrhagic septicemia and freshwater fisheries: the state of the science. *Technical Bulletin*. Department of Natural Resources Madison, Wisconsin 196.
- Noga, E.J., 2011.** Viral hemorrhagic septicemia in: fish diseases diagnostic and Treatment. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp: 213-215.
- Oidtmann, B.C., Peeler, E.J., Thrush, M.A., Cameron, A.R., Reese, R.A., Pearce, F.M., Dunn, P., Lyngstad, T.M., Tavoranpanich, S., Brun, E. and Stärk, K.D.C., 2014.** Expert consultation on risk factors for introduction of infectious pathogens into fish farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 115: 238-254. DOI: 210.1016/j.prevetmed.2014.1003.1017.
- OIE, 2016.** Manual of diagnostic tests for aquatic animals, Chapter 2.3.10.Viral haemorrhagic septicaemia.
- Olson, W.J., 2013.** Viral Hemorrhagic Septicemia Virus (VHSV) Great Lakes

Study on clinical and gross pathology manifestation of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) disease in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran (2013-2015)

Gharagozlo M.J.¹; Ghajari A.^{*1}; Abdi K.²; Seifouri P.²; Fallah Mehrabadi M.H.³; Shahbazian N.²

^{*} amrellahghajari1352@gmail.com

1-Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2-Iran Veterinary Organization, Tehran, Iran

3-Department of Poultry Diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Abstract

Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) is an acute viral disease leads to great losses in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The disease has three different clinical forms including acute, chronic and nervous with different clinical and necropsy signs. This research was conducted in Iran from 2013 to 2015 in 2641 rainbow trout farms (Hatcheries and fish farms) in order to describe the gross pathology pattern of this disease. The observed signs in the present study were categorized into the five different groups including group 1 with general signs of septicemia, group 2 with hemorrhagic signs, group 3 with nervous signs, group 4 with anemia signs and group 5 with high mortality. All infected farms were inspected and clinical and necropsy signs and mortality rate were recorded based on the designated forms and registered in Geographical Information System (GIS) of Iran veterinary organization (the electronic system for surveillance and monitoring of animals). Results of each year were evaluated descriptively and analytically using chi square test. The dominant group based on the registered signs during 3 years of survey was mortality in 2013, general signs of septicemia in 2014, and general signs of septicemia in 2015. The observed frequency of signs were highest for the general septicemia group and lowest for the anemia group during three years of study. According to the results of the present study, it seems that VHS gross pathology pattern in Iran has been changed from acute manifestation to the chronic form. As the general signs common to a number of diseases, it is so important for clinicians to consider VHS in their differential diagnosis lists.

Keywords: Viral Hemorrhagic Septicemia, Rainbow trout, Clinical and gross pathology manifestation

^{*}Corresponding author