وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

عنوان:

استقرار استاندارد ایمنی زیستی در پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری خاص

مجری:
محمد افشار نسب

شماره ثبت
٤٦٠٦٠

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور-پژوهشکده میگوی کشور

عنوان پروژه : استقرار استاندارد ایمنی زیستی در پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری خاص
شماره مصوب پروژه : K ۹۱۰۱- ۹۱۰۰۱-۹۱۰۳-۱۲-۸۰-۱٤
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : محمد افشار نسب
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : محمد افشار نسب
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : خسرو آئین جمشید، بابک قائد نیا، وحید یگانه، عقیل دشتیان نسب، مریم میربخش، خلیل پذیر، عباسعلی زنده بودی،محمدرضا مهرابی،رضا بنادرخشان
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : شاپور کاکولکی
محل اجرا : استان بوشهر
تاریخ شروع : ۹۱/۱۲/۱
مدت اجرا : ۱ سال و ۷ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال۱۳۹٤
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : استقرار استاندارد ایمنی زیستی در پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری خاص

کد مصوب : K ۹۱۰۱- ۹۱۰۰۱-۹۱۰۳-۱۲-۸۰-۱٤

شماره ثبت (فروست) : تاریخ :

با مسئولیت اجرایی جناب آقای محمد افشار نسب دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته بهداشت و بیماریهای آبزیان می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان در تاریخ ۹۳/٦/۲۳ مورد ارزیابی و رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد ■ پژوهشکده □ مرکز □ ایستگاه □

با سمت عضو هیئت علمی در موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور مشغول بوده است.

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱-کلیات ۲
۱-۱-تکنیکهای ارزیابی بهداشت سطح ۱ ..... ۷
۱-۲-تکنیکهای ارزیابی بهداشت سطح۲ ..... ۷
۱-۳-تکنیکهای ارزیابی بهداشت سطح ۳ ..... ۸
۱-۴-آزمایش سلامت مولدین ۱۴
۱-۵-نگهداری وسایل ۱۵
۱-۶-ضدعفونی مولدین ۱۷
۱-۷-شستشوی ناپلی ۱۷
۱-۸-انتخاب ناپلی ۱۸
۱-۹-ایمنی زیستی درپرورش لارو ۱۸
۱-۱۰-مدیریت غذا وتغذیه لاروها ۱۹
۱-۱۱-مدیریت بهداشتی لارو ۲۱
۱-۱۲-اهداف پروژه ۲۴
۲-مواد و روش کار ۲۵
۳-نتایج ۲۷
۴-بحث ۳۶
منابع ۴۲
پیوست ۴۴
چکیده انگلیسی ۵۸

چکیده

ایمنی زیستی این گونه تعریف شده است " .. مجموعه فعالیتهایی که احتمال معرفی عوامل بیماریزا و گسترش بعدی آن را از جایی به جای دیگر کاهش خواهد داد ..." .اجزاء اساسی برنامه ایمنی زیستی شامل روشهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکبوده که برای حفاظت کارگاههای مولد سازی از پیامدهای تمام بیماریهایی که احتمال خطر بالایی دارند، اجرا می‌شود. ایمنی زیستی کارآمد، نیازمند توجه به دامنه‌ای از فاکتورهاست، بعضی از این فاکتورهای خاص، بیماری هستند و بعضی دیگر نیستند. با توجه به تسهیلات اینگونه مراکز، بیماریهای مربوطه و مقدار ریسک مشاهده شده، سطوح و راهکارهای مختلفی برای ایمنی زیستی بکار گرفته می‌شود. سطح مناسب ایمنی زیستی بکار گرفته شده، بطورکلی تابعی از امکانات و هزینه نسبت به اثر بیماری بر عملیات تولید خواهد بود. مسئول یک واحد مراکز مولد سازی باید ریسک احتمالی ورود بیماری به محیط زیست طبیعی واحتمال برگشت پاتوژن به مراکز فوق را در نظر بگیرد.روندهای بهره‌برداری استاندارد، پروتکل کنترل کارگاههای مولدسازی را به صورت سند جامعی شرح می‌دهد و در این راستا هر مرحله یا فرآیند چرخه تولید را پوشش می‌دهد. این سند باید حاوی جزئیات تمام نقاط کنترل بحرانیCritical Control Point (CCP) باشد و چگونگی اجرای هر کار را برای کنترل مخاطرات مربوط به آن شرح دهد. وقتی پروتکلی برای بهره‌برداری کارگاههای مولدسازی ثبت می شود(Standard Operation Program)، SOP باید به تمام کارکنان داده شود و یک کپی هم باید برای تمام کارگران در مکانهای قابل دسترس (ناهارخوری، اتاق کنفرانس و...) قرارگیرد. برای معرفی پروتکل و توضیح در مورد محتوای SOPs نیز باید در جلسه‌ای محتوا و نکات شک‌برانگیز یا برداشتهای نادرست مطرح و برطرف شود. بدین ترتیب موقعیت خوبی فراهم میشود تا بتوان نیروی کارآمد مفید را در بین کارکنان شناسایی نمود.تمام توضیحات کار مدیریت مراکز مولد سازی و کارکنان باید شامل عباراتی در مورد اجرای SOPs و مقررات انضباطی در مورد رعایت قوانین باشد. در طرح کلان "کسب و انتقال دانش فنی برای تولید انبوه میگوی عاری از بیماری خاص در کشور و قطع وابستگی به محصولات خارجی" یکی از مهمترین موضوعات استقرار سیستم ایمنی زیستی در مرکز تولید میگو می‌باشد که باید به صورت دقیق نسبت به تنظیم SOPو همچنین شناسائی نقاط بحرانیCCP اقدام نمود. دراجرای این طرح نقاط بحرانی شناسائی و برای هر کدام از مراحل پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری دستورالعمل اجرائی برای آن تنظیم و اجرا گردیده و بصورت بسیار موثر نسبت به کاهش خطرات بالاخص در زمینه بروز بیماریها موثر و کارآمد بود.واژه‌های کلیدی:ایمنی زیستی، نقاط بحرانی، پروتکل استاندارد عملیات،بیماریها

۱-کلیات

بیماری یکی از چالش‌های اصلی پرورش میگو در کلیه کشورها شناخته شده است. بویژه از زمان شیوع بیماری لکه سفید (به علت ویروس سندرم لکه سفید، WSSV)، تولید میگو در بسیاری از کشورها به طور قابل‌توجهی کاهش یافته و پرورش‌دهندگان در ادامه با مشکلات جدی مواجه‌اند. زیانهای اقتصادی وارده و آثار آنها در حال حاضر، براقتصاد کشور و امرار معاش گروههای فقیرتر جامعه مؤثراست. به منظور کاهش خطرات ناشی از بیماریها و مقابله با راههای ورود بیماری به مراکز تکثیر و پروش میگو ارائه راهنمائی که بتواند خطرات را کاهش داده و زمینه ارتقا تولید را فراهم نماید از ضروریات است . درطرح ملی کلان "کسب و انتقال دانش فنی برای تولید انبوه میگوی عاری از بیماری خاص در کشور و قطع وابستگی به محصولات خارجی" ارائه راهکارهای ایمنی زیستی و کاهش خطرات بالاخص در زمینه بیماریها باید طراحی گردد. برای این منظور باید مشخص گردد که مهمترین نقاط بحرانی در تولید میگوی عاری از بیماری چیست؟ همچنین مشخص گردد که برنامه عملیاتی مهم برای کنترل هر نقطه بحرانی چه میباشد؟

ایمنی زیستی در آبزی پروری را Moss و همکاران در ۱۹۹۸ چنین تعریف نموده است: به مجموعه روش هائی که در مراکز تکثیر و پرورش اعمال میگردد تا آبزیان پرورشی را از ابتلا،شیوع و انتقال بیماری و یا هرنوع شرایط نامطلوب بهداشتی مصون نگهدارد، ایمنی زیستی اطلاق می‌شود.

اما تعریف جدیدی که در سال ۲۰۰۰ در این خصوص (در زیر بخش امور دام) ارائه شد موجب تکمیل این تعریف گردید: "ایمنی زیستی به مجموعه روش های ضروری گفته می شود که به منظور پیشگیری ،مهار و ریشه کنی بیماریهای عفونی واجد اهمیت اقتصادی در دامداری ها بکار گرفته می شود(Lotze etal,2000)".

امروزه در حقیقت ایمنی زیستی (Biosecurity) در آبزی پروری تلفیق و یا مجموعه دو تعریف بالاست.به عبارتی این واژه ترکیبی از طب پیشگیری ،آزمایشات تشخیصی ،عملیات ضد عفونی و درنهایت ریشه کنی است که در سطوح مختلف عملیاتی اجرا و پیگیری می شود.

بطور کلی مزارع آبزی پروری را می توان به روش های ساختاری و یا فنی تحت پوشش ایمنی زیستی قرار داد.ایجاد موانعی همچون فنس و توری در اطراف مزرعه و یا احداث حوضچه ضد عفونی در ورودی مزارع پرورش از جمله تمهیدات ساختاری در مزرعه به شمار می رود و معمولاً به نحوی ساخته می شوند که قابل شستشو و ضد عفونی بوده و نیز دسترسی به محیط مزرعه و موجودات پرورشی جز از طریق آنها امکانپذیر نباشد.

اما علاوه بر آنچه در بخشهای بالا ذکر شد (و هم اکنون نیز در اکثر کشورهای جهان مورد اتفاق نظر میان نهادهای بهداشتی ناظر واقع شده است)برخی موارد که به دلیل افزایش هزینه های تولید(و یا بعضاً بواسطه عدم معرفی صحیح)چندان مورد استقبال آبزی پروران واقع نشده است نیز همچون،درمان و فرآوری آب ،استفاده از منابع آبی پشتیبان(استخرهای ذخیره)و حوضچه های تبخیر،در این زمره به شمار می آیند.

بطور کلی مبحث ایمنی زیستیرا میتوان شامل "یک یا چند" مورد از اقدامات زیر دانست:

قرنطینه،کنترل تردد و نقل و انتقالات (پرسنل ،ماشین آلات و تجهیزات)، واکسیناسیون و درمان، تستهای تشخیصی و در نهایت معدوم سازی و ریشه کنی.

شایان ذکر است در کشورهای مختلف بر اساس راهبردهای متفاوت(اقتصادی،فرهنگی ،اجتماعی و بعضاً سیاسی) سطوح متفاوتی از عملیات یاد شده قابل اجرا و امکانپذیر بوده و به این دلیل اجرا یا عدم اجرای هر یک از موارد فوق را می بایست بصورتی بررسی نمود که تمامی استراتژی های ممکن در آن لحاظ شده باشد.به عنوان مثال برخی از راهبردها در مناطق فقیر نشین هندوستان و یا اندونزی که اکثراً مزارع پرورش را بصورت خانوادگی و به شیوه گسترده اداره می نمایند قابل تثبیت و بکارگیری نبوده و تبعات اجتماعی و اقتصادی آن هزینه های سنگین تری به دنبال خواهد داشت. از این جهت است که مزارع احداث شده در منطقه Nellore هند با حداقل سطح ایمنی زیستی اداره می شوند و هرگونه اعمال ایمنی زیستی نیز در این منطقه با هزینه نهادهای بین المللی و دولت محلی اجرا میشود.

اما آنچه بیشتر در دهه اخیر در صنعت آبزی پروری توجه سازمانها و نهادهای متولی بهداشت آبزیان و حتی بخشهای اقتصادی دست اندر کار در این صنعت را به خود معطوف نموده تداخل دو شاخه دیگر علوم به نامهای ژنتیک و تغذیه در آبزی پروری است.در این زمینه تمرکز بیشتر بر پایه ایجاد مقاومت در زاده ها و یا غربال آنها نسبت به عوامل بیماری زای خاص(SPFوSPR)،بهگزینی مولدین با هدف گزینش آبزیان واجد برتری در صفات ویژه و در کنار آن بکارگیری محرکهای سیستم ایمنی در غذا ،کاهش رویکرد تغذیه موجودات پرورشی با غذاهای تر و یا سنتی که ریسک انتقال بیماری توسط آنها بالاست و بکارگیری سیستم های مدرن و در عین حال بهداشتی در فرآوری غذای آبزیان بوده است.

آنچه امروزه بیشتر در آبزی پروری معمول است ،بهگزینی مولدین و پرورش نوزاد های آنها تحت شرایط ایزوله و تقویت غذائی آنها می باشد که به آنها SPF اطلاق میگردد.به عبارت دیگر فرآیند گزینش مولدین و پرورش نوزادهائی که بر اساس تست های تشخیصی ، عاری از عوامل بیماریزای خاص (عمدتاً دارای ارزش اقتصادی)باشند،هدف گذاری اقتصادی و فنی مراکز تولید اینگونه آبزیان است. شاید گذشته از سهولت بیشتر در راستی آزمائی اینکه مولدین SPF هستند یا خیر، مهمترین علت برای اینکه امروزه بیشتر مولدین علی الخصوص انواع وارداتی آنها SPF هستند، فقدان میگوهای مقاوم (SPR) نسبت به بیماریهای خطرناکی همچون IHHN،WSSD و YHD باشد.تنها انواع اعلام شده مولدین از این نوع که هم اکنون در مقیاس تجاری تولید می شود نسبت به TSV مقاوم هستند که نمیتوان به راحتی صحت و سقم این ادعا را ثابت کرد ولی شاید کمی توجه به مطلب ذیل موضوع را بیشتر روشن می کند:

بر اساس نظر دانشمندان و محققین ،درصد قابل اتکاء که در تحقیقات وراثت پذیری یک صفت در نظر گرفته می شود ،حدود ۵۰ درصد(۰,۵) است ولی در آزمایشاتی که بر روی وراثت پذیری صفت مقاومت در مقابل

بیماری TS(سندرم تائورا) انجام شده این نسبت تنها ۰,۰۹ یا ۹درصد بوده که بسیار کمتر از آن درصدی است که بتوان بر مبنای آن نسبت به مقاومت زاده های تولید شده از مولدین SPR مطمئن بود(Tave،۱۹۹۳).

نکته جالب دیگر اینکه در تحقیقات همین محققین ،مشخص شده که وراثت پذیری صفت رشد(Growth) نسبت به مقاومت در مقابل بیماری سندرم تائورا،معکوس است.به عبارتی ، عملیات غربالگری و بهگزینی مولدین نسبت به یکی از این صفات ،در جهت عکس نسبت به صفت دیگر عمل خواهد نمود.بنابراین حداقل تا امروز ،نمیتوان مدعی تولید مولدینی شد که نوزاد های آنها هم رشد خوبی داشته باشند و هم نسبت به بیماری تائورا (Taura) مقاوم (SPR) باشند. به همین علت شاید بهتر باشد از مولدین SPF بمنظور رعایت هرچه بیشتر ایمنی زیستی و در عین حال توجیه اقتصادی بهره گرفت. اما عمده عوامل بروز اختلال در ایمنی زیستی را می توانلارو، آب مصرفی و غذا دانست..از منظر دیگر باید گفت ارکان اساسی سلامت در صنعت پرورش میگو را این سه عامل تشکیل داده اند از این رو هرگاه سلامت و بهداشت در هر سه ضلع این مثلث(بصورت توأم) اعمال گردد میتوان تا حد زیادی نسبت به ایمنی زیستی اطمینان حاصل نمود. اجرای ایمنی زیستی در مزارع پرورشی کوچک و متراکم در مقایسه با مزارع بزرگ و وگسترده راحتر قابل اجراست (Horowitz and Horowitz,2003). در مزارع پرورش میگو اندازه گیری ایمنی زیستی بر دو پایه استوار است: یکی ممانعت از ورود پاتوژنها به سالنهای هچری و مزارع و دیگریحذف کردن پاتوژنهای احتمالی در هچریها و مزارع. برای ممانعت از ورود پاتوژنها به مزارع بالاخص از طریق پست لاروها و مولدین، میتوان از مولدین عاری ازبیماری (SPF)و پست لاروهای عاری از بیماری استفاده نمود. همچنین در صورتیکه ار پست لاروهای وحشی و یا از مولدین وحشی استفاده گردد، باید آنه را قرنطینه نموده و بعد از طی دوره قرنطینه از آنها استفاده نمود (Lightner,2003). در این راستا تاکید گردیده تا از ورود مولدین زنده و یا میگوهای منجمد از خارج کشور جلوگیری شود، زیرا این مولدین و یا میگوهای منجمد نیز میتوانند راهی برای واردات پاتوژنها به منطقه باشند. دومین اقدامی که برا ی جلوگیری از ورود پاتوژنها به مزارع و سالنهای هچری می توان انجام داد استفاده از مواد شیمیائی، فیزیکی و بیولوژیکی می‌باشد (Horowitz and Horowitz,2003). روشهای مختلف فیزیکی جهت اجرای ایمنی زیستی به منظور جلوگیری از ورود ناقلین حامل پاتوژن یا حمل کننده فیزیکی، ضد عفونی آب و قرنطینه وجود دارد. همچنین استفاده از مواد شیمیائی و روشهای فیزیکی شبیه کلرو ازن از جمله موادی هستند که در این مورد قابلیت استفاده را دارند. برای حصول ایمنی زیستی در لاروها باید این موضوع را در کارگاههای تولید میگوی مولد با تفکیک فازهای تکثیر، تخم‌گشایی و تولید استفاده نمود. طراحی یک کارگاه ایده‌آل با درجه بالای جداسازی به کاهش احتمال انتقال پاتوژن ها از مولد به لاروها کمک می‌کند. میگو، غذا وآب به عنوان نقاط کنترل بحرانی (CCP) برای مراحل رسیدگی جنسی و تولید میگو شناخته شده‌اند. با اجرای SOPs و HACCP خطرات بالقوه‌ای شامل ناقلین بیماری (انسان و جانوران)، امکانات و تجهیزات از بین می‌روند.

در مورد هر عملکرد اجرایی، از تحویل مولد تا رسیدگی جنسی، پرورش لارو (و گاهی پرورش بالاتر از مرحله لاروی) بایستی همه مخاطرات بالقوه، عوامل مؤثر بر سلامت و کیفیت لارو و تمامی نقاط ورودپاتوژن ها شناسایی شوند. جدول ۱ مراحل مختلف جهت کاهش خطر در سالنهای هچری را بیان می‌دارد.

جدول۱ : فاز های پیشنهادی توسط سازمانICES جهت کاهش خطر ابتلا به بیماری در مراکز مولدسازی

راهنمای ICES	مطابقت با توسعه تولید SPF
۱-اجرای مطالعات گسترده بیماری ها از نظر محیط زیست بومی آنها	مشخص کردن جمعیت ذخیره (مثلا وحشی یا پرورشی)
۲-سیستم انتقال ذخایر مولدین fo به منطقه گیرنده	بررسی سابقه بیماری در منطقه یا حوزه جمعیت انتخاب شده
۳-مطالعه پیرامون جمعیت ها در سیستم مدار بسته	انجام تست های تشخیصی لازم بر روی جمعیت فوق بر اساس لیست پاتوژن های خاص(SLP)
۴-توسعه سیستم مدار بسته مولدین	وارد کردن و قرنطینه جمعیت F0 و مونیتورینگ آنها
۵-رشد F1 های اخذ شده	تولید نسل F1 از F0
۶-معرفی حجم کمی از آب طبیعی	پرورش F1 همراه با CCP لازم
.....	اگر پاتوژن های لیست مورد نظر از نسل تولید شده F1 جدا نگردیدند این نسل می تواند SPF قلمداد گردد و از قرنطینه خارج گردد.

در ادامه این آنالیز خطر سیستماتیک، باید نقاط کنترل بحرانی (CCPs) شناسایی شوند. بایستی برای هر CCPمحدوده بحرانی تعریف گردد. بدیهی است جاییکه این محدوده زیاد است اقدامات اصلاحی مناسب اجتناب‌ناپذیر است.برای بررسی CCPsباید سیستمی متشکل از ثبت و مستندسازی برقرار گردد.

در بخشهای مختلف مانند قرنطینه، رسیدگی جنسی، کارگاههای تکثیر،پرورش جلبک، تولید آرتمیا و...شناسایی نقاط کنترل بحرانی ضروری است. مراحل ذیل را می‌توان به عنوان CCPs در این قسمتها در نظر گرفت،اگر چه اینها، کل موارد محسوب نمی‌شوند ولی می‌توانند از محلی به محل دیگر متغیر باشند(Arce etal., 2011) :

- قسمتهای ورودی : برای جلوگیری از انتقال آلودگی از سایر هچریها و محیط زیست باید کادر فنی، کارمندان اداری، وسایل نقلیه و سایر ناقلین بیماری، هنگام ورود کنترل شوند.

• تصفیه آب : تمام آبهای استفاده شده در واحدهای تولیدی برای نابودی پاتوژن‌ها و میزبانهای آنها بایستی به طور مناسب (تابع مرحله) بهبود یابند (کلر،ازن، فیلتراسیون و...)

• رسیدگی جنسی: قرنطینه مولدین ورودی، بررسی و ضدعفونی غذای تر، پاکسازی تانکها و لوله‌های آب و هوا و ضد عفونی مولدین، تخمها، ناپلی و تجهیزات.

• تفخریگاه : دوره‌های خشک کردن منظم، پاکسازی و ضدعفونی ساختمان (تأسیسات)، تانکها، فیلترها، لوله‌های آب و هوا و تجهیزات، کنترل کیفی و ضدعفونی غذاهای تر، تفکیک مواد مورد استفاده هر اتاق و هر تانک.

• جلبک: ورود محدود پرسنل به آزمایشگاه جلبک وسایل تانک و ضدعفونی لوله‌های و تجهیزات هوا و آب،بهداشت وکنترل کیفی جلبکها ومواد شیمیایی استفاده شده.

• آرتمیا: ضدعفونی سیستها، ضدعفونی ناپلی، تمیزکردن تجهیزات تانک و رعایت اصول بهداشتی.

محدودیت ورود به مراکز تکثیر بخصوص در هر منطقه مگر برای پرسنل مجاز: تمام کارکنان و پرسنل اداری باید برای ورود به محلهای تولید،از روند SOPs پیروی کنند.

کارگران کارگاههای تکثیرباید به محلهای کار خاص خود محدود شوند و نباید آزادانه به سایر مناطقی که به آنها واگذار نشده رفت و آمد کنند. یک راه عملی مدیریت، تهیه اونیفورمهایی با رنگهای متفاوت برای هر منطقه است. این امر به تشخیص سریع افراد در مناطقی کمک خواهد کرد که به آنها اجازه ورود داده نشده است.(Horowitze and Horowitze,2003).

برای مثال، ارتباط بین کارکنان شاغلی که در بخشهای مختلف کار می‌کنند، باید محدود شود بطوریکه با ایجاد یک بخش مرکزی، کارکنان بتوانند برای بحث و تبادل نظر و طرح برنامه ها با یکدیگر ملاقات کنند یا با سیستمهای بلندگو یا پیام گیر، رادیوها، پیامهای نوشتاری، تلفنهای همراه یا شبکه محلی (LAN) موجود در سیستمهای کامپیوتری، با هم ارتباط برقرار نمایند (Horowitze and Horowitze,2003).

هنگامیکه کارکنان در یک واحد تولیدی هستند، باید چکمه‌های پلاستیکی بپوشند. بخشهای تولیدی (هچریها، رسیدگی جنسی، پرورش جلب ،آرتمیاو...) برای پرهیز از رفت و آمد غیر ضروری،همه کارکنان بایستی یک محل ورودی / خروجی داشته باشند . ورودی باید یک حوضچه پاشویه حاوی محلول هیپوکلریت کلسیم (یا سدیم) باشد که غلظت نهایی ترکیبات فعال کمتر از۵۰ میلی گرم در لیتر نباشد. این محلول ضدعفونی‌کننده باید هر چند وقت یکبار تعویض گردد. بعد از در ورودی، هر اتاق باید یک ظرف حاوی محلول ید PVP با۲۰ میلی گرم در لیتر یا الکل ۷۰در صد باشد و پرسنل باید دستهای خود راهنگام ورود یا ترک اتاق بشویند. باید تمام وسایل نقلیه از یک حوضچه شتشوی چرخها عبور کنند با ابعادی که اطمینان کامل از شستشوی چرخها حاصل شود. حوضچه شستشوی چرخها باید مرتباً با محلولهای ضدعفونی‌کننده مؤثر (مانند هیپوکلریت سدیم (کلسیم) با بیش از ۱۰۰میلی گرم در لیتر ماده فعال) پر شود (Horowitze and Horowitze,2003).

بعضی از ویروسهای میگو دریکسری جانوران خشکی مانند حشرات و پرندگان یافت می‌شوند در حالیکه امکان کنترل تمام ناقلین بالقوه جانوری وجود ندارد. باید با استفاده از سدهای فیزیکی همانند دیوارکشیورود آنها را کاهش داد.همچنین می‌توان برای ممانعت از ورود پرندگان و حشرات، از تورها یا دام استفاده نمود. استفاده از لوله‌ها و کانالهای زهکشی می تواند از ورود جانوران آبزی جلوگیری نماید. باید تمامیآب ورودی، فیلتر و ضدعفونی شود و همه کانالهای زهکشی باید با توری پوشانده و آب آن فیلتر شده باشد و تا جاییکه امکان دارد از ورود و استقرار آبزیان وحشی جلوگیری نمود (Lightner, 1986; Lightner et al.,1997; Garza et al., 1997)

بر اساس گزارش FAO,2003 سطوح ارزیابی بهداشتی در کارگاههای تکثیر و پرورش به سه سطح تقسیم می شوند. این سه سطح عبارتند از (جدول ۲)

جدول ۲:توضیحات سطوح تشخیصی مناسب برای استفاده درسیستمهایکارگاههای تکثیرمیگو

بررسی جانوران و محیط زیست . آزمایش بر اساس صورتهای کلی	سطح ۱
آزمایش جزئی تر با استفاده از میکروسکوپ نوری و لام مرطوب ، همراه با رنگ آمیزی و بدون آن و باکتری شناسی پایه .	سطح ۲
استفاده از روشهای پیچیده تر همانند تکنیکهای مولکولی و ایمنی شناسی (مانند PCR، دات بلات و ...)	سطح ۳

۱-۱-تکنیکهای ارزیابی بهداشت سطح ۱

تکنیهای سطح ۱ معمولاً در اکثر کارگاههای تکثیر بکار میروند. آزمایشهای جزئی‌تر با تعداد زیادی از لاروها عملی نیست و متصدیان و تکنسینهای هچری مکرراً تکنیک سطح ۱ را برای بدست آوردن درک اولیه از وضعیت سلامتی لارو و اولویت بندی آزمایشهای جزئی‌تر استفاده می‌کنند. اغلب تکنیک سطح ۱ برای اتخاذ تصمیم در مورد سرنوشت تانکهای کارگاههای تکثیریاتوده‌های لاروی نیز کافی است. برای مثال، انتخاب ناپلی براساس پاسخ به نور، بدون نیاز به آزمایشهای میکروسکوپی جزئی‌تر صورت می‌گیرد. اگر گروهی از ناپلی‌ها، (phototaxy) یا جذب نور ضعیف ورفتار شنای ضعیفی نشان دهند، این گروه بدون آزمایشهای بعدی، رد خواهند شد.

۲-۱-تکنیکهای ارزیابی بهداشت سطح۲

تکنیکهای سطح ۲ نیز اغلب در فرآیند اتخاذ تصمیم در مدیریت کارگاههای تکثیرمیگو استفاده می‌شود. بعضی از کارگاههای تکثیر، میکروسکوپ دارند که از آن برای آزمایشهای جزئی‌تر بررسی شرایط لاروها و مشاهده مستقیم معیارهای متنوع سلامتی استفاده می‌کنند (نظافت، رفتار تغذیه ای، هضم و...).بسیاری از هچریها نیز به طور معمول زمانیکه لاروها ضعیف یا بیمار باشند جهت بدست آوردن شناخت ازفلور باکتریایی مخازن و تشخیص

پاتوژنهای احتمالی، باکتریولوژی پایه را انجام می‌دهند. پس از آن، شاید این اطلاعات برای اتخاذ این تصمیم که مخزن باید تخلیه شده یا درمان شوند، بکار گرفته می‌شود.

۳-۱-تکنیکهای ارزیابی بهداشت سطح ۳

تکنیکهای سطح ۳ عموماً در کارگاههای تکثیر میگو بکار گرفته می‌شود. روش واکنشهای زنجیره پلی‌مراز (PCR) برای آزمایش پست‌لارو و مولدین در مورد بیماریهای ویروسی از جمله دات‌بلات و سایر آزمایشهای ایمنی‌شناسی نیز استفاده می‌شود.کاربردهای متنوع تکنیکهای تشخیص متفاوت در کارگاههای تکثیر میگو در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳. استفاده از تکنیکهای علائم تشخص سطح ۱،۲ و ۳ در هچریهای میگو

سطح ۱	آزمایش مولدین برای بررسی وضعیت کلی سلامت، تعیین جنسیت، مرحله رسیدگی تخمدانی، مرحله پوست‌اندازی، خارج ساختن میگوهای بیمار/ در حال مرگ
	انتخاب ناپلی به کمک پاسخ جذب نور، تغذیه زوآ / مایسیس با مشاهده رشته‌های مدفوع، فعالیت لارو، فعالیت و رفتار پست‌لارو، آزمایشهای استرس
سطح ۲	بررسی کیفیت تخم با میکروسکوپ. بررسی فلور باکتریایی معمول یا جانوران در حال مرگ
	بررسی میکروسکوپی کیفیت ناپلی. آزمایش میکروسکوپی معمول وضعیت لارو و کیفیت پست‌لارو. بررسی فلور باکتریایی آب پرورشی و لارو
سطح ۳	آزمایش مولدین توسط دات‌بلات یا PCR
	آزمایش ناپلی و پست لارو توسط دات‌بلات یا PCR

بر اساس گزارش لایتنر (۲۰۰۲) می توان با استفاده از میگوهای پرورشی عاری از این عوامل بیماریزا، از طریق یک برنامه مناسب «عاری از عوامل بیماریزای خاص» (SPF) این چنین انتقال عمودی بیماری را از سیستم تولید کارگاههای تکثیرحذف نمود.

اگر میگوی SPF (یا بهداشت بالا) عاری از ویروسهای شناخته شده، در دسترس نباشد، باید مولدین با یک آزمایش تشخیصی مناسب آزمایش شوند و هر میگوی آلوده نابود گردد. در صورت جواب منفی آزمایش میگو برای بیماری یا عامل بیماریزا هنوز باید عامل خطر در نظر گرفته شده و آنها را در قرنطینه نگه داشت تا از سلامت آنها اطمینان کامل حاصل شود.

حتی پس از آنکه مولدین ازبخش قرنطینه انتقال داده شدند، بعضی از هچریها، بهداشت عمومی پست‌لاروها را با بررسی ماهانه حفظ می‌کنند. بخشی از جمعیت (برای مثال، ۰/۱ درصد) جهت آزمایشهای PCR و همولنف، نمونه‌برداری می شوند و بر اساس نتایج این آزمایشها، اقدام مناسب اتخاذ می‌گردد. تعداد میگوهای نمونه‌برداری شده باید براساس جدول نمونه‌برداری تعیین گردد که اندازه جمعیت میزبان و شیوع احتمالی عوامل بیماریزا را در نظر دارد (OIE, 2003).

میگوهای انتخاب شده مولد باید تا حد امکان از سیستم بسته تأمین شوند، بطوریکه این امکان را می‌دهد که تاریخچه عملکرد و وضعیت بهداشتی میگوها شناخته شود. به طور آیده‌ال میگوها باید از مزارع پرورشی با شرایط فیزیکوشیمیایی (شوری و درجه حرارت و...) مشابه با شرایط ذخیره‌سازی پست‌لاروها انتخاب شوند. معیار بکار رفته در انتخاب مولدین به منبع مولد (وحشی یا پرورشی) بستگی دارد(FAO,2003) :

مولد وحشی : از آنجائیکه در مورد مولد وحشی سوابق عملکردی و رشدی وجود ندارد و چون شانسی برای بهبود ذخائر وجود ندارد، در نتیجه تمایل زیادی هم برای استفاده و بدست آوردن آنها وجود نداشته است. قبلاً براساس این عقیده که مولد وحشی، ناپلی‌های بیشتر و قوی‌تری تولید میکنند، مولدین وحشی توسط هچریها ترجیح داده می‌شدند. در سالهای اخیر، بهرحال خطر بالای ورود پاتوژن‌های ویروسی همراه با مولدین وحشی این اولویت را تغییر داده است. بعلاوه، به طور فزآینده‌ای این امر تأیید شده که ذخائر میگوی پرورشی نیاز به توسعه دارند تا قادر به بهبود رسیدگی جنسی و عملکرد هچری‌ها و استخرهاشده که منجر به افزایش تمایل به استفاده از مولدین پرورش یافته در اسارت شود. صید مولد وحشی میگوی پاسفید غربی به کمک کشتی‌های کوچک همراه با تور ترجیح داده می‌شود. چون صید با شناورهای ترال سبب وارد شدن آسیب بیشتر به مولدین می‌گردد. ماده‌های وحشی برای استفاده درتسهیلات رسیدگی جنسی باید تخمدانهایی تکامل یافته و وزنی در حدود ۶۰ گرم داشته باشند و میگوهای نر نیز باید تقریباً وزنی حدود ۵۰-۴۰ داشته باشند.

مولدین پرورشی: در ده سال اخیر، منابع ذخائر میگوی پرورشی رایج‌تر شده‌اند بطوریکه ذخائر پرورشی *P. vannamei* در حال حاضر به صورت تجاری در دسترس است. ذخائرسیستم مداربسته در اندازه‌های کوچکتر از میگوهای وحشی تهیه می‌شوند. به طوری که نرها تقریباً ۳۰ گرم و ماده‌ها کمتر از ۳۵-۳۰ گرم نبوده و معمولاً بیش از ۴۰ گرم هستند. ماده‌ها معمولاً در وضعیت نارس تهیه می‌شوند. شاید ذخائر پرورشی از یکی از این چندین منبع تأمین شوند. در بعضی از کشورها، برنامه‌های اهلی‌سازی بخوبی دایر شده است در حالیکه سایرکشورها تنها به ذخائر وارداتی تکیه می‌کنند. ذخائر اهلی ممکن است از لحاظ ژنتیکی از طریق برنامه اصلاح نژاد خاصی جهت انتخاب خصوصیات مطلوب بهبود یابندیا به طور ساده از ذخایر عاری از بیماریزای خاص یا منبعی انتخاب شوند که گمان می‌رود نسبت به عوامل بیماریزا مقاوم یا سازگارند.

بر اساس گزارش Wyban, (۲۰۰۳) برای کاهش خطرات بیماری،انواع خاصی از مولدین پرورش داده شده‌اند. بطورکلی، ذخایرعاری از عوامل بیماریزای خاص (SPF) در کارگاههایی با ایمنی زیستی بالا نگهداری می‌شوند و

لارو آنها (سلامت بالا به جای SPF معرفی شده است) به صنعت پرورش معرفی می‌شوند. میگوهای مقاوم به پاتوژن خاص (SPR) آنهایی هستند که نسبت به آلودگی با یک یا چندین عامل بیماریزای خاص حساس نیستند و میگوهای با قدرت تحمل به عوامل بیماریزا (SPT) آنهایی هستند که به طور عمده برای ایجاد مقاومت به بیماری ناشی از یک یا چندین پاتوژن خاص اصلاح‌نژاد می‌شوند. برای مثال،لاین‌هایی از *Penaeus stylirostris* وجود دارد که به IHHN مقاومند. در صورتیکه مولدین از خارج کشور وارد شده ویا از منابع وحشی تامین گردد باید آنها را در یک سیستم قرنطینه نگهداری و سپس از آنها استفاده نمود. روند نگهداری مولدین در قرنطینه در یک مرکز تولید میگوی عاری ازبیماری به شرح ذیل است:

قرنطینه سیستم نگهداری بسته‌ای است که میگوها را در مخازن مجزایی نگهداری می‌کنند تا نتایج آزمایش ویروسها (در صورت امکان برای باکتریها) شناخته شود. واحد قرنطینه مولدین باید از نظر ساختاری جدا از سایر بخشهای کارگاههای تکثیر باشد. اگر این امکان وجود ندارد، طراحی کارگاههای تکثیرباید به گونه‌ای تغییر داده شود که امکان انتقال آلودگی از بخش قرنطینه یا نگهداری به سایر بخشهای تولیدی وجود نداشته باشد. باید نسبت به مصرف مواد زائد و تصفیه مواد خروجی توجه ویژه‌ای نمود.ابزار و ادوات بکار رفته د بخش قرنطینه نباید مورد استفاده سایر بخش ها قرار گیرد.به کارکنانی که در این بخش مشغول بکارند، نباید اجازه ورود به سایر بخشهای تولیدی داده شود و در تمام مدت باید پروتکل بهداشتی را رعایت کنند (افشارنسب، ۱۳۸۶).

بخش قرنطینه باید شامل خصوصیات ذیل باشد:

- برای پرهیز از انتقال هر گونه آلودگی تا حد ممکن، این بخش باید به حد کافی از تمام بخشهااز جمله بخشهسته و بخش های تکثیر و پرورشی جدا شود.
- این بخش باید ساختمانی سرپوشیده و محصور، بدون ارتباط مستقیم به بیرون باشد.
- در زمان ورود و خروج از بخش، برای ضدعفونی پاها (حوضچه شستشوی پا حاوی محلول هیپوکلریت بیش از ۵۰ میلی گرم در لیتر ماده فعال) و دستها (ظروف حاوی ید) PVP (۲۰ میلی گرم در لیتر یا الکل ۷۰درصد) باید امکاناتی فراهم شود.
- ورود به بخش قرنطینه، باید تنها به پرسنلی محدود گردد که فقط برای کار در این بخش تعیین شده‌اند.
- کارکنان بخش قرنطینه باید از اتاق رختکن وارد شوند جاییکه لباسهای بیرون خود را درآورده و قبل از رفتن به اتاق دیگر برای پوشیدن لباسها و چکمه‌های کار خود، دوش بگیرند . همچنین در انتهای شیفت کاری، توالی معکوس شود.
- برای جابجایی روزانه مؤثر میگوها در داخل و خارج بخش باید تعدادکافی سطلهای پلاستیکی یا ظروف مشابه در اتاق قرنطینه وجود داشته باشد.

• بخش قرنطینه باید دارای تأمین منابع مستقل آب و هوا با سیستمهای تصفیه و ضدعفونی جداگانه باشد و جهت جلوگیری از امکان خروج عوامل بیماریزا به محیط زیست نیز باید دارای سیستمی به منظور تصفیه جریان خروجی باشد.

• آب دریای استفاده شده در بخشباید وارد تانک ذخیره شود که در آنجا قبل از غیرفعال‌سازی با تیوسولفات سدیم (۱ میلی گرم در لیتر به ازای هر میلی گرم در لیترکلرباقی مانده) و هوادهی شدید با محلول هیپوکلریت (۲۰ میلی گرم در لیتر ماده فعال بیش از ۳۰ دقیقه)، تصفیه خواهد شد.

• در تانک دیگر، تمام فاضلاب باید برای کلرزنی (۲۰ میلی گرم در لیتر برای نباید کمتر از ۶۰ دقیقه باشد) جمع شود و کلرزدایی قبل از رهاسازی به محیط زیست صورت گیرد. تمام جانوران مرده یا مبتلا باید سوزانده شوند یا به روش مناسب دیگری عمل شود.

• ظروف پلاستیکی و حوضچه‌های استفاده شده باید شسته شوند و قبل از استفاده مجدد، با محلول هیپوکلریت (۲۰میلی گرم در لیتر) ضدعفونی گردد.

• تمام وسایل استفاده شده در بخش قرنطینه باید دارای علامت مشخصی باشند و باید در بخش قرنطینه باقی بمانند. بایستی در آخر هر روز وسایل لازم برای ضدعفونی تمام تجهیزات در دسترس باشد.

بخشهای مجزای منطقه قرنطینه، براساس دارا بودن میگوهایی که تاکنون از نظر آلودگی آزمایش نشده‌اند (تست اولیه) یا آنهایی که بررسی شده‌اند (تست ثانویه)، باید به صورت «پاک» و «آلوده» طراحی شوند. میگو تنها از یک مسیر یکطرفه از بخش آلوده به طرف بخش پاک ناحیه قرنطینه عبور می‌کند و برای اطمینان از تداخل نیافتن دو ناحیه، تمام جابجایی‌ها باید کنترل شوند. در ورود به منطقه قرنطینه، مولد با غوطه‌وری سریع در محلول PVP – ید (۲۰میلی‌گرم در لیتر) یا فرمالین (۵۰-۱۰۰میلی‌گرم در لیتر) ضدعفونی می‌شود. در روز سوم قرنطینه از هر میگو (اگر به صورت جداگانه نگهداشته می‌شود) یا یک نمونه از جمعیت (اگر به صورت گروهی نگهداشته می‌شوند) یک پای شنا برای تجزیه و تحلیل جدا می‌شود. اگر میگوها به صورت دسته‌جمعی نگهداری می‌شوند، برای ارزیابی شرایط کلی جمیت نگهداشته شده، باید از هر مخزن نمونه‌های تصادفی گرفته شود. گروههایی متشکل از ۱۰ پای شناگر به عنوان یک نمونه می‌توانند تجزیه و تحلیل گردند. هر گروه که جواب مثبت داد، می‌توان آنرا حذف نمود یا در نمونه‌های پرورشی به طور جداگانه نگهداری گردد. پس از آنکه میگوها برای تشخیص به صورت جداگانه مورد آزمایش قرار گرفتند، تنها افرادی با جواب مثبت حذف می‌گردند. جانوران آلوده باید با سوزاندن یا برخی روشهای دیگر (مانند جوشاندن و دفن کردن) نابود گردند که به این ترتیب مانع از انتشار عامل ویروسی خواهد شد.

با توجه به زمان لازم برای تکمیل روش بررسی سلامت، مدت زمان قرنطینه بسیار متغیر است. در تمام موارد،مولدین باید طی قرنطینه بدقت بررسی شوند تا لااقل طی ۲۰ روز قبل از انتقال آنها به بخش بعدی، تمام آزمایشها کامل شوند. با توجه به امکانات و موقعیت بخش قرنطینه و نیز امکانات بخش آداپتاسیون، برای حمل

مولدین به محل دورتر ، بسته‌بندی مجدد یا برای انتقال به بخش دیگری از همان مجموعه، از سطلهای ضدعفونی شده همرا ه با آب بخش آداپتاسیون استفاده می‌شود. در هر مورد، تجهیزات استفاده شده برای انتقال باید از وسایل استفاده شده در بخش قرنطینه جدا نگهداشته شده و قبل و بعد از حمل ونقل ضدعفونی شوند. تمام تجهیزات بکار رفته در بخش قرنطینه باید در همان بخش باقی مانده و در انتهای هر روز تانکهای درنظرگرفته شده برای این هدف ضدعفونی گردند.

بر اساس گزارش(۲۰۰۹) Wyban و (۲۰۰۲) Clifford and Cook برنامه ایمنی زیستی در مزارع میگو بر سه مرحله تمرکز دارد. این سه مرحله عبارتند از آماده سازی بستر استخر و بهبود کیفیت آب قبل از ذخیره سازی، انتخاب تخم و لارو و ذخیره سازی و مدیریت بعد از ذخیره سازی.

بطورکلی محورهای مشخص در خصوص آماده سازی بستر استخرها و بهبود وضعیت آب شامل:

- خارج ساختن لجن و لای مانده در کف استخر ناشی از پرورش دوره قبل پرورش
- در صورتیکه لجنها بطور کامل خارج نشده اند باید بستر استخر شخم زده شود
- استفاده از آهک در آماده سازی استخرها
- ضدعفونی اب ورودی به استخرها
- حاصلخیز کردن استخرها به منظور کاهش خطر بیماری در تراکم‌های پایین
- فیلتر کردن آب ورودی با استفاده از تورهای کیسه ائی با اندازه ۲۵۰ میکرومتر
- آماده نموده آب برای مزارع پرورش ۱۰ تا ۱۵ روز قبل از پرورش

دومین مرحله در اجرای امنی زیستی در مزارع پرورش انتخاب لارو مناسب است. برای انتخاب لارو مناسب باید اقدامات ذیل را به انجام رساند:

- انتخاب لاروهای با اندازه یکسان و رنگ شفاف و روشن،
- شنا کردن پست لاروها بر خلاف جهت آب
- ذخیره کردن پست لاروهائی که ازمولدین عاری از بیماری تولید شده اند
- کاهش استرس از طریق انتقال سریع پست لاروها به استخر (فواصل طولانی موجب بروز استرس و افزایش خطر بیماری میشود).
- حذف پست لاروهای صعیف از طریق اجرای آزمایش فرمالین
- اجرای سیستم نرسری در مزرعه با ذخیره سازی پست لاروها به مدت ۱۵ تا ۲۰ روز
- ذخیره سازی پست لاروها در استخرهائی با باروری جلبکها که رنگ سبز اب مشخص باشد.

سومین مرحله اقدامات لازم برای بعداز ذخیره سازی به شرح ذیل:

- اجرای بازبینی روزانه از مزرعه در طول روز
- نموه برداری برای بررسی رشد و بقا

- ردیابی بیماری های مهم از طریق تنونه برداریهای تصادفی
- بررسی محتویات روده و رنگ میگوها
- تعویض آب به میزان ۱۰ تا ۱۵٪ روزانه
- استفاده از فیلتراسیون برای ذخیره سازی آب
- استفاده از هواده در استخرها
- تلاش در جهت باروری استخرها با ستفاده از جلبک و تغییر رنگ آب به سبز
- آب شفاف موجب کاهش تولید میشود
- استفاده مرتب و ممتد از اهک کشاورزی بالاخص بعد از تعویض آب
- عدم استفاده از مواد شیمیائی
- بررسی سینی غذادهی و بررسی وضعیت غذا خوردن میگوها در طول دوره
- خارج کردن میگوهای مرده یا ضعیف در طول دوره پرورش
- بررسی شرایط برای برداشت اضطراری

سایر مواردی که باید در اجرای یک سیستم ایمنی زیستی مد نظر قرار گیرد شامل:

امکانات آزمایشگاهی پایه (نظیر میکروسکوپ، تواناییهای میکروبیولوژیک و...) برای انجام بررسیهای عادی در مورد سلامت میگو احتیاج می باشد. افزودن امکانات پیچیده برای مثال،جهت انجام آزمایشهایPCR، برای پرهیز از احتمال سرایت، به مکانی با امکانات اختصاصی نیاز خواهد داشت. به علت مقادیر زیاد غذادهی، مخازن رسیدگی جنسی روزانه به سیفون کردن ضایعات حاصل از غذاهای خورده نشده، مدفوع و پوست‌اندازیها نیاز دارند. سیفون شامل دو بخش، یک لوله PVC و یک شیلنگ می‌باشد. هرمخزن رسیدگی جنسی باید لوله PVC مربوط بخود داشته باشد، اما شاید لوله پلاستیکیبرای تمام مخازن استفاده گردد. قبل از آنکه هر مخزن سیفون شود، لوله پلاستیکی باید با آب تصفیه شده پاک و شستشو گردد. آشغال و ضایعات سیفون شده مخازن را می‌توان در کیسه‌های توری که در انتهای لوله پلاستیکی قرار داده شده، جمع‌آوری کرده و بعد ازعملیات پاکسازی سوزاند. در انتهای روز کاری، لوله پلاستیکی را شستشو داد و در درون تانکی حاوی محلول هیپوکلریت کلسیم (۲۰میلی گرم در لیتر) غوطه‌ور گردد.

در صورت وجود جلبک زیاد یا سایر ارگانیزمهای ساکن شامل تک‌یاخته‌های مزاحم، بایستی شستشوی متناوب دیواره‌ها و کف تانک نیز با برس انجام شود. اغلب می توان این کار را با کاستن سطح آب مخازن بدون خارج نمودن مولدین انجام داد. اما گاهی اوقات نیاز به انتقال مولد به تانکهای جدید می‌باشد. این ایده خوبی است که دست‌کم یک مخزن خالی را برای چنین روشهایی کنار گذاشت و پس از آن می‌توان به روش معینی برنامه‌ریزی نمود. طی تمیز نمودن باید دقت نمود که تا حد امکان مولدین، کمتر دستکاری شوند بطوریکه دستکاریبیش از حدمولدین بالغ، از ریتم‌های تخم‌ریزی آنها جلوگیری خواهد کرد.

ساچوک (تورهای دستی) بکاررفته برای صید ماده‌های بالغ باید در ظروف حاوی محلولهای ید –PVP یا هیپوکلریت نگهداری شوند (۲۰میلی‌گرم در لیترماده فعال).

برای تمیز نگهداشتن بخش تخم‌ریزی، تخم‌ریزی باید در بخشی جدا از بخش رسیدگی جنسی انجام گیرد و امکان شستشوی روزانه و ضدعفونی مخازن بدون ایجاد مزاحمت برایمولدین فراهم گردد. بخش تخم‌ریزی، باید دارای زیرساختاری کافی و مناسب برای تولید مقدار ناپلی موردنیاز باشد .

این کار احتمال خطر انتقال افقی بیماریها بین ماده‌ها را کاهش خواهد داد. نشان داده شده است که بافتهای جدا شده طی تخم‌ریزی و مدفوع می‌تواند حاوی مقادیر بالایی از بعضی ویروسها (IHHNN,HPV, BP,MBV و ...) بوده و در معرض این مواد بودن، سبب عفونت ماده‌های سالم طی تخم‌ریزی دسته‌جمعی می‌گردد. اگر باید تخم‌ریزی به صورت جمعی انجام گیرد، تعداد ماده‌ها در هر مخزن باید تا حد امکان کم باشد تا تعداد ماده‌های در معرض آلودگی احتمالی را محدود نماید (برای مثال، یک ماده به ازاء ۳۰۰-۲۰۰ لیتر آب).

مخازن ممکن است کف مسطحی داشته باشند، اما اگر آنها کمی مخروطی‌شکل یا دست‌کم گوشه‌ای برای خروجی داشته باشند، به صیدآسانتر و آسیب کمتر به تمام تخم‌ها کمک می‌کند. هنگام برداشت تخمها، مخازن بایدبنحوی باشد که تخمها را بعد از جمع‌آوری برای شستشو یا حمام ضدعفونی با استفاده از فرمالین (۱۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۳۰ ثانیه) یا ید PVP (۱۰۰-۵۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۳-۱ دقیقه) معرفی کرد. برای مبارزه با آلودگیهای قارچی نیز شاید treflan به غلظت ۰/۱-۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر اضافه شود. این ضدعفونی به کاهش احتمال خطر انتقال بیماری کمک خواهد کرد.

مراحل تصفیه برای آب مخزن تخم‌ریزی و تخم‌گشایی ضروری است. به طور معمول این مراحل شامل استفاده از تصفیه با اشعه ماوراء بنفش و عبور از طریق کربن فعال شده و فیلتراسیون فشنگی(Cartridge) باکمتر از ۱ میکرون است. ترجیحاً کیفیت آب باید با درجه حرارت ۲۹-۲۸ درجه سانتیگراد و شوری ۳۵-۳۰ گرم در لیتر همانند مخازن رسیدگی جنسی حفظ گردد. اتیلن دی آمین ترا استیک اسید نیز اغلب به عنوان عامل چسبنده با مقدار پیشنهادی براساس مقدار فلز سنگین در آن محل، به آب تانکهای تخم‌ریزی اضافه می‌گردد.

٤-١-آزمایش سلامت مولدین

اگر تعداد مولدین در استخرها زیاد باشد، آزمایشهادر مورد ۱۰ مولد جداگانه از گروههای مختلف مولدین انجام می‌گیرد. برای بخشی با گروههای۱۰۰۰ تایی، ۱۵۰ قطعه مولد میگو مورد آزمایش قرار می‌گیرد که برای هر آزمایش به گروههای ۱۰ تایی تقسیم می‌شوند. هنگام گزینش برای برنامه‌های ژنتیکی، برای اطمینان از فقدان عوامل بیماریزا، بایستی آزمایش بیماری‌های مهلک نیز انجام گیرد. اگرچه آزمایشهایPCR باید در ضمن انتقال مولدین به بخش قرنطینه انجام گیرد، اما این آزمایشها زمانی ارزش دارند که بعد از تخم‌ریزی، در مورد مولدین آزمایشهای PCRاضافی (حداقل برای WSSV) انجام شود. چون مدارکی وجود دارد که مولدینی که نتیجه

آزمایش PCRآنها در مورد WSSV طی قرنطینه منفی شده، اگر در معرض استرسهایی همچون تخم‌ریزی قرار گیرند، نتیجه آزمایش آنها شاید مثبت گردد.

تهیه غذا باید با استفاده از استانداردهای بهداشتی ایده‌آل انجام شود. ابزار و وسایل (چاقوها، میزها، مخلوط کن‌ها، پلت سازها و غیره) باید تمیز نگهداشته شوند و قبل از استفاده با محلول ید–PVP (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) شسته و بعد با آب تمیز آبکشی شوند.

در زمان استفاده از غذاهای تازه مانند اسکوئید،پرتاران، آرتمیا، کریل، ماسل ها، اویسترها، سایر صدف‌های خوراکی و ... باید سعی نمود از تازه بودن مواد تا حد امکان اطمینان حاصل کرد. برای اطمینان از اینکه غذاهای تازه احتمال خطر ایمنی زیستی ندارند،هنگام خرید گواهی مبنی بر فقدان ویروسهای TSV و YHV, WSSV توسط آزمایش‌کننده PCR باید در خواست شود . برای غیر فعال کردن هر ویروسی، ممکن استغذاها به نوبت استریل یا پاستوریزه (توصیه شده) شوند به‌شرطی که قابلیت پذیرش یا کیفیت غذاها را تحت تأثیر قرار ندهد . به طور ایده‌آل، انواع مختلف غذاهای منجمد باید در فریزرهای مجزا نگهداری شود.

۵-۱-نگهداری وسایل

بایستی برای خوش‌بین‌بودن به شرایط رشد و بقا و سلامتی مولدین، لارو و پست لارو میگو امکانات بخوبی حفظ گردند تاخطر شیوع بیماری کاهش یابد. برای تهیه این شرایط باید توسط مدیریت کارگاهتکثیر، پروتکلهای مناسبی مانند بخشی از روندهای استاندارد بهره‌برداری (SOPs) تنظیم شود و توسط تمامی کارکنان در تمام مدت بدقت اجرا شود. SOPsکارگاههایتکثیر (روندهایاجرایی استاندارد کارگاههای تکثیر) باید حاوی روشهایی برای خشک کردن بهداشتی استخرها بعد از هر دوره پرورشی (برای پرورش لارو) یا دست کم هر ۴-۳ ماه (برای وسایل رسیدگی جنسی) باشد ودر ادامه با یک دوره خشکی کوتاه‌مدت ۷ روزه باشد. این امر به جلوگیری از انتقال عوامل بیماری از یک دوره به دوره بعدی جلوگیری خواهد نمود.

مخازن بکار رفته برای تخم‌ریزی مولدین، تخم‌گشایی و نگهداری ناپلی و پست‌لارو بعد از هر بار استفاده باید کاملاً تمیز شوند. در واقع، روشهای بکاررفته برای تمیزی و ضدعفونی همه مخازن و تجهیزات مشابه‌اند که شامل شستشو باآب تمیز و شوینده به کمک برس برای زدودن همه کثافت‌ها و ضایعات و ضدعفونی با محلول هیپوکلریت (۳۰-۲۰ میلی گرم در لیتر ماده فعال) یا محلول ۱۰درصد اسید موریاتیک (۳-۲) pHو آبکشی با آب تمیز فراوان برای از بین بردن تمام بقایای کلر یا اسید است و پس از آن خشک کردن می‌باشد. دیواره‌های مخزن نیز شاید با اسید موریاتیک پاک شوند. مخازن صحرایی و مخازن کوچک می‌توانند با خشک شدن در معرض نور خورشید استریل شوند که بایستی نکات ذیل در نظر گرفته شوند:

- مخازن باید در انتهای هر دوره پرورش ، شستشو و ضدعفونی شوند.
- تمام تجهیزات کارگاههای تکثیرباید به طور مرتب تمیز و ضدعفونی گردند.

- تانکهای بتنی باید با رنگ epoxy دریایی رنگ‌آمیزی شوند. تمیز نمودن مخازن پلاستیکی نسبت به مخازن سیمانی آسانتر است.
- بعد از برداشت لارو از مخزن پرورش لارو، مخزن و همه تجهیزات آن باید ضدعفونی شوند. همین طور وقتی همهمخازن یک سالن برداشت شدند ، سالن وتمامی تجهیزات آن باید ضدعفونی شوند.
- می‌توان مخازن را تا بیشترین حد پر کرد و محلول هیپوکلریت اضافه نمود تا به غلظت کم ۳۰-۲۰ میلی گرم در لیتر ماده فعالبرسد. بعد از ۴۸ ساعت می‌توان مخازن را تخلیه نمود و تا شروع دوره بعد باید خشک نگهداشت.
- تمام تجهیزات و مواد بکار رفته در سالن (فیلترها، حوضچه‌ها، ظروف آزمایشگاهی، لوله‌های آب و هوا و ..) را پس از پاکسازی اولیه با محلول اسید موریاتیک ۱۰ درصد، می توان در مخازن حاوی محلول هیپو کلریت قرار داد.
- مخازن رسیدگی جنسی مولدین و تمام تجهیزات مربوطه باید پس از یک دوره کاری ۳ یا ۴ ماهه شستشو و ضدعفونی گردند.
- لوله‌های آب و لوله‌های هوا، سنگهای هوا و ... باید (یا طی خشک کردن) با غلظت یکسان کلر یا محلول ۱۰درصد اسید موریاتیک (pH=۲-۳) با پمپ کردن از مخزن مرکزی، ماهانه شسته شوند.
- تمام ساختارهای کارگاههای تکثیر(کف ودیوار) باید به طور دوره ای (یکبار در هر دوره) ضدعفونی گردند.
- سایر تجهیزات نیز بین دوره ها تمیز شوند.
- قبل از ذخیره‌سازی مخازن دردوره جدید، باید حداقل یکبار با مواد شوینده شسته شده و با آب تمیز آبکشی شوند و با اسید موریاتیک ۱۰درصد پاک شده و قبل از پر کردن، بیش از یکبار با آب تصفیه شده آبکشی گردند.
- شاید نیاز باشد که روشهای ضدعفونی بر طبق نیازهای خاص تجهیزات تنظیم گردند.
- هنگام استعمال مواد شیمیایی برای ضدعفونی،بایستی مقادیر مناسب و مجاز مدنظر قرار گیرند.
- روشهای مربوط به استفاده و نگهداری مواد شیمیایی، ابزار حفاظت و ... باید جزء روندهای بهره‌برداری استاندارد (SOPs) باشند.

مواد پیشنهادی، مقادیر و دفعات آن برای ضدعفونی هچریهای گوناگون در OIE(2003) نیز ارائه شده است.

برای ممانعت از انتقال آلودگی در بین بخشهای مختلف کارگاههای تکثیر، باید برای هر بخشی که به آنها نیاز دارد، سیستمهای مداربسته مجزایی استفاده شود. سیستمهای مداربسته آب کارآمدترین سیستم برای رسیدگی جنسیمولدین هستند که نیاز به تعویض و تخلیه آب مازاد را می‌کاهند. سیستمهای مداربسته به ثابت ماندن پارامترهای شیمیایی و فیزیکی در آب و تمرکز هورمونهای جفت‌گیری در رسیدگی جنسی کمک می‌کنند که منجر به ایجاد ایمنی زیستی بهتری می‌گردد.

اگر گردش آب دریا برای هر بخش از کارگاههای تکثیر مورد نیاز باشد، به زیست‌صافی اضافی نیز برای خروج مواد آلی نامحلول نیاز خواهد بود. انواع بسیاری از زیست‌صافی‌ها وجود دارد که همگیمتشکل از عناصر زنده هستند (باکتریهای شوره‌زدا) که باید قبل از استفاده، تکثیر یا ثابت گردند (مواد بیولوژیک به فیلتر اضافه می‌شود) تا اینکه آثارآنها در تمام مراحل دوره،اپتیمم گردد. زیست‌صافی‌ها به صورت دوره ای باید تمیز گردند بطوریکهباکتریهای ساکن مفید صافی تخریب نشوند.

مخازن تخم‌ریزی، تخم‌گشایی و پرورش جلبک خالص باید آبی با کیفیت یکسان دریافت کنند و به روش مشابه، این آب همانند آب مصرفی در واحدهای رسیدگی جنسی و پرورش لارو(برای مثال، با افزایش استریلیزاسیون اشعه ماورا بنفش و فیلتراسیون ۱-۰/۵ میکرون) اصلاح شوند. علاوه بر این، برای تخم‌گشایی وتخم‌ریزی اغلب به میزان ۴۰-۲۰ میلی‌گرم در لیتر اتیلن دی آمین تترا ستیک اسید نیاز است تا از فقدان فلزات سنگین اطمینان حاصل شود و معمولاً برای مبارزه با قارچها نیز ترفلان (Treflan)هم به میزان ۰/۱-۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتراستفاده می‌شود.

پخش آب از استخر مادر به بخشهای مختلف کارگاه تکثیر، باید طوری طراحی شود که هر بخش را بدون به مخاطره انداختن سایر بخشها بتوان ضدعفونی نمود. در این روش، ضدعفونی‌کننده‌های منظم و زمان‌بندی شده را می‌توان در زمان مناسب در هر بخش انجام داد تا از انتقال آلودگی در بین بخشها اجتناب نمود. تنظیم درجه‌حرارت و شوری بین بخشهای مختلف متغیر است و با طراحی خوب یک سیستم پخش، این امر تسهیل می‌شود . بعلاوه، هر بخش احتیاجات فیلتراسیون خاص خود را داردکه قبل از استفاده، متناسب با هرمنطقه از کارگاه تکثیرمی‌تواند نصب شود. پمپها، لوله‌ها و تجهیزات فیلتراسیون باید سایزبندی شوند بطوریکهماکزیمم میزان تعویض آب مورد نظر حفظ شده و از شرایط اپتیمم در تمام اوقات اطمینان حاصل گردد.

٦-١-ضدعفونی مولدین

بعد از خروج مولدین تخم‌ریزی نموده ازمخازن تخم‌ریزی و قبل از بازگرداندن آنها به تانک اصلی، باید آنها را در ید – PVP (۲۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۱۵ ثانیه) غوطه‌ور نمود.

۷-۱-شستشوی ناپلی

برای جلوگیری از آلودگیهای قارچی می‌توان ناپلی‌های صید شده در مرحله ۴ را در حمامغوطه‌وری ترفلان (۰/۱-۰/۰۵ میلی گرم در لیتر) تیمار نمود و سپس با آب فیلتر استریل شده شسته و در محلول ید- PVP(۱۰۰-۵۰میلی گرم در لیتر به مدت ۳-۱ دقیقه) یا محلول کلروآمین- T (۶۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱ دقیقه) حمام سریع شده و بسرعتً با آب دریای تمیز آبکشی می‌شوند.

مراحل شستشوی دیگری با استفاده از فرمالین و ید –PVP نیز شرح داده شده است . چن و همکاران (۱۹۹۲) و مین و بروک (۱۹۹۴) روشی را ارائه کرده‌اند که در آن ناپلی‌ها در فرمالین (۳۰۰ میلی گرم در لیتر) و یدوفور (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) به مدت ۳۰ ثانیه حمام سریع می‌شوند و سپس به مدت ۳ دقیقه با آب دریای استریل،فیلتر شده و آبکشی می‌گردند و سپس ذخیره می‌شوند. این روش می‌تواند در از بین بردن مواد زائد و ارگانیزمهای مزاحم مانند باکتریها و پروتوزوآها مؤثر بوده و انتقال بیماریهای ویروسی را نیز به حداقل می‌رساند.

۸-۱-انتخاب ناپلی

از آنجائیکه ناپلی نورگرایی قوی ومثبت از خود نشان میدهد، می‌توان از نوربرای جذب آنها به سطح آب استفاده نموده و ناپلی‌های سالم را صید نمود. آنهایی را که در کف تانک باقی می‌مانند را حذف نموده و به این ترتیب درصد ناپلی ضعیف و ناهنجار کاهش می‌یابد. پس از صید، برای تعیین میزان تخم‌گشایی، تعداد ناپلی‌های خوب شمارش می‌شوند. در دسته‌های خوب میزان تخم‌گشایی باید بیش از۷۰درصد باشند. در صورت مواجه‌شدن با مقادیر کمتر، باید برای اینکه آیا کل توده باید حذف شوند، تصمیمی اتخاذ شود و بررسیهایی نیز برای یافتن علت این مشکل آغاز گردد.

از آنجائیکه ناپلی نورگرایی قوی ومثبت از خود نشان میدهد، می‌توان از نوربرای جذب آنها به سطح آب استفاده نموده و ناپلی‌های سالم را صید نمود. آنهایی را که در کف تانک باقی می‌مانند را حذف نموده و به این ترتیب درصد ناپلی ضعیف و ناهنجار کاهش می‌یابد. پس از صید، برای تعیین میزان تخم‌گشایی، تعداد ناپلی‌های خوب شمارش می‌شوند. در دسته‌های خوب میزان تخم‌گشایی باید بیش از۷۰درصد باشند. در صورت مواجه‌شدن با مقادیر کمتر، باید برای اینکه آیا کل توده باید حذف شوند، تصمیمی اتخاذ شود و بررسیهایی نیز برای یافتن علت این مشکل آغاز گردد.

بطورکلی، میزان ناهنجاری شکلی قابل قبول کمتر از ۱ درصد در نظر گرفته می‌شود. یک روش برآورد وضعیت ناپلی ، استفاده از میزان نور گرایی مثبت است. برای انجام این آزمایش، تعدادی از لاروها در مخزنی شفاف مجاور یک منبع نوری قرار داده می‌شوند و جابجایی لاروها مشاهده می‌شود . اگر ۹۵درصد یا بیشتر لاروها به طور قوی به سمت نور حرکت کنند،توده خوب، اگر ۷۰درصد یا بیشتر به نور پاسخ دهند توده متوسط و اگر کمتر از ۷۰درصد به سمت نور حرکت کنند، ضعیف هستند .توده‌های خوب و ضعیف حذف می شوند.

۹-۱-ایمنی زیستی در پرورش لارو

ورود به بخش (یا بخشهای) پرورش لارو باید تنها محدود به کارکنانی گردد که در این بخش‌ها مشغول بکارند.در جلوی درب ورودی هر سالن کارگاه تکثیرباید پادری‌های بهداشتی یا حوضچه های شستشوی پا حاوی محلول ضدعفونی (برای مثال، محلول هیپوکلریت سدیم یا کلسیم ماده فعال بیشتر از ۵۰ میلی گرم در

لیتر) قرار داده شوند. به هنگام ضرورت، محلول ضدعفونی باید تعویض شود. درهر ورودی به سالن (سالنهای پرورش لارو، ظرف (ظروفی) حاوی ید –PVP (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) یا الکل ۷۰درصد باید وجود داشته باشد و تمام کارکنان باید دستهای خود را در محلول (محلولهای) ضدعفونی،هنگام ورود و خروج از سالن‌ها بشویند.

هر سالن باید مقدار کامل از مواد را برای گردش عادی کار (فیلترها، تورها، سطلها و...) داشته باشد. یک تانک (۵۰۰-۶۰۰ لیتری) حاوی ضدعفونی‌کننده (محلول هیپوکلریت، ۲۰ میلی‌گرم در لیترمقدار ماده فعال) برای ضدعفونی لوله‌های آب، سطلها و ... باید فراهم گردد. در انتهای هر روز می‌توان تجهیزاتی را که به طور معمول استفاده می گردند نیز در این تانک ضدعفونی قرار داد وروز بعد، قبل از استفاده آبکشی نمود. ماده ضدعفونی‌کننده این تانک باید روزانه یا در زمان نیاز تعویض شود. علاوه براین، ظروف آزمایشگاهی، تورها و سایر ادوات مورد استفاده برای هر تانک باید در سطلی پر از محلول هیپوکلریت‌سدیم (۲۰ میلی‌گرم در لیتر ماده فعال) نگهداری شوند و برای جلوگیری از آلودگی بین تانکها در یک واحد، به تانک‌های جداگانه ادوات اختصاص یابند.

برای بررسی معمول نمونه‌های لارو و پست لارو باید از ظروف پلاستیکی قابل فروش (فنجان‌های کاغذی یا ظروف پلاستیکی ۳۰۰ میلی لیتر) که یکبار مصرف‌اند، استفاده شود. بعد از اتمام بررسی روزانه لارو یا پست‌لاروها، باید آنها را در ظروف پلاستیکی حاوی هیپوکلریت‌سدیم (۲۰میلی‌گرم در لیتر ماده فعال) یا ضدعفونی‌کننده‌های مناسب دیگر ریخت. لارو و پست‌لاروی را که روزانه برای چک کردن استفاده می‌شود نباید هرگز به سالن پرورش لارو یا تانکهای لارو برگرداند. در واقع، زیرساختار پرورش لارو شامل تعداد یمخزن پرورشی مخروطیدایره ای یا v شکل باشد (گاهی اوقات مخازن در ۲ فاز هستند). ازمخازن جهت پرورش ناپلئوس تا پست‌لارو ۵-۴ و مرحله بزرگتر و مخازن یا کانالهایی با کف مسطح (برای پست‌لارو یا پرورش نوزادگاهی). زیرساختار شامل:سیستم تصفیه، سیستم ذخیره آب، سیستم حرارتی و توزیع آب،سیستم هوادهی، تسهیلات تولید غذای زنده برای جلبک و آرتمیا (و سایرغذاهای زنده)،آزمایشگاههایبهداشت، باکتری‌شناسی و تهیه غذا، دفاتر و محوطه‌ای برای بسته‌بندی و انتقال پست‌لارو می‌باشد.

۱۰-۱-مدیریت غذا و تغذیه لارو ها

همه غذاها،بویژه غذاهای زنده (جلبک، آرتمیا و سایرین)، یک نقطه کنترل بحرانی (CCP) است زیرا غذاها با مدیریت نامناسب امکان آلوده شدن دارند. تمام منابع غذاهای زنده، تازه و منجمد باید از نظر احتمال عامل بیماریزایی مورد توجه قرار گیرند. منبع، طرز عمل و نگهداری و استفاده از اقلام غذا باید مرور گردد و گامهایی برای اطمینان از ایمنی غذاها برداشته شود و به طور مناسب و صحیح مدیریت شود.

کارکنان این بخشها نباید قادر به ورود به سایر بخشهای باشند. هنگام ورود به هر سالن باید حوضچه شستشوی پا که حاوی محلول ضدعفونی کننده (هیپوکلریت کلسیم(سدیم)،کمتر از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ماده فعال)، قرار

داده شود. این محلول در صورت لزوم تعویض شود. در سایر بخشها طشت حاوی محلول ضدعفونی‌کننده (۲۰میلی‌گرمدر لیتر ید – PVP یا الکل ۷۰درصد) درکنار در ورودی قرار داده شود و همه کارکنان باید دستهای خود را هنگام ورود و خروج از سالن شستشو دهند.

این موضوع فراتر از محدوده این راهنماست که به جزئیات و برنامه‌های دقیق تغذیه‌ای پرورش لارو بپردازد. جیره‌های غذایی باید بر اساس احتیاجات خاص مراحل مختلف لاروی باشدکه با آزمایشهای مکرر و جزئی‌تر فعالیتهای تغذیه‌ای لارو در هر تانک باید تضمین گردد.

۱-۱۰-۱-جلبک

پرورش میکروآلگها در فازهای آزمایشگاهی به رعایت بسیار بالای موارد بهداشتی نیاز دارد که شامل ضدعفونی و فیلتراسیون کامل (با کمتر از ۰/۵ میکرون) تمامی تجهیزات ذخایر آب و هوا با استفاده از استریل‌کننده‌هابرای تمام تجهیزات و آب می باشد.استفاده از مواد شیمیایی بارورکننده آزمایشگاهی خالص و تصفیه هوا برای حفظ درجه حرارت ۲۴-۱۸درجه سانتیگراد است.

جلبک‌های تک‌سلولی مانند *Chaetoceros,Thalassiosira,Tetraselmis, Isochrysis , Dunaliela* معمولترین جلبکهای مورد استفاده می باشند. پرورش خالص تمام گونه‌های جلبکی باید در تمام مراحل (از پتری‌دیش‌های آگار و لوله‌ها / بطریها در آزمایشگاه تاپرورش وسیع درخارج ازآزمایشگاه) نگهداری و پرورش داده شوند. برای اطمینان از کیفیت پرورش، باید از روشهای میکروبیولوژیک وبهداشتی مناسبی استفاده گردد. از آلودگی با تک‌یاخته‌های تغذیه‌کننده از جلبک و سایر گونه‌های جلبک و باکتریها (بویژه گونه‌های ویبریو که خطرناک و مضرند) باید اجتناب نمود. متناوباًکشت‌های خالص اولیه می‌توانند از آزمایشگاههای معتبر پرورش جلبک خریداری شده و در مخازن حجیم هچری با استفاده از روشهای بهداشتی پرورش داده شوند. روش خرید مقدار زیاد جلبک خالص و کشت ثانویه مداوم آن، طی هر دوره پرورش لارو پیشنهاد نمی‌شود زیرا احتمال آلودگی جلبک و سرانجام خود لاروها وجود دارد. سپس ضدعفونی مخازن پرورش جلبک با محلول هیپوکلریت کلسیم (سدیم) (۱۰میلی‌گرم در لیتر ماده فعال)انجام می‌گیرد و بایستی آنها را با آب تصفیه شده و تمیز آبکشی نمود و قبل از کنار گذاشتن برای خشک شدن، با اسید موریاتیک ۱۰درصد شستشو داد.

۲-۱۰-۱-آرتمیا

برای همه سیستمهای خریداری شده آرتمیا، در مورد فقدان ویروسهایYHV,WSSV, TSVیا سایر ویروس های مدنظر به روش تجزیه و تحلیل PCR، ممکن است گواهی درخواست شود. برای جلوگیری از آلودگی آب پرورش آرتمیا و در نتیجه امکان آلودگی آب پرورش لارو، کپسول‌زدایی سیستها توصیه می‌شود.سپس می‌توان سیستهای کپسول‌زدایی شده را با آب تازه و تمیز شستشو داد و تا زمان نیاز برای تخم‌گشایی، در محلول نمکی

فوق اشباع نگهداری شوند. پس از آن، ناپلی‌ها برداشت می‌شوند و با محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰ میلی‌گرم در لیتر یا بهتر از آن به مدت ۳ دقیقه با ۶۰ میلی‌گرم در لیتر کلروآمین، تی ضدعفونی می‌شوند و با آب تمیز شسته می‌شوند. سپس می‌توان آنها را به صورت زنده، منجمد یا هنگام نیاز در تغذیه لاروها مصرف نمود یا برای غنی‌سازی در مخازن جداگانه (به مدت ۱۲-۳ ساعت) قرار داده شوند یا برای پرورشدر تغذیه مراحل پست‌لاروی مصرف شوند.

پس از برداشت،مخازن استفاده شده برای تخم‌گشایی آرتمیا باید با مواد شوینده و آب شسته شده و سپس با استفاده از اسفنج آغشته به محلول هیپوکلریت سدیم (۲۰ میلی‌گرم در لیتر ماده فعال) ضدعفونی گشته و با آب اصلاح و تصفیه شده فراوان (فیلتر و استریل شده) آبکشی می‌شوند و مجدداً با محلول۱۰درصد اسید موریاتیک شسته می‌شوند. ناپلی‌ها و آرتمیاهای بالغ منجمد باید در یک فریزر مجزای مخصوص ذخیره شوند. پروتکلهای اساسی بهداشتی (SOPs) باید در تمام مواقع اجرا شود.

۳-۱۰-۱-غذاهای مصنوعی

بطورکلی، مادامی که غذاهایی با کیفیت بالا انتخاب شوند و به طور صحیح در جای سرد و خشک نگهداریگردند و ظرفهای باز شده بسرعت مصرف شدهو بیش از حد مصرف نشوند (که این کار سبب پیامدهای کیفی آب می شود) نباید موجب بروز بیماری شوند.

۱۱-۱-مدیریت بهداشتی لارو

فاکتورهای زیادی در مدیریت بهداشتی لارو در کارگاه تکثیروجود دارد، باید در مورد تمام این فاکتورها طی دوره پرورش لاروی کنترل دقیقی (شدیدی) اعمال گردد تا تعداد مناسبی از لاروهای با کیفیت بالا تولید شوند. تعدادی از فاکتورهای معمول‌تر در خصوص بهداشت طی دوره پرورش لارو در جدول ۴ نشان داده شده است(فرض بر آن است که بر طبق روشهای مطرح شده در بخشهای ابتدایی‌تر این مجموعه، ناپلی با کیفیت بالا ذخیره شده است).

جدول٤: بعضی از فاکتورهای موثر برسلامتی لاروهای میگو و امکان روشهای کنترل

فاکتور	آثار	روشهای کنترل	استاندارد
تراکم بیش از حد	استرس همنوع خواری کاهش کیفیت آب	کاهش تراکم ذخیره	۱۰۰-۲۵۰ ناپلی در لیتر
کیفیت ضعیف آب الف . آب دریا ب . آب تانک	- مرگ و میر -تاخیردر پوست‌اندازی - ناهنجاری	- بهبود کیفیت آب با فیلتراسیون ، کلر زنی یا - استریلیزاسیون (الف) - افزایش تعویض آب (ب)	- فیلتر کوچکتر از ۵ میکرون - کربن فعال شده - کلر زنی (۱۰میلی گرم در لیتر) و خنثی سازی آن - ازن و اشعه ماورا بنفش - تعویض آب روزانه (۱۰۰-۲۵درصد)
دوره طولانی تراکم سازی	- افزایش مقادیر عفونت لاروهایی که بعدها ذخیره می‌شوند	- محدودیت روزهای ذخیره هچری	۴-۳ روز در هر واحد
تغذیه ضعیف (کیفیت یا دفعات)	- همنوع خواری - سوء تغذیه - آلودگیهای سطحی - کاهش کیفیت آب	- برنامه تغذیه مناسب - کنترل مکرر مصرف غذا و کیفیت آب	تغذیه هر ۴-۲ ساعت برای سیر نمودن با غذاهای کیفیت بالا
کیفیت یا مقدار جلبک	- مرگ ومیر در مرحله زوآ - موجودات مزاحم لارو	شمارشهای عادی و کنترلهای کیفی	*Chaetoceros* یا *Thalassiosira*۸۰۰۰۰تا ۱۳۰۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر
ناپلی آرتمیا	منبع باکتری منجر به مرگ و میر	ضدعفونی ناپلی آرتمیا	هیپوکلریت در ۲۰میلی‌گرم در لیتر ماده فعال

تراکم بیش از حد می تواند سبب استرس گشته و در مراحل بعدی منجر به همجنس‌خواری و کاهش کیفیت آب گردد (بخصوص در زمانیکه مقدار بازماندگی بالاست). به طور کلی، میزان ذخیره‌سازی باید در محدوده ۱۰۰-۲۵۰ ناپلی در لیتر آب (۲۵۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰تن) باشد. تراکم‌های پایین‌تر ذخیره به طور معمول در جایی استفاده می‌گردد که لاروها تا سایز برداشت در یک مخزن منفرد پرورش داده می‌شود. در حالیکه تراکم‌های بالاتر را زمانی می توان استفاده نمود که یک سیستم ۲ مخزنی استفاده شود. در سیستم دومی، لاروها در یک تانک مخروطی با کف U یا V شکل با تراکم بالا تا حد پست‌لارو ۴ و ۵ پرورش داده می‌شوند و پس از آن برای مراحل بعدی به تانکهایی با کف مسطح منتقل می‌شوند و در مراحل کفزی تراکمها کاهش یافته و تا۱۰۰پست لارو در لیتر می‌گردند.

بقای ضعیف ممکن است تراکم لارو را در تانک پرورش لارو تا سطح پایین کاهش دهد که هزینه غذادهی بالا می‌شود (زیرا تانکهای پرورش لارو بر طبق حجم آب غذادهی می‌شوند نه بر اساس نسبت تعداد لارو).

کیفیت آب اثر مهمی بر سلامت و عملکرد توده‌های لاروی دارد.کیفیت پایین آب می‌تواند سبب رشد ضعیف، بقای اندک، تأخیر در پوست‌اندازی، افزایش آلودگیهای سطحی و ناهنجاری گردد. آب پرورش لارو باید از صافی حدود ۵ میکرون فیلتر شده و با کلر، ازن یا اشعه ماوراء بنفش ضدعفونی شود. باید درجه حرارت ۳۲-۲۸ درجه سانتیگراد و شوری بالای ۳۰ گرم در لیتر حداقل در مراحل پست‌لاروی حفظ شود. مقدار اکسیژن محلول باید تا حد امکان نزدیک سطح اشباع (۶/۲ میلی‌گرم درلیتر در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد) اما حداقل بالای ۵ میلی‌گرم در لیترباشد. pHباید در حد ۸ حفظ گردد. تغذیه بیش از حد، یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت آب می‌باشد و باید از آن پرهیز نمود.

کیفیت آب باید از طریق هوادهی حفظ شود که مناسب است از رسوب غذاهای مصرف نشده و مدفوعدر ته تانک جلوگیری شود (به طور معمول تانکهایی باکف ۴ ضلعی لازم است) و سیفون‌کردن منظم تانک، از تشکیل رسوب غیر هوازی در ته آن جلوگیری می‌نماید.

بطورکلی، تا زمان رسیدن به مرحله مایسیس، تعویض آب نباید صورت گیرد. اگر چه سطح آب طی مراحل زوآ افزایش داده می‌شود زیرا معمولا ناپلی‌ها در مخازنی ذخیره می‌شوند که فقط تا نیمه پرهستند. بعد از مرحله مایسیس با توجه به تراکم ذخیره و پارامترهای کیفی آب، روزانه ۱۰۰-۲۰ درصد آب تعویض می‌شود. آب تعویضی باید از نظر درجه حرارت،شوری و pH مشابه درون مخزن و عاری از کلربرای پرهیز از استرس بی‌مورد به لاروها باشد.

در تلاش برای حفظ کیفیت آب، به منظور جلوگیری از شکوفایی باکتریایی و کاهش یا حذف آنتی‌بیوتیک‌ها طی پرورش لارو، هچریها به جای آنتی‌بیوتیک‌ها به طور فزآینده‌ای به استفاده از پودرها یا محلولهای پروبیوتیک، باکتریهای مفید و آنزیمهای باکتریایی روی آورده‌اند. همچنین درانتخاب این محصولات و مکمل‌ها باید دقت نموده تا خطری بر خطرات بالقوه مراکز تکثیر افزوده نشود.

علیهذا در تولید و پرورش میگوی کشور بسیاری از عوامل موثر در رعایت ایمنی زیستی نیازمند توجه و دقت لازم در کلیه مراحل تولید می‌باشد. به منظور مقابله با این پدیده یکی از راهکارهها، تولید میگوی عاری از بیماری می‌باشد. و به همین دلیل تولید میگوهای مولد عاری از بیماری از جایگاه ویژه‌ائی در صنعت میگو برخوردار است. بدون شک استقرار سیستم ایمنی زیستی در مراکز تولید میگوی عاری از بیماری میتواند موجب ارتقا و بهروری این مراکز را فراهم نماید.

۱۲-۱-اهداف پروژه

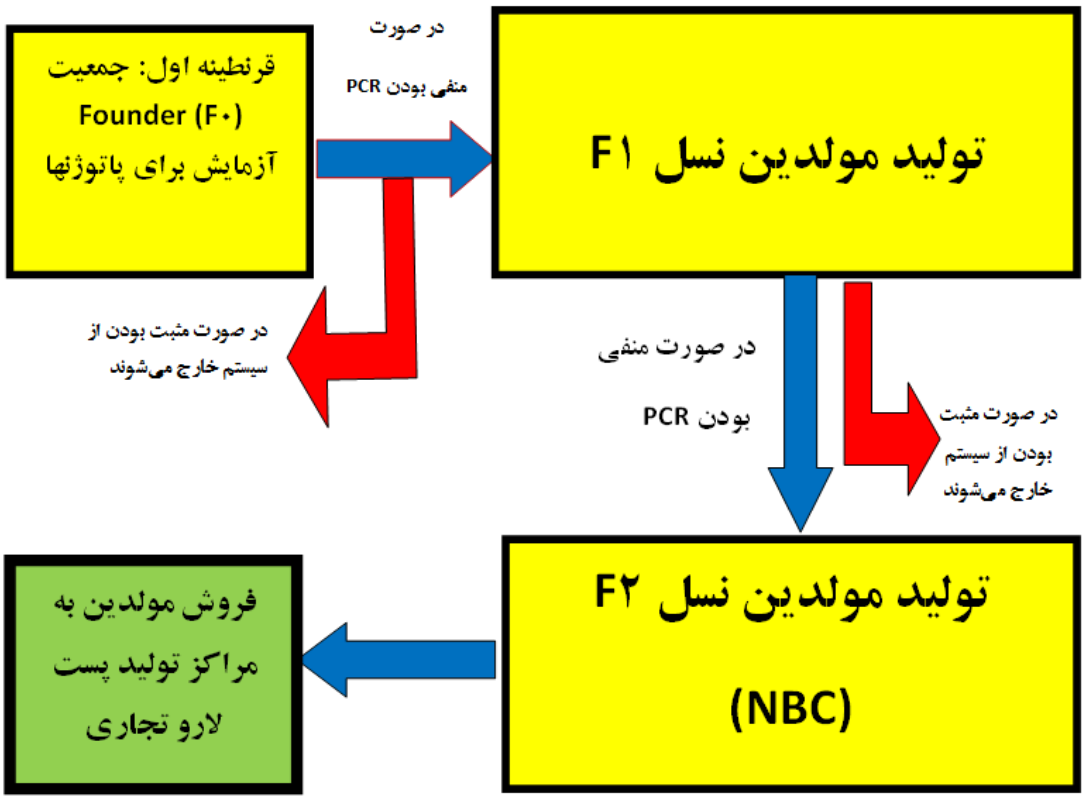
۱- پایش و شناسائی عوامل مهم بیماریزا در تولید میگوی عاری از بیماری

۲- شناسائی مناطق خطر در تولید میگوی عاری از بیماری

۳- ارائه دستورالعملهای اجرائی برای مقابله با خطرات شناسائی شده

۲-مواد و روش کار

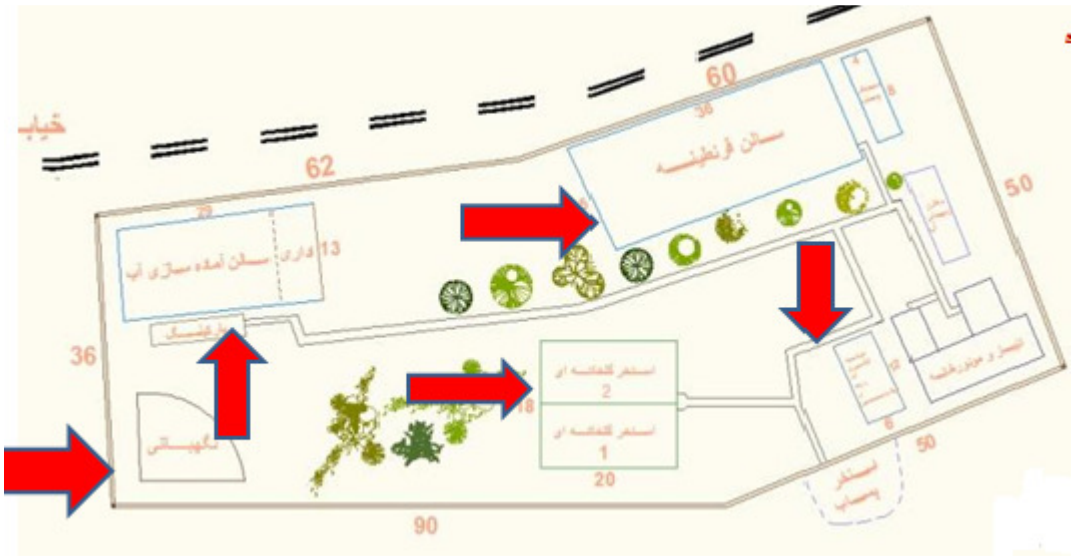
بر اساس مقالات و بررسیهای علمی اجرای طرح ایمنی زیستی در تولید میگوی عاری از بیماری بر موضوعات ، مولد ، غذا، آب، پرسنل و ساختارهای فیزیکی مرتبط است. برای این منظور مطابق تصویر ۱ باید در طی اجرای طرح کلیه محلهائی که امکان بروز خطر وجود دارد را شناسائی نموده و نسبت به کنترل بالاخص در زمینه بیماریها اقدام و غربالگری نمود.



تصویر ۱: مراحل اجرای تولید میگوی عاری از بیماری و مراحل غربالگری

براساس تصویر ۱ با توجه به اینکه در طرح کلان تولید میگوی عاریاز بیماری از میگوهای پرورشی به عنوان جمعیت پایه برای تولید مولدین عاری از بیماری مورد استفاده قرار میگیرند، لذا در مرحله اول باید کلیه میگوهای مولد انتخابیرا از نظر بیماریهای مهم از جمله MBV,IHHNV,TSV,YHV,WSSVرا با روش PCRو روشهای مرسوم غربالگری نمود. این اقدام باید در مراحل تولید مولدین F1,F0و F2 نیز انجام گیرد. همچنین در این زمینه کلیه غذاهای وارد شده درمرکز تکثیر از نظر این بیماریها باید کنترل و غربالگری شود. لاروهای تولیدی نیز باید غربالگری شود. برای هر مورد پروتکل اجرای عملیات باید تنظیم و دردسترس همکاران قرارداد. ورودی کلیه مکانها باید نسبت به استفاده از مواد ضدعفونی اجباری نموده و کلیه امکانات مورد استفاده در هر بخش باید جداگانه و مجزا نگهداری شوند. چنانچه در هر مرحله انجام آزمایش نمونه ها عاری از هرگونه

بیماری باشد وارد مرحله بعد شده و در صورت مثبت بودن از مسیر تولید خارج می‌شود. تا درنهایت درمرحله تولید میگوی SPFو قرار گرفتن در NBCمیگوها از هر گونه پاتوژن عاری باشند در تصویر ۲ کلیه نقاط بحرانی با پیکان قرمز مشخص شده که باید در این محلها اقدامات خاص ایمنی زیستی در محل اجرای طرح بعمل آید. همچنین به منظور رعایت نکات بهداشتی کلیه پرسنل باید از لباسهای یکبار مصرف و چکمه د رمحل طرح استفاده نموده و کلیه ورودی و خروجیهای مراکز قرنطینه را با دوربین مداربسته کنترل نمود. دستورالعملهای بهداشتی برای مراحل مختلف تصفیه آب، تصفیه پساب، غربالگری میگوها، معدوم سازی میگوهای مشکوک، دستورالعمل سالن قرنطینه، دستورالعمل ورود به مرکز ، دستورالعمل انبارش غذا، دستورالعمل استفاده از هیپوکلریت کلسیم، دستورالعمل انبارش هیپوکلریت کلسیم، دستورالعمل غذای تر را باید تعریف واجرا نمود.



تصویر۲: تعیین نقاط بحرانی در محل اجرای طرح میگوی عاری از بیماری خاص (پیکان قرمز).

۳-نتایج

برای استقرار کامل استانداردهای ایمنی زیستی در طرح تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری خاص (SPF) تدوین دستورالعمل اجرایی استاندارد (SOP) در دستور کار بخش بهداشت و بیمارهای میگو و با هماهنگی مجری فنی طرح کلان (SPF) ومجری طرح مستقل بیماری شناسی و پایش عوامل بیماریزا وبر اساس دستور العمل های موجود ارائه شده و از سوی سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE) دستورالعملهای ذیل تهیه گردید (جزئیات دستورالعملها به ضمیمه می‌باشد):

۱. دستورالعمل بهداشتی درب وردی پایلوت(SPF)	کد مدرک L-W001
۲. دستورالعمل بهداشتی سالن قرنطینه	کد مدرک L-W002
۳. دستورالعمل بهداشتی سالن تیمار آب	کد مدرک L-W003
۴. دستورالعمل بهداشتی تصفیه آب	کد مدرک L-W004
۵. دستورالعمل بهداشتی دفع پساب	کد مدرک L-W005
۶. دستورالعمل بهداشتی معدوم کردن میگوی های آلوده	کد مدرک L-W006
۷. دستورالعمل بهداشتی انبارش غذای خشک	کد مدرک L-W007
۸. دستورالعمل بهداشتی غذای تره	کد مدرک L-W008
۹. دستورالعمل بهداشتی غذای زنده	کد مدرک L-W009
۱۰. دستورالعمل بهداشتی خرید هیپروکلریت کلسیم	کد مدرک L-W010

برای اطمینان از اجرای دقیق این دستور العمل یک نفر به عنوان کارشناس ناظر مقیم در ایستگاه در نظر گرفته شد و یک نفر (طبق برنامه از پیش تعیین شده) از بخش بهداشت وبیمارهای میگوی پژوهشکده نیز بر حسن انجام کار و رعایت موزاین ایمنی زیستی در پایلوت تحقیقاتی بندرگاه در نظر گرفته شد و فرم نظارت براستقرار ایمنی زیستی طراحی (تصویر و توسط کارشناس ناظر تکمیل و به مسئول بخش ارائه می گردید.

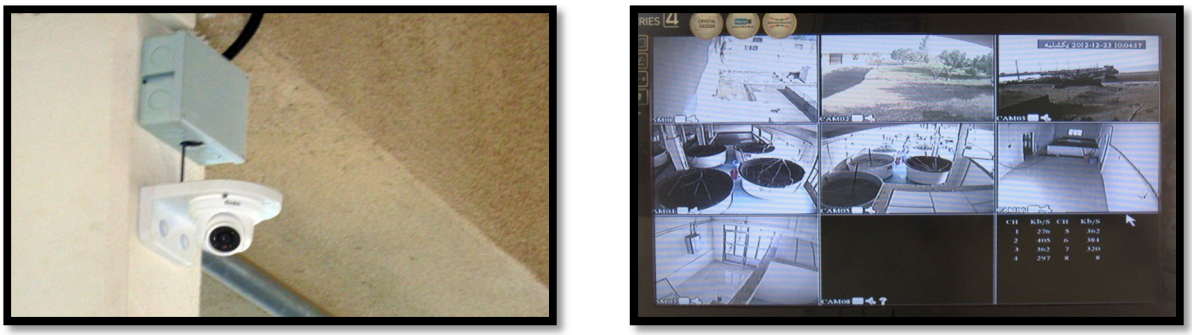
فرم نظارت بر استقرار ایمنی زیستی در پایلوت تولید میگوی عاری از پاتوژن

صفحه ۲ از ۲

ردیف	ضوابط و شرایط بهداشتی کلی	بلی	خیر
۲۱	آیا هر تانک دارای لوازم و وسایل اختصاصی می باشد؟		
۲۲	آیا حوضچه ها و تانکها نشتی آب ندارند؟		
۲۳	آیا سالن اصلی مرکز تکثیر دارای حوضچه ضد عفونی ورودی و مواد ضد عفونی می باشد؟		
۲۴	سالن های تکثیر از نظر بهداشتی در وضعیت مناسب می باشد؟		
۲۵	آیا تخم ریزی در تانکهای اختصاصی صورت می گیرد؟		
۲۶	مستندات دوره تکثیر در هر سالن موجود و به طور کامل تکمیل شود؟		
۲۷	آزمایشگاه آزمایش های مربوط به جلبک انجام می دهد؟		
۲۸	آیا دهانه کانالهای جمع آوری کننده فاضلاب توسط شبکه های مناسب پوشانده شده است؟		
۲۹	آیا برنامه مدون برای ضد عفونی و شستشوی بین دوره ای و درون دوره ای مطابق ضوابط صورت می گیرد؟		
۳۰	آیا حوضچه های پساب خروجی مرتب کنترل می شود؟		
۳۱	آیا عملیات ضد عفونی بر روی پساب خروجی می گیرد؟		
۳۲	آیا اصول بهداشتی و ایمنی در انبار نگهداری مواد شیمیایی رعایت می شود؟		
۳۳	آیا نگهداری غذا و دارو را در انبار مناسب تشخیص می دهید؟		
۳۴	سقف ،کف وسطح داخلی وسطح خارجی انباری خوراک و دارو قابل شستشو و ضدعفونی می باشد؟		
۳۵	آیا موتور برق اضطراری را بررسی و از سالم بودن آن مطلع هستید؟		
۳۶	آیا کارشناسان دارای همکاری مناسب برای نمونه گیری از نقاط مختلف ایستگاه (آب، میگو، غذا و تجهیزات) می باشند؟		
۳۷	نام کارشناس مسئول حاضر در ایستگاه:		
نظر کلی:			
نام و نام خانوادگی کارشناس بررسی کننده: تاریخ:			

تصویر ۳:فرم نظارت براستقرار ایمنی زیستی

همچنین نسبت به نصب ۶ عدد دوربین مدار بسته با کیفیت مناسب و توانایی دید در شب و یک عد دوربین چرخان با وضوح دید بالا اقدام گردید (تصویر۴).



تصویر٤:تصاویر دوربین‌های مدار بسته نصب شده در پایلوت تحقیقتی بندرگاه

برای آشنایی کارگران و تکنسین ها به اهمیت و چگونگی استقرار و استمرار دستورالعمل های ایمنی زیستی در پایلوت تولید میگوی عاری از بیماری خاص در چند نوبت نسبت به برگزاری دوره های آموزشی اقدام گردید (تصویر ۵).

تصویر ۵:دوره آموزشی استقرار دستورالعمل های ایمنی زیستی

برای تسهیل دسترسی به رئوس مطالب درج شده در هریک از دستور العمل های اجرای استاندار (SOPها)، مطالب اصلی و ضروری هر دستورالعمل در قالب پوسترهای بزرگ و خوانا جهت نصب در ورودی هریک از بخش‌های مربوط، تهیه و نصب گردید (تصویر).

تصویر۶:تصاویر مربوط به پوسترهای هشداردهنده دستورالعمل‌های استاندارد اجرایی برای استقرار ایمنی زیستی در پایلوت تحقیقاتی بندرگاه

پس از آماده شدن ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه به عنوان محل اجرای فاز اول طرح کلان (SPF) و بهبود ساختاری سالن قرنطینه، فیلتراسیون شنی واستخر رسوب‌گذاری، سالن تیمارآب و استخر ضدعفونی نمودن درب ورودی و پس از نصب سیستم‌های اولترافیلتراسیون و میکرو فیلتراسیون، برای از بین بردن عوامل بیماریزای احتمالی، تمامی منابع آب ایستگاه تخلیه گردید و ایستگاه به مدت یک هفته به حالت کاملاً خشک نگه‌داری شد. پس از سپری شدن این زمان عملیات کلزنی و ضد عفونی ایستگاه، طبق دستور العمل‌های اجرایی تعیین شده از سوی سازمان جهانی بهداشت جهانی (OIE) انجام شد.

با توجه به اینکه مراکز تکثیر، در طی سال ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱، مولدین خود را از مولدین پرورشی مراکز پرورش به ویژه در استان‌های بوشهر و هرمزگان تهیه نموده بودند، نسبت به ترسیم تاریخچه مولدین مراکز تکثیر اقدام و مراکز پرورش میگو جهت تهیه و جمع‌آوری مولد انتخاب شد. از این رو در تاریخ ۹۱/۰۶/۰۵ لیست مراکز پرورش میگو همراه با تاریخ تقریبی زمان برداشت برای مولد سازی میگوی عاری از بیماری خاص ارائه

گردید.بر اساس مراکز انتخاب شده (جدول ۵)، و به منظور پایش، جداسازی و شناسایی عوامل بیماریزای ویروسی، باکتریایی و انگلیدر تاریخ‌های ۲۵ و ۹۱/۰۶/۲۶ از دو مزرعه درسایت پرورش میگوی حله و در تاریخ‌های ۸ و ۹۱/۰۷/۰۹ از مزارع انتخاب شده در سایت‌های پرورش حله ، رودشور و دلوار ۱۴، دلوار ۲ و بندر ریگهر کدام ۶۰ قطعه بطور تصادفینمونه برداری صورت گرفت و به آزمایشگاه پژوهشکده منتقل گردید (تصویر ۷: و جدول ۶)

جدول ۵:لیست مراکز انتخابی جهت جمع آوری پیش مولد

ردیف	سایت پرورشی	مزرعه	شماره استخر	زمان برداشت
۱	دلوار ۱۴	پارس دریا	۸	نیمه دوم مهر ماه
۲	دلوار ۱۴	یاسین میگو	۲	اواخر شهریور و اوایل مهر
۳	رود شور	رنگین کمان	طرح ۴(استخر ۱) طرح ۴(استخر۲) طرح ۶ (استخر۱)	نیمه دوم مهر ماه
۴	شیف	تعاونی ۷۴۰	۳	نیمه دوم مهر و اوایل آبان
۵	حله	بوشهر میگو	۶ و ۷	اوایل مهر ماه
۶	حله	خارگ میگو	۱۱ و ۱۶	اوایل مهر ماه
۷	حله	تحقیقات	B1	نیمه دوم مهر
۸	حله	۲۷۲	استخر ۶	اوایل آبان ماه

جدول ٦: لیستاستخرهای نمونه برداری شده جهت پایش عوامل بیماریزای ویروسی و انگلی شهریور و مهر ۱۳۹۱

ردیف	نام سایت	تاریخ نمونه برداری	نام مدیر مزرعه	شماره استخر	تعداد نمونه
۱	حله	۹۱/۰۶/۲۵	رستمایی	۶و۱۱	هر استخر ۶۰ قطعه
۲		۹۱/۰۶/۲۶	فتحی	۷و۸	هر استخر ۶۰ قطعه
۳	دلوار	۹۱/۰۷/۰۸	دلواری	۴	۶۰ قطعه
۴		۹۱/۰۷/۰۸	موسوی	۲	۶۰ قطعه
۵	ریگ	۹۱/۰۷/۰۹	موسوی	۶	۶۰ قطعه
۶	حله	۹۱/۰۷/۲۱	سیار	۶	۶۰ قطعه

- میگوهای نمونه برداری شده به روش PCR از نظر حضور عوامل پاتوژن ویروسی (WSV,IHHNV,HPV,TSV,IMNV,YHV و BP) مطابق با لیست OIE و باکتری عامل NHPB مورد غربالگری و آزمون قرار گرفتند (تصویر) همچنین آزمون های انگل شناسی مطابق با روش های رایج از نظر میزان شیوع انگل های اپی کمنسال انجام شد.

. نتایج همه نمونه‌ها از نظر وجود ۷ ویروس فوق منفی بودند و مرگ و میر مشکوکی ناشی از بیماری مشاهده نشد. در ضمن نتایج همه نمونه ها از نظر وجود باکتری NHPB منفی بودند.

- از مجموع نمونه های مورد بررسی در ۵/۶ درصد نمونه ها انگل های اپی کمنسال به میزان زیاد وجود داشتند.

و توسط مرکز تشخیص بیماریهای میگو وابسته به اداره کل دامپزشکی استان بوشهر، گواهی سلامت میگوها صادر گردید.

تصویر ۷:انتخاب میگوی پیش مولد مناسب جهت انتقال به سالن قرنطینه در پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی SPF

همزمان با این تلاشها و قبل از انتقال پیش مولدین به سالن قرنطینه در مورخه ۹۱/۰۶/۰۷، آماده‌کردن ایستگاه و خریداری نمودن وسایل و تجهیزات مورد نیاز جهت اجرای دستورالعمل های استاندارد ایمنی زیستی در پایلوت تحقیقاتی بندرگاه در حال انجام بود.

در تاریخ ۹۱/۰۷/۲۴ از غذای خریداری شده برای مصرف میگوها نمونه‌برداری شد و از نظر وجود یا عدم وجود به آلودگی به ویروس ها و عوامل باکتریایی فوق الذکر نمونه برداری و نتایج اعلام شد. در تاریخ ۹۱/۰۸/۲۹ میگوها وارد سالن گلخانه واقع در ایستگاه بندرگاه شدند که پس از اعمال کامل اصول قرنطینه (حضور بیش از یکماه در سالن قرنطینه)از ۱۸ تانک موجود در ایستگاه و هر تانک تعداد ۱۰ عدد میگو به صورت تصادفی نمونه گیری شد و نتایج آزمایشات ویروس شناسی و باکتری شناسی اعلام گردید که تمامی موارد منفی بودند.

تصویر ۸: بررسی نمونه های جمع‌آوری شده از مزارع پرورش میگو، از نظر آلودگی به عوامل ویروسی

از سال ۱۳۹۲ لغایت اردیبهشت ۱۳۹۳ به موازات اجرای فاز سوم شامل به گزینی و تکثیر مولدین F۰، پرورش لارو های F۱ تا مرحله پیش مولد، مولد سازی میگو های F۱ تا مرحله رسیدگی جنسی و فاز چهارم: شامل به گزینی و تکثیر مولدین F۱، پرورش لارو های F۲ تا مرحله پیش مولد و مولد سازی میگو های F۲ ، پایش عوامل میکروبی (باکتری، ویروس و قارچ) به شرح ذیل صورت گرفت:

- کنترل غذای مورد استفاده در تکثیر و پرورش میگو شامل:
  - غذای کنسانتره
  - غذای تر
  - غذای زنده
- کنترل میگوها در هر مرحله از طرح که انتقال صورت می گرفت از نظر ۸ عامل بیماریزای اخطارکردنی لیست سازمان جهانی بهداشت (OIE) که عبارتند از:
  - ویروس لکه سفید (WSSV)
  - ویروس سندرم تورا (TSV)
  - ویروس کله زرد (YHV)
  - ویروس عفونت زای هیپودرم و نکروز دهنده بافت خونساز (IHHNV)
  - مونودون باکلو ویروس (MBV)
  - پاروو ویروس هپاتوپانکراس (HPV)
  - ویروس نکروز دهنده عفونی عضلات (IMNV)
  - باکتری نکروزدهنده هپاتوپانکراس عفونی (NHPB)
  - تک یاخته میکروسپوریدیا

همچنین پایش وضعیت سلامت میگوها و تلفات آنها به صورت روزانه از طریق حضورکارشناسان بخش بهداشت و بیماریها در پایلوت تولید میگوی عاری از بیماری خاص (بندرگاه) انجام گردید.

در این طرح از فروردین ۱۳۹۰ لغایت اسفند ۱۳۹۲، پایش و غربالگری غذای مورد استفاده در تکثیر و پرورش میگو شامل: غذای کنسانتره، غذای تر (ماهی مرکب، کرم نرئیس و صدف ملالیس) و غذای زنده (جلبک اسپیرولینا وآرتمیا) همچنین میگوها در مراحل مختلف تکثیر و پرورش در هر مرحله انتقال در فازهای اجرایی طرح صورت گرفت (**Error! Reference source not found.**) که تعداد نمونه های مورد آزمایش مطابق جدول و

جدول ۸ می باشد. کلیه نمونه ها از نظر آلودگیهای .یر.سی و باکتریائی عاری بوده و مشکلی برای استفاده در طرح تولید میگوی عاری از بیماری نداشت.

جدول ۷: تعداد نمونه های مورد بررسی از فروردین لغایت اسفند ۱۳۹۲

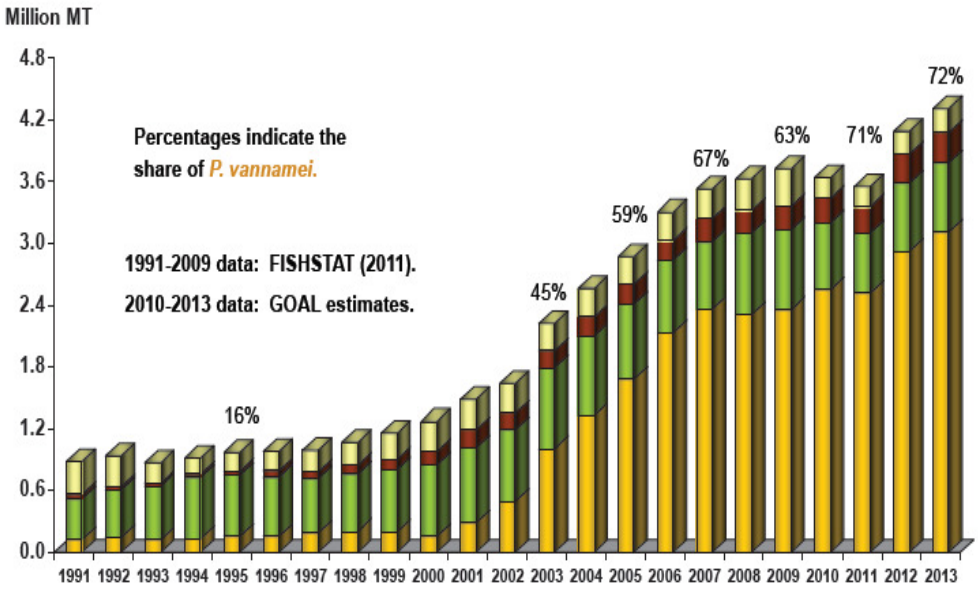
ردیف	نام نمونه	تعداد
۱	میگو	۸۲
۲	غذای کنسانتره	۴
۳	ماهی مرکب	۵۴
۴	کرم نرئیس	۲۱
۵	جگر گاو	۲
۶	صدف ملالیس	۲
۷	جلبک اسپیرولینا	۱
۸	آرتمیا	۱
جمع		۱۶۷

جدول ۸: تعداد نمونه های مورد بررسی از فروردین ۱۳۹۰ لغایت خرداد ۱۳۹۳

ردیف	نام نمونه	تعداد
۱	میگو	۱۰۴
۲	غذای کنسانتره	۲
۳	ماهی مرکب	۹
۴	کرم نرئیس	۱
۵	آرتمیا	۱
جمع		۱۱۷

٤-بحث

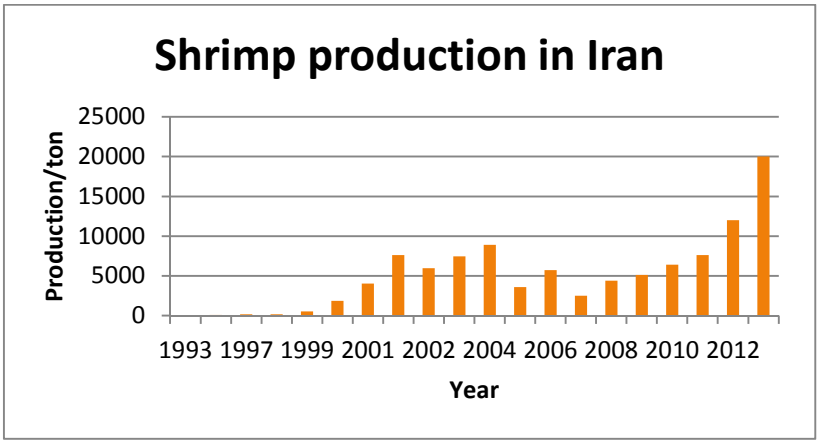
بر اساس نتایج حاصل از اجرای پروژه ایمنی زیستی در محل اجرای طرح کلان میگوی عار یاز بیماری، اقدامات انجام شده توانسته نسبت به جلوگیری از ورود پاتوژنهای احتمالی به مرکز جلوگیری نماید. همچنین نتایج حاصل از اجرای طرح بیانگر این موضوع است که غربالگری میگوهای مولد انتخابی در طرح و همچنین مواد غذائی مورد استفاده در طی اجرای طرح فاقد هر گونه پاتوژزن احتمالی برای مرکز و استفاده در جمعیتهای مختلف میگو بود.اجرای عملیات ایمنی زیستی در تولید میگوی عاری از بیماری خاص از زمانی اجرا گردید که موضوع بیماریها به شدت این صنعت را تهدید نمود. لایتنر (۲۰۰۱) روشهای مختلف اجرای ایمنی زیستی را در مزارع پرورش میگو به منظور جلوگیری از گشترش بیماریها و کاهش مرگ ومیر بیان نمود. از دهه ۱۹۷۰ م، صنعت پرورش میگو به صورت فوق العاده گسترش یافته به طوریکه میزان تولید میگوی پرورشی در سال ۲۰۱۳ به رقم ۴/۲میلیون تن رسید. دراین میان سهم میگوی وانامی به حدود ۷۲٪ می‌باشد(تصویر۹) (Valderrama and Anderson, 2011).



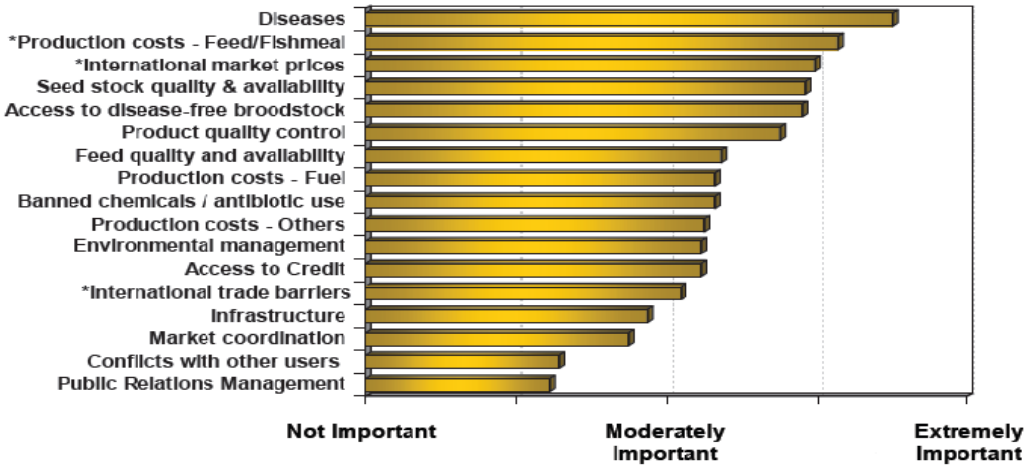
تصویر ۹: تولید میگوی پرورشی تاسال ۲۰۱۲ و پیش بینی تا سال ۲۰۱۳ دردنیا

تولید میگودر ایران تا سال ۲۰۱۳میلادی یا ۱۳۹۲ خورشیدی بالغ بر ۱۲ هزارتن بوده و پیش بینی میشود در سال ۲۰۱۴ میلادی مطابق با ۱۳۹۳ خورشیدی به رقم ۲۰ هزارتن برسد(تصویر۱۰) (Afsharnasab etal.,2014)

براساس گزارش ارائه شده توسط Valderrama و Anderson (۲۰۱۱) از مهمترین چالشهای پرورش میگو موضوع بیماریها بوده (تصویر۱۱) و سالیانه از ناحیه بیماریهای میگو بالغ بر ۲۲٪ از میگوی تولیدی در دنیا از بین رفته که رقمی معادل ۶ میلیارد دلار سالیانه به این صنعت خسارت وارد می‌شود.



تصویر ۱۰: میانگین تولید میگو درایران در سال ۱۳۹۱و پیش بینی در سال ۱۳۹۲



تصویر ۱۱: مهمترین چالشهای میگو در حال و آینده

علیرغم این گسترش سریع در خلال سالهای اخیر کشور های تولید کننده میگو تجارب تلخ فراوانی را ناشی ازشیوع بیماری های ویروسی تجربه کرده اند(chamberlain, 1999). طی چند سال اخیر نیز بیماری جدید و نوظهور دیگری به فهرست بیماری های مرگ آفرین میگو افزوده شده است که سندرم مرگ زود رس (Early Mortality Syndrome) و یا سندرم نکروز حاد هپاتوپانکراس (Acute Haepatopanreatic Necrosis Syndrome) نام گذاری شده است.این بیماری با بروز تلفات سنگین در کشورهای چین(۲۰۰۹)، ویتنام(۲۰۱۰)، مالزی(۲۰۱۱) و تایلند(۲۰۱۲) همراه بوده و نام گذاری آن ناشی از ایجاد تلفات میگوهای پرورشی تازه ذخیره سازی شده در استخرها بوده است. حدت بیماری به گونه ای است که در سال ۲۰۱۱ مناطق آلوده کشور چین ۸۰٪ محصول خود را از دست دادند. میزان خسارات وارده در کشور ویتنام طی سال ۲۰۱۱ از این بیماری بالغ بر ۱۲ میلیارد دونگ (معادل ۵۷۰۰۰۰ دلار) و در سال ۲۰۱۲ حدود ۱/۵ تریلیون دونگ (معادل ۷/۲ میلیون دلار) بوده است. این بیماری باعث شده است در کشور مالزی تولید میگو از۷۰/۰۰۰ تن در سال ۲۰۱۰ به ۴۰/۰۰۰ تن در سال ۲۰۱۱ و ۳۰/۰۰۰ تن در سال ۲۰۱۲ رسید FAO Report No, 1053و(2013) تاکنون بیش از ۲۰ ویروس مختلف در

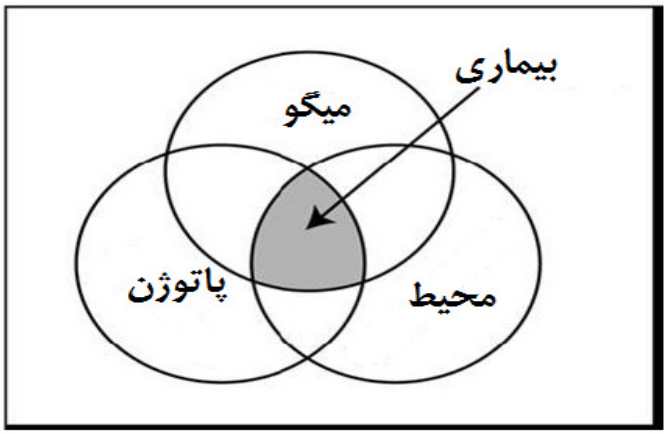
میگوها شناسائی شده است که سالانه خسارت هنگفتی بر جای می گذارند.مقوله بهداشت و بیماریهای میگو یکی از چالشهای اساسی صنعت میگو پروری است، به طوریکه در اواخر دهه ۸۰، شیوع این بیماریها در چین باعث شد که سهم این کشور در تولید آسیا از ۲۱٪ در سال ۱۹۸۷ به ۴٪ در سال ۱۹۸۹ برسد. در دهه ۹۰ وقایع مشابهی در تایلند، چین، هند، کامبوج و بنگلادش روی داده و خسارات اقتصادی سنگینی به این کشورها وارد شد. به عنوان مثال با اینکه تایلندپیشاهنگ تولید میگوی ببری سیاه در جهان محسوب می شود، تنها خسارت ناشی از بیماری ویروسی کله زرد (Y.H.D) در این کشور در سال ۱۹۹۲ بالغ بر ۶/۳۰ میلیون دلار بوده است. در اواخر دهه ۸۰ میلادی ویروس IHHN چنان خسارات سنگینی در ذخایر میگوی *Penaeusstylirostaris* در آمریکای جنوبی ومرکزی (از پرو تا مکزیک) وارد ساخته که باعث نابودی تقریبی نسل این میگو شده است و کشورهای فوق را وادار کرده تا برای احیای ذخایر از سایر نقاط دنیا وارد کنند کشور فیلیپین نیز با مشکل بیماریهای لکه سفید(W.S.S.D) ، کله زرد و باکتریهای درخشان (ویبریو هاروی) مواجه بوده و سالانه خسارات سنگینی از این بابت متحمل می شود. در بنگلادش تلفات ناشی از اپیدمیهای ویبریوزیس و لکه سفید به طور معمول ۱۰٪-۳٪ است واین تلفات در سال ۱۹۹۴ به ۷۰٪-۵۰٪ رسید و در سال ۱۹۹۷ اتحادیه اروپا واردات میگو از این کشور ممنوع کرد و این کشور میلیونها دلار متضرر شد.در سال ۱۹۹۶ کشور هند از بیماری لکه سفید در میگوهای منودون و ایندیکوس ۱/۵ میلیارد دلار خسارت دید.در سالهای ۱۹۹۲ تا ۲۰۰۱ کشورهای شرق آسیا به دلیل شیوع بیماری لکه سفید(WSD) بیش از ۶-۴ میلیارد دلار متضرر شدند همچنین کشورهای آمریکایی پس از بروز بیماری لکه سفید از سال ۱۹۹۹تا ۲۰۰۱ بالغ بر یک میلیارد دلار خسارت دیده اند سایر بیماریهای ویروسی نظیر تورا سندروم(TSD)، کله زرد(YHD) وIHHNV طی سالهای بروز تا ۲۰۰۱ به ترتیب بیش از سه میلیارد دلار(جدول ۹) خسارت اقتصادی به مزارع پرورش میگو وارد کرده اند(Lightner, 2003)در ایران نیز در سال ۱۳۸۱ مزارع پرورشی خوزستان حدود ۶میلیارد تومان خسارت مستقیم ناشی از بیماری لکه سفید متحمل شده است که با احتساب خالی بودن مزارع فوق در سالهای بعدو عدم اشتغال بخشهای مرتبط خسارت خیلی بیشتر از اینها می باشد.همین ویروس در سال ۱۳۸۴ باعث انهدام بیش از ۵۰۰۰ تن میگوی پرورشی در استان بوشهر شد و در سال ۱۳۸۷ نیز پرورش میگو در استان سیستان و بلوچستان به تعطیلی کشاند (Afsharnasab etal., 2014).

جدول۹:تخمین خسارات اقتصادی بیماریهای مهم ویروسی در مزارع پرورشی میگو

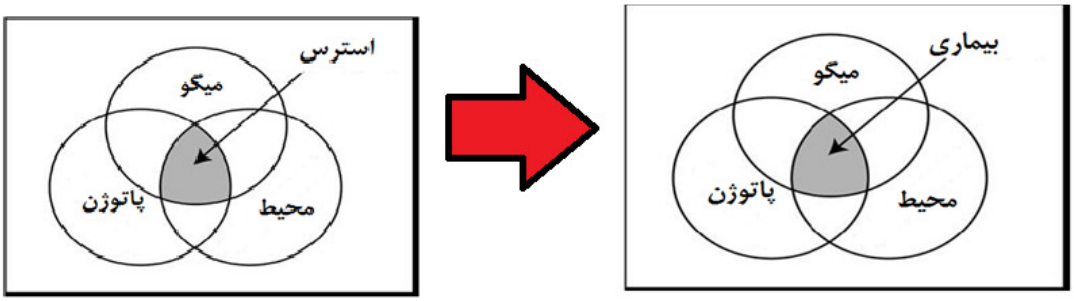
ویروس	سال بروز بیماری تا ۲۰۰۱	میزان خسارت وارده(دلار)
WSSV-آسیا	۱۹۹۲	۶-۴ میلیارد
WSSV-آمریکا	۱۹۹۹	۱میلیارد<
TSV	۱۹۹۲-۱۹۹۱	۲-۱میلیارد
YHD	۱۹۹۱	۰/۵-۰/۱ میلیارد
IHHNV	۱۹۸۱	۱-۰/۵ میلیارد

امروزه با توجه به مخاطرات و حساسیتهای اقتصادی و اجتماعی ناشی از بیماریهای آبزیان به منظور پیشگیری و کنترل بیماریها و افزایش تولید، سرمایه گذاریهای سنگینی از طرف کشورهای پیشگام این صنعت و اجرای پروژه های تحقیقاتی مهمی شده است و این امر باعث شده است با وجود بیماریها نه تنها در کاهش تولید نداشته باشیم که شاهد افزایش تولیدات آبزی پروری هم باشیم،برای مثال تولید میگوی کشور چین در سال ۱۹۹۲ ،معادل ۱۴۵هزار تن بود که در سال ۱۹۹۳ به دلیل اپیدمیک شدن بیماریها به ۳۰ هزار تن رسید اما با سرمایه گذاریهای خوبی که انجام شد در سال ۲۰۱۰ تولید میگوی این کشور بالغ بر یک میلیون تن رسیده است یا در ایالات متحده پس از بروز بیماری IHHNV در اواخر دهه ۸۰ و اوایل دهه ۹۰ و کاهش تولید میگو در این سالها ،محققین با تولید میگوهای عاری از بیماری (SPF) تولید میگو را به بیش از میزان قبلی رساندند، و پس از شیوع بیماری تورا سندروم در سالهای ۹۵ تا ۹۸ با تولید میگوهای مقاوم به بیماری(SPR) یکبار دیگر تولید میگو به بالاترین حد رساندند که در سال ۱۹۹۹ ویروس لکه سفید(WSSV)گریبان صنعت میگو را گرفت و تولید میگو به دلیل مرگ و میرهای ناشی از بیماری بسیار کاهش یافت که اینبار با تدوین برنامه های ایمنی زیستی دوباره به بالاترین مرز از تولید رسیده اند(Moss et al. 2004). رشد روز افزون سطح اطلاعات علمی متخصصین این رشته،بهینه سازی سیستم های تشخیص سریع بیماریها،تولید محصولات دارویی متنوع و محرکهای سیستم ایمنی،واکسنها،پروبیوتیکها،مواد ضد باکتریایی و آنتی بیوتیکهای نوین،تولید میگوهای عاری و مقاوم به بیماریهای مختلف (SPF,SPR)همگی شاهد اهمیت مقوله بهداشت و بیماریها می باشند.(Lightner, 2005)توزیع و گسترش بعضی از این بیماری ها در ابتدا منحصر به نیمکره شرقی و یا غربی بود ولی نقل و انتقالات و تجارت بین المللی منجر به جابه جائی گسترده این ویروس ها بین کشور ها و قاره های مختلف شده است به عنوان مثال صادرات میگوی منجمد باعث انتقال ویروس لکه سفید از قاره آسیا به کشورهای آمریکائی گردید و برعکس آن ویروس سندرم تورا به وسیله مولدین آلوده از آمریکای مرکزی به آسیا وارد شد. اگرچه بیماری های ویروسی میگو از جمله لکه سفید سالانه میلیاردها دلار خسارت اقتصادی بر جای می گذارند ولی علیرغم پاندمی های ویروسی صنعت پرورش میگو راههای لازم جهت بازگرداندن تولید به سالهای قبل از بیماری را یافته است(2005Lightner,) . دو راه اصلی جهت این کار شامل اقدامات مدیریتی بهترGMP (Good management practice) و ایمی زیستی (Biosecurity) می باشد. برنامه ایمی زیستی در مزارع پرورش میگو شامل پایش و مراقبت منظم بیماری ها ، اقدامات پیشگیرانه ، مدیریت موثردر هنگام شیوع بیماری ها ،ضدعفونی و نظافت بین دوره های پرورش و اقدامات عمومی حفاظتی می باشد. در طرح ملی میگوی عاری از بیماری اقدامات انجام شده منجر به حذف پاتوژنها از کلیه مراحل تولید مولدین عاریاز بیماری گردید. بر اساس گزارش لایتنر (۱۹۹۶) سه موضوع مهم پاتوژن، محیط و میگو می‌توانند با ارتباط با هم در بروز یا عدم بروز بیماری نقش داشته باشند (تصویر ۱۲). بدون شک هر کدام از عوامل محیط و پاتوژن که به میگو استرس وارد نماید موجب بروز بیماری می‌شود. به بیان دیگر در اقدامات ایمنی زیستی باید از بروز استرس در محیط جلوگیری نموده تا از بروز بیماری جلوگیری

گردد (تصویر۱۳). البته این نکته نیز باید مورد توجه قرار گیرد که میگو نیز باید از شرایط طبیعی مطلوبی برخوردار باشد تا در حالت طبیعی بتواند با محیط سازگاری یابد و گرنه میگوهائی که دارای بدنی ضعیف و غیر طبیعی باشند در برابر کوچکترین تغییرات ممکن است شرایط طبیعی خود را از دست داده و از بین بروند. به عنوان مثال حداقل دوز باکتری ویبریو در یک استخر میگو برای بروز بیماری ویبریوسیس ۳×۱۰^{۶} تعداد باکتری باید وجود داشته باشد (مهاجری، ۱۳۸۹). با این حال برخی میگوهای ضعیف ممکن است با تعدا کمتری ویبریو بیماری نشان دهند. این شرایط برای ویروسها نیز صادق بوده و اگر میگوها ضعیف باشند با میزان کمتری ویروس نسبت به شرایط عادی از خود بیماری بروز میدهند.

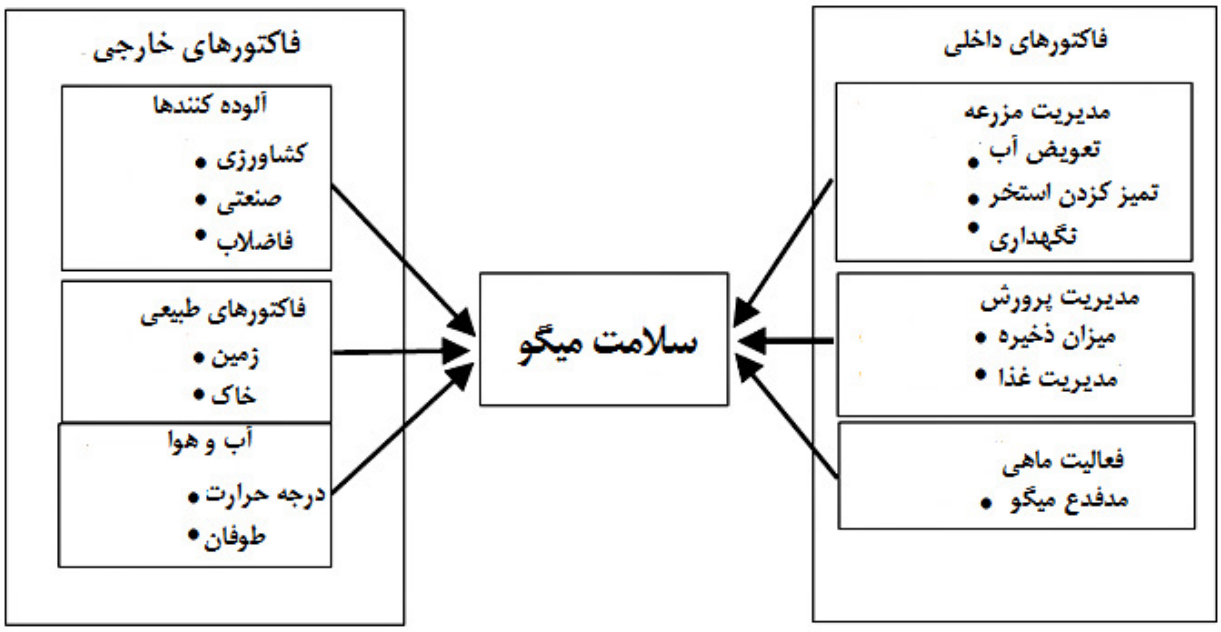


تصویر۱۲: ارتباط بیماری با محیط، میگو و پاتوژن



تصویر۱۳: تغییر در شرایط محیط، میگو و پاتوژن وبروز استرس

همانگونه که در اجرای طرح ایمنی زیستی در مرکز تولید میگوی عاری از بیماری بیان گردید باید از بروز استرس در تولید جلوگیری گردد. عوامل متعددی در بروز استرس علاوه بر حضور پاتوژنها دخالت دارند که باید به همه آنها توجه نمود. در یک شرایط ایده آل برای سلامت میگوها فاکتورهای متعدد داخل استخر و خارج از استخر دخالت دارند که اهم آنها در تصویر ۱۰ نشان داده شده است.



تصویر۱٤:عوامل متعدد برای حفظ سلامت میگو

بدون شک تغییر در هر کدام از این عوامل موجب تغییر در سلامت میگوها شده و مشکلات عدیده ائی برایمیگوها بوجود می‌آید.در احرای طرح ایمنی زیستی این موارد نیز باید مد نظر قرار گرفته که در اجرای پایلوت تحقیقاتی این موارد نیز مورد توجه قرار گرفت.برای طرح میگوی عاری از بیماری در بوشهر علاوه بر اسقرار فیلترهای مختلف فیزیکی که شامل توریهای با چشمه های تا ۴۵ میکرون بوده و آب از طیق فیلتر شنی عبور داده میشد، از سیستم ضدعفونی ازن نیزدر مرکز برای ضدعفونی آب استفاده تا سلامتی آب ورودی از هر نظر تامین گردد. همچنین کلیه برنامه های مراقبتی ظاهری از جمله پوشیدن لباسهای یکبار مصرف، چکمه و سایر موارد برای کلیه کارکنان الزامی بوده و در طی اجرای طرح رعایت گردید.بنابراین رعایت الزاماتایمنی زیستی و غربالگری پاتوژنها می‌تواند راهی مطمئن برای کاهش خطرات و افزایش سلامتی میگوهای تولیدی باشد. لذا برای اجرای هرچه بهتر ایمنی زیستی در تولید میگوی کشور پیشنهادات ذیل ارائه می‌شود:

۱- استاندارد سازی الزامات ایمنی زیستی برای مزارع پرورش و مراکز تکثیر پست لارو در استانهای مختلف کشور با توجه به شرایط خاص محل
۲- بعینه کردن شناسائی پاتوژنهای موجود در هر استان به منظور ردیابی و پایش آنها
۳- تاکید بر مراقبت کلیه بخشهای تولید برای اجرای ایمنی زیستی در مزارع بزرگ و یکپارچه
۴- هماهنگی در اجرای هرچه بهتر الزامات و مشورت کرفتن از سازمان دامپزشکی کشور و موسسه تحقیقات شیلات ایران

منابع

- افشارنسب، م.،۱۳۸۶.بیماریهای ویروسی میگو / انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۳۸۶.
- مهاجری. ژ. ۱۳۸۹.بررسی بیماریزائی باکتری ویبریو هاروئی در میگوی ببری سبز . پایان نامه دکتری تخصصی. دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی و احد علوم و تحقیقات. ۱۳۸۹.
- Afsharnasab, M.; Kakoolaki, S. Afzali.F.2014.The Status of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in Islamic Republic of Iran.Journal of Iranina Fisheries Research.In press.
- Arce,M.S; Mose,S,M and Lightner ,D.V.2011. Biosecurity Principles For Sustainable Production Using SPF Shrimp. global aquaculture advocate. May/June 2011.
- Chamberlain, G.W. 1999. Sustainability of world shrimp farming. In: Global Trends: Fisheries Management. EK Pikitch, DD Huppert and MP Sissenwine, Eds American Fisheries Society Symposium 20, Bethesda, MD
- Clifford, H.C., Cook, H.L. 2002. Disease Management in Shrimp Culture Ponds. Aquaculture Magazine: 28(4): 18-26.
- FAO. 2003. Review of the state of world aquaculture. FAO Fisheries Circular 886, Revision 2.FAO, Rome, Italy, 95 pp.
- FAO Fisheries and Aquaculture Report No. 1053,(2013).FAO/MARD Technical Workshop on Early Mortality Syndrome(EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS) of Cultured Shrimp (under TCP/VIE/3304). Hanoi, Viet Nam, 25–27 June 2013.
- Garza, J.R., Hasson, K.W., Poulos, B.T., Redman, R.M., White, B.L., & Lightner, D.V. 1997. Demonstration of infectious Taura syndrome virus in the feces of sea gulls collected during an epizootic in Texas. *J. Aquat. Animal Health*, 9: 156-159.
- Horowitz, A. Horowitz, S. (2003). Alleviation and prevention of disease in shrimp farms in Central and South America: Amicrobiological approach. p. 117-138 in C.-S.Lee and P.J. O'Bryen, editors.Biosecurity in Aquaculture ProductionSystems.
- Lightner, D., R. M. Redman.1986. A probable *Mycobacterium* sp. infection of the marine shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). Journal of fish disease.Volume 9, Issue 4, pages 357–359, July 1986
- Lightner, D.V. 1996. The penaeid shrimp viruses IHHNV and TSV: epizootiology, production impacts and role of international trade in their distribution in the Americas. *Rev. Sci. Tech. Office Intern.Epizoot.* 15: 579-601.
- Lightner, D., R. M. Redman, L. M. Nunan, L. L. Mohney, J. L. Mari and B. T. Poulos (1997). Occurrence of WSSV, YHV and TSV in Texas shrimp farms in 1995: Possible mechanisms for introduction..*WorldAquaculture'97, Book of Abstracts*. Baton Rouge, LA, USA, World Aquaculture Society: 288.
- Lightner, D.V., S.V. Durand, R.M. Redman, L.L. Mohney, and K. Tang-Nelson. 2001. ualitative and quantitative studies on the relative virus load of tails and heads of shrimp acutely infected with WSSV: implications for risk assessment. pp. 285-291, in C.L. Browdy and D.E. Jory (eds.), The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
- Lightner, D.V. 2003. Exclusion of specific pathogens fro disease prevention in a penaeid shrimp biosecurity program. Pages 81-116 *in* C.-S.Lee and P.J. O'Bryen, editors. Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of Pathogens and Other Undesirables. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Lightner, D.V. 2005. Biosecurity in Shrimp Farming: Pathogen Exclusion through Use of SPF Stock and RoutineSurveillance. Journal of the World Aquaculture Society, 36(3): 229-248.
- Lightner, D.V. 2011.Status of shrimp diseases and advances in shrimp health management,pp. 121-134.*In* Bondad-Reantaso, M.G., Jones, J.B., Corsin, F. and Aoki, T. (eds.). Diseases inAsian Aquaculture VII.Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Selangor, Malaysia.385 pp.
- Lotze, H. K., and B. Worm. 2000. Variable and complementary effects of herbivores on different life stages of bloom-forming macroalgae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 200: 167–175.

- Moss, S., Arce, S., Calderon, F., Otoshi, C., Moss, D., Lotz, J., Lightner, D., Argue, B. and Pruder, G. 1998. Breeding for disease resistance in penaeid shrimp: experiences from the U.S. Marine Shrimp Farming Program. In Jory, D.E. (ed.). Proceedings of the 1st Latin American Shrimp Farming Congress, Panama City.9 pp.
- Moss, S.M., R.W. Doyle, and D.V. Lightner. 2004. Breeding shrimp for disease resistance: a panacea or pariah? In: *Diseases in Asian Aquaculture V*. (P. Walker and R. Lester, eds.), Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, pp. 243-254.
- OIE. 2003. Manual of Diagnostics Tests and Vaccines for Aquatic Animals. 4th Edn.Office International des Epizooties, Paris. (http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A_summry.htm).
- Tave, D. 1993. Genetics for Fish Hatchery Managers,2nd ed. Van Nostrand Reinholf, New York, USA.
- Valderrama, D and Anderson, J. L .2011. Shrimp production review. GOAL 2011,Santiago, Chile, November 6-9, 2011.
- Wyban, J. 2002. White shrimp boom continues. Global aquaculture Advocate, December, 2002, pp. 18–19.
- Wyaban, J. 2009. World Shrimp Farming Revolution: Industry Impact of Domestication, Breeding and Widespread Use ofSpecific Pathogen Free Penaeus vannamei. Craig L. Browdy and Darryl E. Jory, editors. The Rising Tide, Proceedings of theSpecial Session on Sustainable Shrimp Farming, World Aquaculture 2009. The World Aquaculture Society, Baton RougeLouisiana USA.12-21p.

پیوست

مشخصات SOP در طرح میگوی عاری از بیماری

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۱
	دستورالعمل بهداشتی درب ورودی	

۱- هدف: ضدعفونی وسایل نقلیه

۲- دامنه کاربرد: پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری

۳- مسئولیت اجرا: با رئیس ایستگاه است.

۴- مدارک مرتبط:فرم ثبت ورود و خروج وسایل نقلیه

۵- شرح اقدامات :

۵-۱- کلیات:

انجام و پیگیری موارد مشروحه زیر توسط نگهبانپایلوتتحقیقاتیبندرگاه صورت می‌پذیرد، نظارت بر چگونگی اجرا توسط رئیسایستگاه انجام می شود.

۵-۲- نحوه اجرا:

۱. حوضچه درب ورودی پایلوت باید همواره توسط هیپوکلریت کلسیم به میزان (۵۰ mg/l) به طور کامل پر شود.
۲. دستگاه سم پاش دستی همواره حاوی هیپوکلریت کلسیم به میزان (۵۰ mg/l) باشد.
۳. ماشین های پرسنل شاغل در ایستگاه پس از عبور از حوضچه استریل و ضدعفونی شدن با سم‌پاش دستی می‌توانند صرفاً به فضای ماسه ای روبروی نگهبانی وارد شوند و اجازه وارد شدن به محوطه ایستگاه را ندارند.
۴. سایر ماشین های اداری و غیر اداری باید در بیرون از ایستگاه و در پشت درب ورودی پارک نمایند.

۵-۳- ایمنی:

هنگام کار به نکات اشاره شده در دستورالعمل ایمنی کار با هیپوکلریت کلسیم توجه نمایید.

۵-۴- سوابق:

کلیه عملیات مربوط به ورود و خروج وسایل نقلیه و ضدعفونی ایستگاه توسط نگهبان درب ورودی ثبت و به صورت هفتگی به رئیس ایستگاه تحویل داده می شود و سوابق مربوطه در زونکن مربوط به ثبت سوابق تا پایان هر دوره پرورش نگهداری می گردد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی سالن قرنطینه	

۱-هدف:الزامات قبل از ورود به سالن قرنطینه، نحوه ضدعفونی سالن و مواردی که حین کار باید رعایت گردد.

۲- دامنه کاربرد:پایلوت تحقیقاتی بندرگاه

۳-مسئولیت اجرا:با رئیس ایستگاه است.

۴-مدارک مرتبط:دفتر ورود و خروج پرسنل، فرم نظافت سالن.

۵-شرح اقدامات :

۵-۱ کلیات:

انجام و پیگیری موارد مشروحه زیر توسط مسئول سالن قرنطینهپایلوتتحقیقاتیبندرگاه صورت می پذیرد، نظارت بر چگونگی اجرا توسط رئیسایستگاه انجام می شود.

۵-۲نحوه اجرا:

۵-۲-۱ الزامات قبل از ورود به سالن

۱- حوضچه های ضدعفونی باید همواره با محلول هیپوکلریت کلسیم(۲۰۰ mg/l) پر شود.

۲- کلیه پرسنل مجاز باید قبل از ورود به سالن لباس مخصوص و چکمه کار را پوشیده و پس از عبور از حوضچه ضدعفونی دست های خود را با آیودین (بتادین) (۲۰۰ mg/l) شستشو داده و سپس وارد سالن قرنطینه شوند.

۵-۲-۲- نحوه ضدعفونی کردن سالن

۱- جارو کردن (دستی یا مکانیزه) و حذف زباله ها و دورریزهای بزرگ

۲- شستشوی تمام سطوح با آب

۳- شستشوی تمام سطوح با استفاده از شوینده های استاندارد رایج (در صورت وجود هرگونه ضایعات یا مواد چسبیده، سطوح بایستی ساییده و پاک شوند).

۴- آبکشی کامل با آب تمیز

۵- شستشوی کف با محلول هیپوکلریت کلسیم (۲۰۰ mg/l).

۶- آبکشی

۷- خشک کردن سطوح

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه ۲ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی سالن قرنطینه	

۵-۲-۳- نحوه ضدعفونی کردن تانک ها

۱- سطوح کف تانک ها از طریق ساییدن و پاکسازی مناسب (توسط برس) عاری از بیوفیلم (مواد لزج) و... شود.
۲- پر کردن تانک با آب و افزودن محلول هیپوکلریت کلسیم (۲۰۰ mg/l)
۳- نگهداری به مدت ۱۲ ساعت
۴- تخلیه و آبکشی ۳-۲ بار
۵- خشک کردن سطوح (در صورت امکان در معرض نور خورشید قرار دادن تانک ها)
۶- کلیه لوله های هوا، سنگ هوا و وسایلی که قابلیت جدا کردن و شستشوی جداگانه دارند به صورت مجزا شستشو و ضدعفونی گردند.

نکات قابل توجه:

۱- محلول هیپوکلریت کلسیم باید بر روی تمام سطوحی که خوردگی ایجاد نمی شود اسپری شود (۲۰۰ mg/l).
۲- سطوحی که کلر موجب خوردگی در آنها می شود، باید به کمک یک اسفنج آغشته به بتادین (۲۰۰ mg/l) ضدعفونی شده و سپس در صورت نیاز با کمک نایلون پوشانده شود.
۳- قرار دادن دو عدد سطل بزرگ (۴۰ لیتری) در کنار هر تانک ۴ هزار لیتری. یک سطل به رنگ قرمز برای تهیه محلول هیپوکلریت کلسیم (۳۰-۲۰ mg/l) برای ضدعفونی وسایل مربوط به تانک مربوطه و دیگری به رنگ آبی که با آب تمیز دریا پر شده و برای آبکشی وسایل پس از ضدعفونی کردن استفاده می شود.
۴- برای هر تانک ۴ هزار لیتری باید وسایل جداگانه (شامل ساچوک، وسایل سیفون کردن و ...) اختصاص داده شود.
۵- برای اندازه گیری فاکتورهای مانند دما، شوری و دما توسط دستگاه های مولتی پارامتر باید از لیوان های یکبار مصرف تمیز استفاده کرد و برای هر تانک باید از یک لیوان اختصاصی بهره برد و پس از استفاده لیوان مربوطه را حذف کرد.
۶- در پایان هر روز کاری کلیه لوله های فاضلاب از طریق عبور دادن هیپوکلریت کلسیم (۲۰۰ mg/l) ضدعفونی شود.

۵-۳ ایمنی:

هنگام کار به نکات اشاره شده در دستورالعمل ایمنی کار با هیپوکلریت کلسیم توجه نمایید.

۵-۴ سوابق:

کلیه عملیات مربوط به ورود و خروج پرسنل و ضدعفونی سالن در فرم های مربوطه ثبت و به صورت هفتگی توسط مسئول سالن به رئیس ایستگاه تحویل داده می شود و سوابق مربوطه در زونکن مربوط به ثبت سوابق تا پایان هر دوره پرورش نگهداری می گردد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی انبارش غذای خشک	

مطابق استاندارد ۵۶۶۱ اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به منظور انبارش و نگهداری غذای خشک آبزیان توجه به نکات ذیل ضروری می باشد:

۱- هدف:نحوه نگهداری و انبارش غذای خشک

۲- دامنه کاربرد:پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری

۳- مسئولیت اجرا:با رئیس ایستگاه است.

۴- مدارک مرتبط:فرم مشخصات غذای خشک

۵- شرح اقدامات :

۵-۱ کلیات:

انجام و پیگیری موارد مشروحه زیر توسط کارشناس پایلوتتحقیقاتیبندرگاه صورت می پذیرد، نظارت بر چگونگی اجرا توسط رئیسایستگاه انجام می شود.

۵-۲ نحوه اجرا:

اگر غذای آماده یا پلت بخوبی انبار نشوند کیفیت آنها به سرعت کاهش پیدا می‌کند در انبارداری غذای آماده آبزیان پرورشی باید نکات زیر رعایت گردد:

۱- غذاها باید در محل‌هایی خشک، خنک و دارای تهویه مناسب قرار داده شوند. اگر غذاها را مرطوب نگهداری کنیم فساد به سرعت روی خواهد داد. از نگهداری غذای آبزیان در بالاتر از ۳۰درجه سلسیوس خودداری شود.

۲- غذای آماده بایستی روی صفحات چوبی (پالت) نگهداری شده و نباید بیشتر از ۱۰بسته روی هم قرارگیرد. بطوریکه عبور و گردش هوا در فضای بین بسته‌ها مقدور باشد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه ۲ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی انبارش غذای خشک	

۳- غذاها باید بطور دقیق و صحیح و جداگانه شماره‌گذاری و کد بندی تا در موقع بروز مشکل همان محصول مشکل دار را مجزا نمود.
۴- غذا نباید مستقیما روی کف سیمانی قرار داده شود و یا اینکه با دیواره‌های سیمانی تماس پیدا کند معمولا سطوح سیمانی سردتر از اطرافشان می‌باشند این اختلاف دما باعث می‌شود که رطوبت در محل‌های سردتر تجمع کنند و در نتیجه رشد کپک‌ها و ایجاد فساد سریعتر شود.
۵- غذاها باید دور از نور مستقیم خورشید انبار شوند.
۶- حداکثر زمان نگهداریسه ماه از تاریخ تولید است.
۷- یادآوری: به علت امکان آلودگی انبار به حشرات و قارچ‌ها و واکنش بین مواد غذایی، غذاهای ساخته شده نسبت به مواد اولیه بیشتر مستعد آلودگی در زمان انبارداری میباشد. مثلا اگر غلظت چربی بالا باشد به علت غلظت بالای اسیدهای چرب غیراشباع آمادگی به اکسیداسیون زیاد است.
۸- برخی از مواد تجاری مرطوب دارای نگهدارنده‌هایی هستند که اجازه می‌دهند این مواد در دمای محیط نگهداری شود.

۵-۳- کنترل کیفی: هر یک از بسته های مواد غذایی قبل از مصرف از نظر بار باکتریایی کل و بار باکتریایی خانواده ویبریوناسه، قارچ و میزان احتمالی آفلاتوکسین مورد آنالیز قرار گیرد و پس از تایید بخش بهداشت و بیماریها مورد مصرف قرار گیرند.

۵-۴ سوابق: فرم ثبت مشخصات غذای خشک و فرم گزارش نتایج آزمون بخش بهداشت و بیماری ها توسط رئیس ایستگاه تا پایان دوره در سوابق نگهداری می گردد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی سالن تیمار آب	

۱- هدف: الزامات قبل از ورود به سالن تیمار آب، نحوه ضدعفونی سالن و مواردی که حین کار باید رعایت گردد.
۲- دامنه کاربرد:پایلوت تحقیقاتی بندرگاه

۳- مسئولیت اجرا:با رئیس ایستگاه است.

۴- مدارک مرتبط:دفتر ورود و خروج پرسنل، فرم نظافت سالن.

۵- شرح اقدامات :

۵-۱ کلیات:

انجام و پیگیری موارد مشروحه زیر توسط مسئول سالن تیمار آب پایلوتتحقیقاتیبندرگاه صورت می پذیرد، نظارت بر چگونگی اجرا توسط رئیسایستگاه انجام می شود.

۵-۱-۳نحوه اجرا:

۵-۲-۱ الزامات قبل از ورود به سالن

۱- حوضچه های ضدعفونی باید همواره با محلول هیپوکلریت کلسیم(۲۰۰ mg/l) پر شود.

۲- کلیه پرسنل مجاز باید قبل از ورود به سالن لباس مخصوص و چکمه کار را پوشیده و پس از عبور از حوضچه ضدعفونی دست های خود را با آیودین (بتادین) (۲۰۰ mg/l) شستشو داده و سپس وارد سالن قرنطینه شوند.

۵-۲-۲- نحوه ضدعفونی کردن استخر ها

۱- سطوح کف استخرها از طریق ساییدن و پاکسازی مناسب (توسط برس) عاری از بیوفیلم (مواد لزج) شود.

۲- ضدعفونی با محلول هیپوکلریت کلسیم (۱۶۰۰ ppm) ۴-۳ ساعت

۳- آبکشی کامل با آب تمیز ۳-۲ بار

۴- خشک کردن

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه ۲ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی سالن تیمار آب	

نکات قابل توجه:

۱- محلول هیپوکلریت کلسیم باید بر روی تمام سطوحی که خوردگی ایجاد نمی شود اسپری شود (۲۰۰ mg/l).

۲- سطوحی که کلر موجب خوردگی در آنها می شود، باید به کمک یک اسفنج آغشته به بتادین (۲۰۰ mg/l) ضدعفونی شده و سپس در صورت نیاز با کمک نایلون پوشانده شود.

۵-۳ ایمنی:

هنگام کار به نکات اشاره شده در دستورالعمل ایمنی کار با هیپوکلریت کلسیم توجه نمایید.

۵-۴ سوابق:

کلیه عملیات مربوط به ورود و خروج پرسنل و ضدعفونی سالن در فرم های مربوطه ثبت و به صورت هفتگی توسط مسئول سالن به رئیس ایستگاه تحویل داده می شود و سوابق مربوطه در زونکن مربوط به ثبت سوابق تا پایان هر دوره پرورش نگهداری می گردد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی تصفیه آب	

۱- هدف:تصفیه آب ورودی جهت تکثیر و پرورش میگو

۲- دامنه کاربرد: پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری

۳- مسئولیت اجرا: با رئیس ایستگاه است.

۴- مدارک مرتبط:فرم ثبت اندازه گیری میزان کلر باقی مانده، فرم ثبت شمارش باکتری های ویبریوناسه در آب

۵- شرح اقدامات :

۵-۱ کلیات:

انجام و پیگیری موارد مشروحه زیر توسط کارشناس مربوطهصورت می پذیرد، نظارت بر چگونگی اجرا توسط رئیسایستگاه و بخش بهداشت و بیماری ها انجام می شود.

۵-۲ نحوه اجرا:

۱- ورود آب به استخرهای رسوب گیر
۲- ته نشین سازی به مدت ۳-۱ روز در استخرهای رسوب گیر
۳- جهت تسریع در ترسیب می توان از میزان ppm ۲-۰/۵ پرمنگنات پتاسیم استفاده کرد
۴- پمپاژ آب به استخرهای حاوی فیلتر شنی
۵- پمپاژ آب به استخرهای کلرینه کردن
۶- افزودن ppm ۵۰ هیپوکلریت کلسیم به آب به مدت ۲۴-۱۲ ساعت
۷- هوادهی متناوب آب استخر به منظور خارج شدن کلر
۸- اندازه گیری میزان کلر آب

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه ۲ از ۲
	دستورالعمل بهداشتی تصفیه آب	

۹- در صورت وجود کلر، به میزان ppm ۱ تیوسولفات سدیم به ازای هر ppm کلر باقی مانده اضافه شود.

۱۰-اندازه گیری میزان کلر آب و تکرار عملیات تا زمان حذف کلر آب

۱۱-پمپاژ آب به استخرهای تنظیم شوری و دما

۱۲-افزودن ppm۳۰-۱۰ اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) و ppm ۰/۱-۰/۰۵ ترفلورالین ۴۵ درصد به آب

۱۳-پمپاژ آب به داخل سالن قرنطینه (در صورت امکان با عبور از فیلتر کربن فعال)

۱۴-عبور از فیلترهای تصفیه آب ۵-۱ میکرون (در صورت امکان ۰/۲ میکرون)

۱۵- عبور آب از فیلترهای UV

۱۶-ورود آب به تانک ها و استفاده از آن

۴-۱کنترل کیفیت آب:

نمونه گیری از آب قبل از ورود به تانک ها صورت گرفته و شمارش کلی باکتری های خانواده ویبریوناسه صورت می گیرد.

۴-۵ ایمنی:

هنگام کار به نکات اشاره شده در دستورالعمل ایمنی کار با هیپوکلریت کلسیم توجه نمایید.

۴-۵ سوابق:

کلیه عملیات مربوط به اندازه گیری میزان کلر باقی مانده، فرم ثبت شمارش باکتری های ویبریوناسه در آبتوسط کارشناسان مربوطه ثبت و به صورت هفتگی به رئیس ایستگاه تحویل داده می شود و سوابق مربوطه در زونکن مربوط به ثبت سوابق تا پایان هر دوره پرورش نگهداری می گردد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۱
	دستورالعمل بهداشتی معدوم کردن میگوهای آلوده	

۱- هدف:معدوم کردن میگوهای آلوده

۲- دامنه کاربرد:پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری

۳- مسئولیت اجرا:با رئیس ایستگاه است.

۴- مدارک مرتبط:

۵- شرح اقدامات :

۵-۱ کلیات:

انجام و پیگیری موارد مشروحه زیر توسط نگهبان پایلوت تحقیقاتی بندرگاه صورت می پذیرد، نظارت بر چگونگی اجرا توسط رئیس ایستگاه انجام می شود.

۵-۲ نحوه اجرا:

۱- در صورت بروز بیماری و گزارش بخش بهداشت و بیماری ها مبنی بر بیمار بودن میگوها

۲- کلیه میگوهای آلوده ابتدا توسط هیپوکلریت کلسیم حداقل ۴۰ ppm ضدعفونی شده

۳- سپس سوزانده شوند.

۵-۳ ایمنی:

هنگام کار به نکات اشاره شده در دستورالعمل ایمنی کار با هیپوکلریت کلسیم توجه نمایید.

۵-۵ سوابق:

کلیه عملیات مربوط به معدوم سازی در فرم مربوطه ثبت، توسط کارشناس مربوطه تکمیل و به رئیس ایستگاه تحویل داده می شود و سوابق مربوطه در زونکن مربوط به ثبت سوابق تا پایان هر دوره پرورش نگهداری می گردد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۱
	دستورالعمل بهداشتی دفع پساب	

۱- هدف:دفع پساب

۲- دامنه کاربرد:پایلوت تحقیقاتی تولید میگوی عاری از بیماری

۳- مسئولیت اجرا:با رئیس ایستگاه است.

۴- مدارک مرتبط: فرم ثبت ورود و خروج وسایل نقلیه

۵- شرح اقدامات :

۵-۱ کلیات:

انجام و پیگیری موارد مشروحه زیر توسط کارشناس پایلوتتحقیقاتیبندرگاه صورت می پذیرد، نظارت بر چگونگی اجرا توسط رئیسایستگاه انجام می شود.

۵-۲ نحوه اجرا:

۱- حوضچه دفع پساب خروجی پایلوت باید سر پوشیده باشد.

۲- پساب موجود در حوضچه دفع پساب قبل از ورود به دریا باید با هیپوکلریت کلسیم حداقل ppm ۵۰ به مدت ۱۲۰-۶۰ دقیقه ضدعفونی شود.

۵-۳ ایمنی:

هنگام کار به نکات اشاره شده در دستورالعمل ایمنی کار با هیپوکلریت کلسیم توجه نمایید.

۵-۵ سوابق:

کلیه عملیات مربوط به دفع پسابتوسط کارشناس مربوطه و تحت نظارت رئیس ایستگاه صورت می گیرد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۱
	دستورالعمل خریدهیپوکلریت کلسیم	

۱- هدف:

مطابق با استاندارد ۷۰۹۸ اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به منظور خرید ونگهداری از هیپوکلریت کلسیم توجه به نکات ذیل ضروری می باشد:

۲- ویژگیها

۲-۱- ویژگیهای فیزیکی

هیپوکلریت کلسیم باید بصورت گرانولهای روان[1] یا قرصهای سفیدرنگ باشد.

۲-۲- اندازه دانه ها

اندازه دانه های هیپوکلریت کلسیم گرانولی باید طبق جدول شماره یک باشد.

جدول شماره ۱- اندازه دانه های هیپوکلریت کلسیم گرانولی

ردیف	ویژگی	حدود قابل قبول
۱	باقیمانده روی الک ۴۲۵ میکرومتر	کمینه ۷۵/۰ (درصد جرمی)
۲	باقیمانده روی الک ۲ میلی متر	بیشنه ۲۰/۰ (درصد جرمی)

۳- نکات قابل توجه در هنگام خرید هیپوکلریت کلسیم:

در هنگام خرید هیپوکلریت کلسیم به تاریخ تولید و انقضا ثبت شده روی بسته توجه نمایید.

نام و نوع ماده و میزان کلر فعال بر حسب درصد جرمی بر روی بسته قید شده باشد.

۴- مسئولیت اجرا:با رئیس ایستگاه است.

1- free-flowing granules

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۱
	دستورالعمل نگهداری و انبارش هیپوکلریت کلسیم	

مطابق با استاندارد **۳۳۵۲** اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران نحوه نگهداری و انبارش هیپوکلریت کلسیم به شرح ذیل می باشد:

۱- نگهداری و جابجایی

۱-۱ هیپوکلریت کلسیم در اثر تماس با جرقه مثل جرقه جوشکاری، برشکاری و سنگ زنی و همچنین منابع حرارتی و شعله مستقیم به سرعت تجزیه می شود و احتمال بروز آتش سوزی وجود دارد.

۱-۲ - بعلت وجود خطر آتش سوزی هیپوکلریت کلسیم هرگز نباید در تماس و نزدیکی مواد آلی مانند سوختهای فسیلی، روغن، گریس، چوپ، کاغذ، ساکاروز (قند و شکر)، روغن ترمز و حلال ها مثل تینر، استون و... قرار گیرد.

۱-۳ -هیپوکلریت کلسیم چنانچه به مدت طولانی در دمای بیشتر از حدود ۵۰ درجه سلسیوس قرار گیرد تجزیه شده، اکسیژن و حرارت آزاد می کند که موجب بالا رفتن فشار شده و ممکن است باعث باز شدن در ظرف یا ترکیدن آن گردد.

۱-۴-در صورت بروز آتش سوزی بهترین خاموش کننده آب فراوان است. خاموش کننده های حاوی ترکیبات آمونیم نباید مورد استفاده قرار گیرند. به دلیل آزاد شدن گاز کلر در زمان آتش سوزی استفاده از ماسکهای فیلتر دار یا کپسول هوا همراه با ماسک الزامی است.

۱-۵- از قرار دادن و نگهداری هیپوکلریت کلسیم در مجاورت مواد خورنده، اکسید کننده، احیا کننده و مواد دارای خاصیت اسیدی (مثل کلرید آهن III) خودداری کنید.

۱-۶- هیپوکلریت کلسیمی که روی زمین یا جاهای دیگر ریخته شده باید به سرعت جمع آوری و پس از انحلال در آب به فاضلاب صنعتی تخلیه گردد یا ترجیحاً با محلول هیدروژن پراکسید (آب اکسیژنه) خنثی و دفع گردد.

۱-۷- هرگز هیپوکلریت کلسیم جمع آوری شده از روی زمین را به داخل ظرف اصلی بازنگردانید. همچنین از ریختن آن داخل سطل زباله خودداری کنید زیرا ممکن است با مواد آلی موجود در سطل واکنش داده و باعث بروز آتش سوزی گردد. ۲- مسئولیت اجرا: با کلیه کارشناسان پایلوت می باشد و نظارت بر حسن انجام آن بر عهده رئیس ایستگاه است.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۱
	اطلاعات عمومی درباره هیپوکلریت کلسیم	

هیپوکلریت کلسیم معمولاً از هیدروکسید کلسیم، هیدروکسید سدیم و کلر تهیه شده و در تصفیه آب بصورت محلول آبی، معمولاً با غلظت یک تا چهار درصد جرمی از یک مخزن محلول سازی به داخل آب پمپ می شود.
هیپوکلریت کلسیم به منظور حذف ترکیبات آمونیم، اکسایش سولفیدها و اکسایش آهن (II) به آهن (III) همچنین بعنوان ضد عفونی کننده در تصفیه آب بکار برده می شود. مقدار مورد استفاده با توجه به ترکیب آب خام اولیه تعیین می گردد و باید دقت شود که میزان کلر فعال در آب تصفیه و آماده شده برای مصرف از حداکثر مجاز بیشتر نشود. معمولاً این مقدار چند دهم میلی گرم در لیتر است.
اثرات جانبی هیپوکلریت کلسیم را در آب می توان بصورت زیر خلاصه کرد :

ـ افزایش جزیی pH

ـ افزایش جزیی مقدار کلرید

ـ حذف رنگ و بو

ـ اکسایش ترکیبات آلی

ـ ته نشینی موضعی کربناتها در محل تزریق

یادآوری ـ برای حذف مقادیر اضافی کلر فعال می توان از یک عامل احیا کننده نظیر گاز دی اکسید گوگرد یا محلول آبی ترکیبات سولفیت استفاده کرد. با عبور دادن آب از روی کربن فعال نیز می توان این کار را انجام داد.

کد مدرک:-L-W	پایلوت تحقیقاتی میگوی عاری از بیماری پژوهشکده میگوی کشور	صفحه۱ از ۱
	نکات ایمنی درباره هیپوکلریت کلسیم	

مطابق با استاندارد **۳۳۵۲** اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران موارد ایمنی هنگام استفاده از هیپوکلریت کلسیم به شرح ذیل می باشد:

- ✓ ـ هیپوکلریت کلسیم به علت داشتن خاصیت اکسید کنندگی بعنوان ضدعفونی کننده و میکروب کش مورد استفاده قرار می گیرد. انحلال مقادیر جزئی آن در آب باعث مرگ و میر جانداران (باکتریها، جلبکها، قارچها و سایر آبزیان) می گردد لذا به هیچ وجه نباید در آبهای جاری ریخته شود.
- ✓ ـ هنگام کارکردن با هیپوکلریت کلسیم باید از لوازم حفاظت فردی از قبیل لباس مناسب، کلاه، دستکش، عینک و ماسک فیلتردار مجهز به غبارگیر استفاده کرد.
- ✓ ـ تنفس بخارات هیپوکلریت کلسیم باعث سوزش جداره مجاری تنفسی، ایجاد سرفه و تنگی نفس خواهد شد. در صورتیکه فردی این بخارات را استنشاق نماید باید بلافاصله او را به محلی با هوای تمیز انتقال داد و در صورت نیاز به او تنفس مصنوعی داد و یا اکسیژن مرطوب به وی رسانید.

- ✓ ــ تماس هیپوکلریت کلسیم با پوست باعث سوزش و حتی سوختگی می گردد که در این صورت باید مواضع آلوده را حداقل به مدت ۱۵ دقیقه با آب فراوان شستشو داد.
- ✓ ــ تماس هیپوکلریت کلسیم با چشم حتی به مدت حدود یک دقیقه باعث سوختگی و کوری خواهد شد. در صورت تماس باید فوراً چشم را به مدت حداقل ۱۵ دقیقه با آب فراوان شستشو داد و یا از سرمهای شستشو استفاده کرد. استفاده از هیچ محلول دیگری برای شستشوی چشم توصیه نمی گردد.
- ✓ ــ خوردن (بلعیدن) هیپوکلریت کلسیم باعث سوختگی و آسیب دیدگی شدید نسوج معده و دستگاه گوارشی می گردد. در صورت بلع، چنانچه مصدوم هوشیار باشد باید به او مقدار زیادی آب و روغن خورانده شود و سپس وی را به پزشک رسانید و در صورت هوشیار نبودن به هیچ وجه نباید چیزی به او خورانده شود. به هیچ عنوان نباید مصدوم را وادار به استفراغ کرد.

Abstract:
Biosecurity means" all activities that decrease the introducing and expanding the pathogen in the shrimp farm" the main activity consisit physical, chemical and biological methods. Some factores has low risck and some of them have high risck level. The level of biosecurity in the shrimp farm and hatcheries is depends the equipmemt and expense that used in the program. For each situation in biosecurity, the scientist will be prepared the standard operation program (SOP) for each risck factor.In the Specific Pathogen Free program that conduted in Bousher, 10 SOP design for different risck factor in the banderga station and Persian Golf Centre for SPF production. The SOP, detecting the main pathogen in shrimp farm in shrimp, feed, water and any equipment in the project. The SOP also consider the disinfectant water with physical and chemival methods such as different net in different size, chemical such as chlorine and ozon and biological filter. During the project studied the methods exclude all pathogen from shrimp and feed and decreased the risck factors in program. The result showed if the culturist used these methods in the production, the safty of shrimp production increased and the sustainable shrimp culture will be available.
Key word: Biosecurity, Ciritical point, Standard Operation Porogram, Disaese

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES SCIENCE RESEARCH INSTITUTE – Shrimp Researsh Center

---

Project Title : Implementation biosecurity standard in shrimp specific pathogen free (SPF) research pilot study
Approved Number: 14-80-12-9103-91001-9101 k
Author: Mohammad Afsharnasab
Project Researcher : Mohammad Afsharnasab
Collaborator(s) : Khosro Aeinjamshid, Babak Ghaednia, Vahid Yeganeh, Khlil Pazir, Abbas ali Zendebodi, Aghil Dashtyannasab, Maryam mirbakhsh,Mohamad reza Mehrabi, Reza Banaderkhshan
Advisor(s): –

Supervisor: Shapoor Kakolaki
Location of execution : Bushehr province
Date of Beginning : 2013
Period of execution : 1 Year & 7 Months
Publisher : ***Iranian Fisheries Science Research Institute***
Date of publishing : 2015
All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES SIENCE RESEARCH INSTITUTE

Project Title :

Implementation biosecurity standard in shrimp specific pathogen free (SPF) research pilot study

Project Researcher :
Mohammad Afsharnasab

Register NO.
46060