

وزارت جهاد كشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج كشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی كشور- پژوهشكده اكولوژی دریای خزر

عنوان:

**ارزیابی کارایی، دوام ایمنی و بازماندگی ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان واکسینه
شده با واکسن کشته دوگانه استرپتوکوکوزیس - یرسینیوزیس و سه گانه
استرپتوکوکوزیس - لاکتوکوکوزیس - یرسینیوزیس (فاز فارمی)**

مجری:

مریم قیاسی

شماره ثبت

۶۸۴۱۷

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

عنوان طرح/پروژه: ارزیابی کارایی، دوام ایمنی و بازماندگی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان واکسینه شده با واکسن کشته دوگانه استرپتوکوکوزیس - یرسینیوزیس و سه‌گانه استرپتوکوکوزیس - لاکتوکوکوزیس - یرسینیوزیس (فاز فارمی)

کد مصوب: ۰۰۱۱۱۷-۰۸۶-۱۲-۷۶-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: مریم قیاسی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه‌ها و طرح‌های ملی و مشترک دارد): -

نام و نام خانوادگی مجری: مریم قیاسی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): مریم میربخش، محمد بینائی، علی شیرازی نژاد، محمد خسروی، سیدمحمدحسین حسینی، عباس جمالی، محمود حافظیه، ابوالفضل سپهداری، شاپور کاکولکی، علیرضا باباعلیان، مینا آهنگرزاده، رضا صفری عیسی خندقی، سیدمحمدوحید فارابی، محمدجواد تقوی رستمی، فرشیده حبیبی کوتنائی، مهناز صمصامی، مریم کامگار، عبدالله جعفری، شهریار بهروزی، زهرا یعقوب زاده، یحیی احمدیان پنبه چوله، احترام السادات علوی طبری، هرمز سیفی، صادق اسفندیار، حسین حسن نیاکلاگر، شمسی ریاضی، اشرف محمدی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

محل اجرا: استان مازندران

تاریخ شروع: ۱۴۰۰/۱۰/۱

مدت اجرا: ۲ سال و ۹ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۴

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی‌ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: ارزیابی کارایی، دوام ایمنی و بازماندگی ماهیان
قزل‌آلای رنگین‌کمان واکسینه شده با واکسن کشته دوگانه
استرپتوکوکوزیس - یرسینیوزیس و سه‌گانه استرپتوکوکوزیس -
لاکتوکوکوزیس - یرسینیوزیس (فاز فارمی)

کد مصوب: ۰۰۱۱۱۷-۰۸۶-۱۲-۷۶-۲

شماره ثبت (فروست): ۶۸۴۱۷ تاریخ: ۱۴۰۴/۰۹/۱۱

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم مریم قیاسی دارای مدرک تحصیلی
دکتری تخصصی در رشته قارچ‌شناسی است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان در تاریخ

۱۴۰۴/۰۶/۳۰ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد ☐ پژوهشکده ☒ مرکز ☐ ایستگاه ☐

با سمت عضو هیئت علمی در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۱
۱-مقدمه		۳
۱-۱- نقش واکسیناسیون در کاهش استفاده از آنتی بیوتیک ها و عوارض آنها در آبی پرووری		۱۰
۲-۱- تاریخچه، جایگاه و چالش های تولید واکسن آبیان در دنیا		۱۱
۳-۱- چالش های پیش روی صنعت تولید واکسن در آبیان		۱۲
۴-۱- سابقه واکسن آبیان در ایران		۱۷
۵-۱- جایگاه واکسن های کشته چند ظرفیتی در آبی پرووری		۱۹
۶-۱- بیماری دهان قرمز (یرسینیوزیس)		۲۰
۷-۱- بیماری استرپتوکوکوزیس		۲۶
۸-۱- بیماری لاکتوکوکوزیس		۳۴
۲-مواد و روش کار		۴۱
۱-۲- تهیه بذر واکسن		۴۱
۲-۲- انجام تست آنتی بیوگرام		۴۳
۳-۲- شناسایی مولکولی جدایه های باکتری		۴۳
۴-۲- انجام آزمایش حدت		۴۴
۵-۲- تولید واکسن		۴۵
۶-۲- تیمار بندی و تزریق واکسن		۴۶
۷-۲- ارزیابی شاخص های رشد		۴۸
۸-۲- ارزیابی شاخص های ایمنی و سرمی ماهیان		۴۸
۲-۸-۱- ارزیابی میزان IgM تام، پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین سرم		۴۹
۲-۸-۲- اندازه گیری لیزوزیم سرم		۵۰
۲-۸-۳- ارزیابی تیتراژ آنتی بادی اختصاصی به روش الایزا		۵۰
۲-۹- بررسی تلفات و شناسایی عامل بیماری		۵۱
۲-۱۰- روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها		۵۳
۳-نتایج		۵۴
۳-۱- ثبت باکتری ها در بانک جهانی ژن		۵۴
۳-۲- آزمایش آنتی بیوگرام		۵۴

۵۶.....	۳-۳-سنجش حدت
۵۶.....	۳-۴-ارزیابی شاخص‌های رشد
۵۷.....	۳-۵-شاخص‌های ایمنی و سرمی ماهیان
۵۷.....	۳-۵-۱-میزان پروتئین تام سرم
۵۸.....	۳-۵-۲-میزان آلبومین سرم
۵۹.....	۳-۵-۳-میزان گلوبولین سرم
۶۰.....	۳-۵-۴-میزان لیزوزیم سرم
۶۱.....	۳-۵-۵-میزان IgM سرم
۶۳.....	۳-۵-۶-تیتراکتی بادی اختصاصی به روش الیزا
۶۶.....	۳-۶-تلفات و شناسائی عامل بیماری
۶۸.....	۴-بحث
۷۷.....	۵-نتیجه‌گیری نهایی
۷۸.....	پیشنهادها
۸۹.....	چکیده انگلیسی

چکیده

در سال ۱۴۰۱ (۲۰۲۲ میلادی) میزان تولید قزل آلا در کشور ۲۰۸۸۰۰ تن (در آب شیرین) از سوی سازمان شیلات ایران اعلام شده است که بیش از ۲۸٪ تولید جهانی این ماهی در آب شیرین را به خود اختصاص داده است. استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس دو بیماری مهم عفونی ماهیان قزل آلا رنگین کمان است که با ایجاد تلفات شدید (بسته به سن ماهی و سویه باکتری تلفات ۸۰ - ۳۰ درصد) و مصرف شدید آنتی بیوتیکها (با عوارض زیست محیطی و بهداشتی) سبب خسارات اقتصادی و به خطر انداختن بهداشت عمومی هستند. لذا استفاده از ماهیان مقاوم شده می تواند بهترین راهکار مبارزه با آنها باشد. براین اساس فاز آزمایشگاهی پروژه دستیابی به دانش فنی تولید واکسن کشته دوگانه یرسینیوزیس - استرپتوکوکوزیس در ماهیان قزل آلا پرورشی در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انجام گردید. پروژه حاضر فاز مزرعه فعالیتهای انجام شده در پروژه قبلی است. لازم به ذکر است که با توجه به شیوع لاکتوکوکوزیس در کشور، به توصیه دفتر بهداشت و بیماریهای آبزیان سازمان دامپزشکی کشور، بخش فارمی در دو بخش واکسن کشته دوگانه یرسینیوزیس - استرپتوکوکوزیس و واکسن سه گانه یرسینیوزیس - استرپتوکوکوزیس - لاکتوکوکوزیس انجام گردید. بذر واکسن مورد استفاده در این پروژه یرسینیا راکری (MT968736)، استرپتوکوکوس اینیایی (MT968734) و لاکتوکوکوس گارویه (OQ216877) بودند. واکسن کشته در دو شکل دوگانه (یرسینیا راکری، استرپتوکوکوس اینیایی) و سه گانه (یرسینیا راکری، استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه) با ادجوانت موتانااید Vax-Orient IPA50 با نسبت ۶۰:۴۰ (۴۰ باکترین و ۶۰ ادجوانت) توسط موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی (شعبه جنوب کشور) تهیه گردید. واکسنها بصورت داخل صفاقی به ۱۰۰۰ عدد ماهی (۵۰۰ عدد دوگانه و ۵۰۰ عدد سه گانه) با میانگین وزنی ۱۸/۱۰ ± ۲۶۱/۱۶ گرم تزریق شد. ماهیان پرورشی در مزرعه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. طی ۸ ماه شاخصهای سرمی (پروتئین تام سرم و آلبومین) و شاخصهای ایمنی (گلوبولین، IgM تام سرم، لیزوزیم و آنتی بادی اختصاصی علیه هر باکتری) در ماهیان واکسینه و شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت. قبل از نمونه برداری مرحله هفتم (یعنی دو ماه مانده به پایان زمان آزمایش) بیماری لاکتوکوکوزیس در مزرعه رخ داد و تعداد تلفات ناشی از بیماری تا پایان مرحله هشتم نمونه برداری ثبت شد. نتایج این بررسی نشان داد که میزان پروتئین تام سرم در ماهیان واکسینه در ماه اول، دوم، هفتم و هشتم افزایش معنی دار در مقایسه با شاهد داشت و در بقیه ماهها معنی دار بودن این تفاوت فقط بین گروه سه گانه و شاهد بود. میزان آلبومین فقط در ماه هفتم و هشتم کاهش معنی داری در شاهد در مقایسه با گروه واکسینه نشان داد و در سایر ماهها تفاوت معنی داری دیده نشد. میزان گلوبولین به جز ماه اول، در ماههای دیگر در ماهیان واکسینه افزایش معنی داری در مقایسه با شاهد داشت و بیشترین میزان متعلق به گروه سه گانه بود. میزان لیزوزیم نیز بیشترین افزایش معنی دار را بین گروه شاهد و سه گانه نشان داد. میزان IgM تام سرم در تمام مراحل افزایش معنی دار در گروه واکسینه در مقایسه با شاهد داشت و گروه سه گانه بیشترین میزان را نشان داد. تیترا آنتی بادی اختصاصی علیه یرسینیا راکری در تمام مراحل بطور معنی داری بیشتر از شاهد و بالاترین مقدار در گروه سه گانه دیده شد. تیترا آنتی بادی اختصاصی علیه استرپتوکوکوس

اینیائی و لاکتوکوکوس گارویه نیز در تمام مراحل در ماهیان واکسینه بطور معنی دار بیشتر از شاهد بود. ارزیابی نتایج تلفات ماهیان بعد از وقوع بیماری و درصد بازماندگی در ماهیان سه گانه، دوگانه و شاهد به ترتیب ۷۵/۹، ۶۸/۵۴ و ۳۲/۹۳% بود. در یک ارزیابی کلی، واکسن دو گانه و سه گانه در شرایط مزرعه کفایت عملکردی مناسبی داشته‌اند و کفایت عملکردی واکسن سه گانه براساس نتایج بهتر از واکسن دو گانه بوده است.

کلمات کلیدی: یرسینیوزیس، استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس، قزل آلالی رنگین کمان، واکسن کشته، موتناناید