

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان دامپزشکی کشور
دفتر بهداشت و مبارزه با بیماریهای آبزیان

اصول واکسیناسیون در آبزیان

ترجمه و گردآوری:

دکتر کاظم عبدی

متخصص بهداشت و بیماریهای آبزیان

دکتر عادل حقیقی

متخصص آسیب شناسی آبزیان

از انتشارات: دفتر بهداشت و مبارزه با بیماریهای آبزیان

بهار ۱۳۸۶

بررسی سیستم ایمنی در ماهیان استخوانی

در ماهیان در زمان تفریح یا بچه آوری (hatching) دستگاه لنفاوی هنوز رشد نکرده است. و تمام ساختمان ها و اعمال موجود در سنین بالا در بچه ماهی نارس (fry) وجود ندارد. در حقیقت، سیستم ایمنی اختصاصی برای چندین هفته بعد از تولید بچه ماهی، هنوز کاملاً بالغ نیست در نتیجه بسیاری از بیماریهای موثر بر بچه ماهی نارس تشخیص آنها در سنین ابتدائی اهمیت دارد چرا که ماهی مولد می تواند بطور موفقیت آمیزی علیه آنها واکسینه شود. این موضوع اهمیت خاصی دارد زیرا اگر بچه ماهی نارس را در همان ابتدا در معرض بعضی از آنتی ژنها قرار بدهیم بجای تحریک شدن سیستم ایمنی جهت ایجاد پاسخ پادتنی ایمنی غیر فعال تحریک شده و آنتی بادی موجود ما دری سدی در برابر مبارزه با آن آنتی ژن خواهد شد.

احتمالاً ابتدائی ترین سنی که یک ماهی می تواند بطور مؤثری واکسینه گردد در بین گونه های مختلف و واکسن های مختلف تفاوت وجود دارد، و در آینده تعیین ابتدائی ترین سن برای هر یک از گونه های ماهیان و برای هر یک از واکسن ها در هدایت آزمایشات تجربی اهمیت خواهد داشت. در حال حاضر برای آزاد ماهیان و کپور ماهیان اطلاعات قابل دسترس کمی بدست آمده است. در این فصل تکامل مکانیسم های دفاعی در ماهیان شرح داده خواهد شد، همچنین در این قسمت ماهیت بیشرفت و توسعه اثرات دستگاه ایمنی و تدابیر لازم واکسیناسیون ماهیان دانسته خواهد شد.

۱- اثرات مادرزادی:

در بسیاری از گونه های ماهیان، جنین و بچه ماهی نارس ممکن است بعضی مواد خونی را که نقش دفاعی داشته و نیز یک منشأ مادری دارند را دریافت کنند. تعدادی از فاکتورهای دفاعی غیراختصاصی در تخمکهای ماهیان مشخص شده است، که شامل آنتی بادی هایی به نام های C واکنش دار (C-reactive)، Protein-Like و آگلوتینینهای Lectin-like می باشند.

پادتن یا ایمونوگلوبولین در تعدادی از تخمک های ماهیانی شامل ماهی کپور (carp) و کفشک ماهی (plaice) مشخص شده است تاکنون ایمونوگلوبولین در تخمک های آزاد ماهیان (salmonids) پیدا نشده است. بنابراین در تعدادی از گونه های ماهیان حداقل، یک احتمال وجود دارد که انتقال مادری ایمونوگلوبولین (Ig) به تخمک ها و بچه ماهی ها سبب یک ایمنی غیر فعال (passive) در فرزندان می شود که توسط واکسینه کردن ماده های مولد می توان موجب ایجاد آن گردید

۲- اندامهای لنفوییدی:

اندامهای بزرگ لنفوییدی در ماهیان استخوانی (Teleost fish) تیموس - کلیه و طحال می باشند تیموس بصورت یک زوج دوطرفه در زیر اپی تلیوم حلقی بصورت پشتی - جانبی (dorso-lateral) در شیارهای آبششی ماهی واقع شده است. تیموس بطور کامل از لنفوسیت های پیشرفته تشکیل شده است این یک صفت اختصاصی تیموس می باشد و مانند سایر مهره داران وقتی که یک اندام لنفوییدی اولیه مجموعه لنفوسیت های باکره و دست نخورده تولید می کند، این لنفوییدی دیگر می پیوندند. تیموس در تولید آنتی بادی یا شناسایی آنتی ژنها شرکت نمی کند.

کلیه اندام اصلی تولیدکننده آنتی بادی می باشد، کلیه از یک بافت خونساز و پخش کننده توانا در لنفوسیتها و پلاسموسیت ها (سلولهای تولیدکننده آنتی بادی) تشکیل شده است. کلیه همچنین یک اندام تصفیه کننده می باشد و حاوی تعداد بسیار زیادی ماکروفاژ برای بلغ آنتی ژنها می باشد.

طحال نسبت به کلیه سلولهای خونساز و لنفوییدی کمتری دارد، و بطور کامل از خونی که در سینوس ها قرار دارد ترکیب شده است. همچنین طحال واجد دیوارهای مویرگی ویژه، بنام اجسام بیضوی (ellipsoids) می باشد، که مرکب از فیبرهای رتیکولین و ماکروفاژها هستند، ماکروفاژها بسیار خاصیت فاگوسیتی دارند در صورتی که رتیکولین فیبر (Reticulin fibre) شبکه توری مانندی است که مخصوص به دام انداختن کمپلکس های ایمنی (کمپلکس های آنتی بادی + آنتی ژن) می باشد. عمل

طحال در ماهی مشخص نیست، اما در پستانداران فرآیندهای بدام انداختن آنتی ژن مشابهی دارد که با پیشرفت خاطره ایمنی (Immune Memory) مرتبط می باشد.

تیموس اولین اندام لنفوئیدی جهت بلوغ لنفوسیت هاست تیموس از داخل سلولهای اپی تلیوم حفره برونشی ماهی (Branchial cavity) بوجود می آید و در بچه ماهی های آزاد ماهیان (Young Salmonids) جداسازی تیموس از محیط خارج به طور کامل تنها بوسیله یک لایه سلولهای پوششی ساده صورت می گیرد. این لایه در ماهی قزل آلائی رنگین کمان قطری بیش از ۲۰ میکرومتر (pm) دارد، در ماهیان مسن تر این بافت پوششی ضخیم تر است. در ماهی کپور معمولی (carp) تیموس ابتدا سطحی است اما سرعت در عمق بافتها فرو می رود.

مدت زمان ظهور لنفوسیت ها در خون گردشی و اندام های لنفوئیدی برای ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (Rainbow trout) آزاد- ماهی اطلس (Atlantic salmon) و ماهی کپور در جدول شماره ۱ مقایسه شده است.

جدول شماره (۱): مقایسه ظهور لنفوسیتها در اندامهای لنفوئیدی رشد یافته در ۳ گونه ماهی استخوانی

آزادماهی (۴-۷) ^C	ماهی قزل آلائی رنگین کمان (۱۴) ^C	ماهی کپور (۲۲) ^C	
۲۲ روز قبل از تفریح	۳-۵ روز پس از تفریح	۵ روز پس از تفریح	تیموس
۱۴ روز قبل از تفریح	۵-۶ روز پس از تفریح	۷-۸ روز پس از تفریح	خون
۱۴ روز قبل از تفریح	۵-۶ روز پس از تفریح	۷-۸ روز پس از تفریح	کلیه
۴۲ روز پس از تفریح	۲۱ روز پس از تفریح	۸-۹ روز پس از تفریح	طحال

پس از تمایز تعداد زیادی از سلول ها در تیموس، آنگاه لنفوسیت ها همزمان در خون و در کلیه ظاهر می شوند، سپس کلیه سرعت مملو از سلولهای لنفوئیدی می گردد، که این امر در طحال دیرتر رخ می دهد و در زمان دقیق تمایز لنفوسیت ها بین گونه ها متفاوت است و احتمالاً این موضوع با میزان رشد ماهی ارتباط دارد.

آنچه مسلم است از نظر شکل شناسی (Morophologically) لنفوسیت ها کوچک بالغ قبل از تفریح یا زمان کمی بعد از آن پدیدار می شوند.

طی چند هفته اول بعد از تفریح میزان رشد بافتهای لنفوئیدی در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان نسبت به سایر اعضا بدن سریعتر است و وزن اندامهای لنفوئیدی، نسبت به وزن بدن، در سن ۲ ماهگی زمانی که ماهیان دارای وزن ۰/۵ گرم می باشند به حد بالای (peak) خود می رسند. پس از آن، در صورتیکه اندامهای لنفوئیدی رشد خود را ادامه دهند، نسبت به سایر اعضا بدن خیلی آهسته تر رشد می کنند، بنابراین می توان نتیجه گرفت که کاهش وزن اندامهای لنفوئیدی با سن ماهی ارتباط دارد. طی چند ماه اول تقسیم میتوزی- لنفوسیتها در تیموس زیاد است و سپس کاهش می یابد، اعتقادی وجود دارد که در طی ۲-۳ ماه اول پس از تفریح بسیاری از سلولهای تیموس (Thymocytes) به سوی اعضای دیگر مهاجرت می کنند و علائم تحلیل رفتن تیموس در حدود ۹ ماهگی پدیدار می گردد.

رشد اندامهای لنفوئیدی ارتباط بهتری با وزن ماهی دارد تا با سن ماهی و بنابراین پدیدار شدن آنها تابع میزان رشد ماهی می باشد همانطور که بعداً مشاهده خواهید نمود، این امر نقش مهمی در واکسیناسیون بچه ماهی نارس تا حد امکان کم سن دارد

۳- بررسی پاسخهای ایمنی ماهیان:

محیط اطراف ما از انواع عوامل عفونت زای میکربی مانند ویروسها، باکتری ها، قارچ ها و انگل ها انباشته شده است، که هر یک از آنها در بدن موجود می توانند سبب آسیبهای پاتولوژیک شوند، و اگر تکثیر آنها بدون کنترل ادامه یابد در نهایت موجب مرگ میزبان خود می شوند، واضح است که اکثر عفونت ها دوره محدودی دارند و آسیب های دائمی بسیار کمی از خود به جای می گذارند. این موضوع سبب وجود دستگاه ایمنی در بدن میزبان است که با عوامل عفونت را مقابله می کند

دستگاه ایمنی از لحاظ عملکرد دو بخش سیستم ایمنی طبیعی و سیستم ایمنی اکتسابی تقسیم می شود .
ایمنی طبیعی به عنوان اولین خط دفاعی در مقابل عوامل عفونت زا عمل می کند و اغلب عواملی که
بالقوه بیماری زا می باشند قبل از این که بتوانند یک عفونت آشکار ایجاد کنند، بدین وسیله کنترل
می شوند. اگر این خط اول دفاعی شکست بخورد سیستم ایمنی اکتسابی وارد عمل می شود سیستم
ایمنی اکتسابی یک واکنش اختصاصی در مقابل هر عامل بیماری زای بخصوص می گردد. علاوه براین،
سیستم ایمنی اکتسابی می توانند عامل عفونت زا ممانعت بعمل آورد. بعنوان مثال متعاقب عفونتهای
سرخک و دیفتری یک ایمنی مادام العمر ایجاد می شود. ویژگی (Specificity) و خاطره ایمونولوژیک
(Memory) دو مشخصه اصلی ایمنی اکتسابی هستند. سیستم ایمنی اکتسابی در برخورد ثانوی با آنتی
ژن پاسخ بسیار قوی تر از پیش، ارائه می دهد، پاسخ ایمنی ثانویه سریعتر ظاهر می شود و از پاسخ اولیه
موثرتر می باشد

عمل واکسیناسیون براین اصل استوار است که یک میکروارگانیزم یا سموم آن را طوری تغییر دهیم که
بدون از دست دادن خاصیت آنتی ژن خود بصورت بی آزاری درآید. در جایی واکسیناسیون این چنین
تعریف شده است: عمل تحریک سیستم ایمنی اختصاصی بوسیله آنتی ژن عوامل پاتوژن عفونی را
واکسیناسیون و عامل این تحریک را واکسن گویند

اصولاً واکسنها به یکی از ۳ طریق زیر باعث ایجاد ایمنی یا تأمین مقاومت می شوند:

(۱) باعث ترشح آنتی بادی حفاظت کننده بوسیله سلولهای دفاعی به داخل خون می گردند که به این

شکل از مقاومت ایمنی هومورال (humoral) گویند.

(۲) باعث پیدایش مقاومت در سلولها شده که به آن ایمنی سلولی می گویند.

(۳) ممکن است باعث ترشح آنتی بادی حفاظت کننده و مقاومت سلولی گردد

الف- سیستم بیگانه خواری:

توسعه و رشد این سیستم با تزریق داخل صفاقی سوسپانسیون های ذرات کربنی در ماهی قزل آلابی رنگین کمان (Rainbow trout) مطالعه شده است. در قزل آلابی بالغ (Adult) محل های بیگانه خواری - بیشتر در کلیه، طحال (در بعضی شکلهای Ellipsoids) و اپی کارد قلب است تا ۴ روز پس از تفریخ (Post-hatch) طحال هنوز وجود ندارد و کلیه نیز هنوز فاقد سلولهای لنفوتیدی است. ذرات کربنی (carbon particles) بوسیله ماکروفاژهای آبشش ها (gills) و بافتهای همبند پوست و روده فاگوسیت یا بلع می گردند. و فقط تعداد کمی فاگوسیت در کلیه وجود دارد. در ۱۸ روز پس از تفریح کلیه مملو از لنفوتیدها می باشد و یک طحال اولیه (Rudimentary spleen) نیز وجود دارد، در این زمان ذرات کربنی عمدتاً بوسیله ماکروفاژهای آبشش ها و کلیه بلع می شوند اما میزان کمی نیز در طی طحال و اپی کارد فاگوسیت می گردند. در چند هفته بعد، تعداد ماکروفاژهای آبششی کاهش یافته و جذب ذرات کربنی همان الگویی را که در موجود بالغ دیدیم کسب می نماید.

این یافته ها دال بر این احتمال هستند که در طی دورانی که اندام های لنفوتیدی گسترش می یابند، مواد خارجی ممکن است بوسیله جمعیت های ماکروفاژی داخل پوست از ورودشان به گردش عمومی خون بچه ماهی ها جلوگیری گردد، زمانی که اندام های اطرافی پر از لنفوتید شوند ماکروفاژهای آبششی بوسیله ماکروفاژهای اندام لنفوتیدی جایگزین می شوند، این مراحل گسترش یابند ممکن است در پیشرفت پاسخ های ایمنولوژیکی دارای اهمیت باشد

ب- بلوغ لنفوسیت ها:

اگر چه از نظر شکل شناسی لنفوسیت ها کوچک، در قبل یا کمی بعد از تفریخ یا بچه در آوری قابل شناسایی هستند اما پس از آشکار شدن هنوز از نظر عملکردی بالغ نشده اند. در لنفوسیت های بالغ (بزرگ)، سطح لنفوسیتها توسط برخی از آنتی ژنهای مرتبط با عمل این سلول ها اشغال می شود حضور این آنتی ژنها

می تواند بعنوان یک نشانه جهت تفریق عملکردی سلولهای بالغ از نابالغ، و در پستانداران برای تمیز دادن جمعیت های لنفوسیتی با عملکردهای مختلف مورد استفاده قرار بگیرد در ماهیان بالغ، تمام لنفوسیتها واجد یک تعیین کننده آنتی ژنی می باشند که با برخی شاخصهای پادگنی (Epitopes) آنتی بادیهای سرم واکنش متقاطع دارند، این تعیین کننده آنتی ژنی در سطح ایمونوگلوبولین (Ig) قرار دارد و معرف جایگاه شناسایی آنتی ژن لنفوسیت می باشد.

کشف این تعیین کننده آنتی ژنی لنفوسیت ها (Marker) در طی مطالعات گذشته صورت گرفته است. در آزاد ماهی اقیانوس اطلس، اگرچه تیموس و کلیه در زمان تفریح کاملاً لنفوئیدی می باشند اما پیش از روز ۳۵ متعاقب تفریح لنفوسیتها فاقد سطح ایمونوگلوبولینی (surface Ig) در پیش از این زمان توانایی تولید یک پاسخ پادتنی را داشته باشد. تکنیک مطالعه بلوغ اولیه لنفوسیت ها، توسط پادتنی را داشته باشد. تکنیک مطالعه بلوغ اولیه لنفوسیت ها، توسط خالص کردن آنها با استفاده از آنتی بادیهای مونوکلنال (Monoclonal) انجام گردید. در این مطالعه پس از تحت تأثیر قرار دادن لنفوسیتها، با ایمونوگلوبولین های سرم و سلولهای تیموسی ماهی کپور سه نوع مونوکلنال بنامهای $Ig^+ T^-$ ، $Ig^- T^+$ ، $Ig^+ T^+$ تفکیک گردید. ظهور تعیین کننده های آنتی ژنی سطحی در سلولهای لنفوئیدی تیموس و کلیه بچه ماهی کپوری که با این آنتی بادیهای مونوکلنال واکنش می دهند در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

این جدول پدیدار شدن تعیین کننده های مختلف سلولهای لنفوئیدی را در زمان های مختلف از رشد بررسی می کند. تعیین کننده ابتدا در تیموس و پس از آن در کلیه پدیدار می گردد. سلولهای $Ig^+ T^-$ احتمالاً سلول های B می باشند که در تیموس وجود ندارد، و در کلیه تماماً دیر ظاهر می شوند و تنها سلولهای مقدم یا ابتدایی هستند که نشانه ای رنگی (Stain) برای این تعیین کننده در داخل سیتوپلاسم خود دارند و بنابراین، احتمال دارد پلاسماوسیت ها باشند.

بنابراین، اگر چه لنفوسیتها موجود بزودی رشد می کنند اما آنها بلوغ عملی خویش را در یک دوره

زمانی دیگری قبل از آنکه توانایی اجرای یک پاسخ ایمنی را داشته باشند بدست می آورند

جدول شماره (۲): ظهور تعیین کننده های آنتی ژنی سطحی سلولهای لنفوئیدی در طی رشد اندامهای لنفوئیدی در ماهی کپور و در حرارت 21°C

کلیه			تیموس		روزهای پس از تفریح
Ig ⁺ T ⁻	Ig ⁻ T ⁺	Ig ⁺ T ⁺	Ig ⁻ T ⁺	Ig ⁺ T ⁺	
-	-	-	-	+	۲
-	-	+	+	+	۵
-	+	+	+	+	۱۰
+	+	+	+	+	۱۴
+	+	+	+	+	۱۹

ج- دستگاه ایمنی اختصاصی:

پاسخ ایمنی سازشی یا اختصاصی دارای دوبازو است: ایمنی همورال (تولید کننده آنتی بادی) و ایمنی

با واسطه سلولی (Immunity Cell Mediated) تماس یک آنتی ژن منجر به تحریک میزان کوچکی از

لنفوسیت های دست نخورده می شود که مستعد شناسایی آنتی ژن از طریق رسپتورهای آنتی ژن اختصاصی

هستند. این لنفوسیت های اختصاصی تشکیل کلونهایی را می دهند میکروگالیسم ها دارای آنتی ژن های

مختلف متعدد در سطح خود می باشند که هر کدام از آنتی ژن ها قابلیت شناخته شدن بوسیله کلونهای

مختلف لنفوسیتها را دارند. دو جمعیت اصلی لنفوسیتها وجود دارد. T لنفوسیتها که از تیموس (Thymus)

منشاء می گیرند منشاء سلولهای لنفوسیتها در ماهیان استخوانی (Teleost) بطور قطعی شناخته شده نیست،

هر چند که احتمالاً منشاء آنها کلیه می باشد

سلولهای B و T هنگامی که در مجاورت سلولهای کمکی به آنتی ژن اختصاصی خود متصل شوند، فعال

می گردند، سپس این لنفوسیت های دست نخورده غیر فعال تریاید حاصل کرده و بالغ می شوند، تا تبدیل به،

سلولهای اثرکننده (Effector cells) شوند، این انتخاب کلونی که از طریق شناخت آنتی ژنیک صورت می گیرند موجب می شود تا کلونهای اختصاصی گسترش یافته و در نهایت یا به سلولهای اثرکننده تمایز یابند و یا سلولهای خاطره ای (Memory cells) را ایجاد نمایند

سیستم ایمنی اختصاصی پس از تحریک بوسیله آنتی ژن - اختصاصی تراید حاصل کرده و بصورت ستونهایی به دو نوع سلول افکتور (مانند پلازما سل ها) و خاطره ای تمایز می یابند این تراید سلولی پاسخ اولیه می باشد. هنگامیکه سلولهای خاطره ای بار دیگر بوسیله آنتی ژن تحریک گردند تراید حاصل می نمایند (پاسخ ثانویه) و بعضی از سلولهای این ستون به سلولهای افکتور تکامل می یابند، در حالیکه دیگر سلولها بصورت سلولهای خاطره ای می مانند. بدین ترتیب ذخیره سلولهای افکتور و حافظه ای ، هر دو افزایش می یابد.

ایمنی همورال و تحمل ایمنی:

دو فاکتور مهم در ویژگی پاسخ پادتنی در ماهیان جوان تأثیر دارد:

۱- ماهیت آنتی ژن

۲- راه برخورد با آنتی ژن

تولید آنتی ژن بادی در بچه ماهی نوری نسبت به آنتی ژنهای ذره ای - پستانداران مانند لیپوپلی ساکاریدباکتریایی بر آنتی ژنهای محلول مانند بیشتر آنتی ژنهای پروتئینی محلول مقدم تراست بعبارت دیگر ساخته شدن آنتی بادی در بچه ماهیها بیشتر نسبت به آنتی ژنهای ذره ای - پستانداران صورت می گیرد. بچه ماهی قزل آلاهی رنگین کمان وقتی کم در حرارت $4-6^{\circ}\text{C}$ و در یک هفته پس از تفریح، مستقیماً در باکترین آئروموناس سالمونیسید (*Aeromonas salmonicida*) غوطه ور گردد، پاسخ پادتنی ایجاد نمی کند. اما وقتی سن بچه ماهیچه ها ۴ هفته باشد هر چند که با توجه به افزایش پاسخ ثانویه در سن ۸ هفتگی (زمانیکه وزن بچه ماهی ۰/۲۶ گرم است) ، دلیلی بر پیشرفت خاطره ایمنی در بچه ماهی ۴ هفته وجود ندارد.

تدابیر لازم جهت انجام واکسیناسیون در ماهیان

از نظر تدابیر لازم برای واکسیناسیون ماهیان، در این فصل دو فاکتور اساسی مهم مورد بحث و بررسی قرار

می گیرد:

۱- روشهای تجویز واکسن

۲- فاکتورهای اقتصادی موثر در واکسیناسیون و بررسی و محاسبه سود و زیان حاصل از این فاکتورها

۱- روشهای تجویز واکسن:

روش های معمول واکسیناسیون ماهیان در شرایط مختلف محیطی مزارع پرورش ماهی عبارتند از:

روش تزریق، غوطه ور سازی و روش خوراکی.

علاوه بر روشهای فوق الذکر روشهای دیگری نیز وجود دارند که کمتر استفاده می شوند و متعاقباً مورد

بحث قرار خواهد گرفت. روشهای تزریق و غوطه ور سازی تنها برای مزارع متراکم پرورش ماهی مناسب

می باشند. و برای اجرای این دو روش لازم است که ماهیان در طی عمل واکسیناسیون یا با دست گرفته شوند.

(در روش تزریق) و یا تعداد کمی ماهی، در مکان کوچکی جا داده شوند (در روش غوطه ور سازی).

از نظر اقتصادی تنها روش مناسب واکسیناسیون برای مزارع گسترده پرورش ماهی روش خوراکی

می باشد و تنها به همراه جیره غذایی ساختگی می تواند بکار گرفته شود. جدول شماره ۵ و ۶، فواید و

محدودیتهای این سه روش تجویز واکسن را بطور خلاصه نشان می دهند.

الف: روش تزریق:

پادگن هایی که به منظور ایجاد پادتن هومورال یا گردشی به کار برده می شوند به داخل بدن ماهیان به

طریق داخل عضلانی، داخل صفاقی داخل عروقی، زیر جلدی و یا به داخل سایر قسمت های بدن تزریق

می شوند. این روش درمقایسه با سایر روش های تجویز واکسن، پاسخ ایمنی سریعتر و احتمالاً حفاظت کننده تر،

در برابر عامل بیماریزا ایجاد می کند. بطور کلی عیب این روش آن است که تنها زمانیکه تعداد ماهیان ایمن شونده کم باشد قابل اجرا خواهد بود. روش تزریق معمولاً در سیستم های پرورشی وسیع و گسترده، به علت اینکه تعداد زیادی ماهی باید ایمن شوند، عملی و انجام پذیر نمی باشد. تزریق بصورت گسترده، تنها در ماهیان مولد (Fishes Brood) و همچنین ماهیان نسل بزرگ بکار برده می شود. عدم کاربردی بودن روش تزریق در سیستم پرورشی گسترده و وسیع، موجب توسعه بیشتر سایر روش های ایمن کردن گردیده است.

در واکسیناسیون به روش تزریق ابتدا ماهیان باید بیهوش گردند. تا به آسانی بتوان آنها را در دست گرفت. در این مورد باید از استرس زیاد اجتناب کرد.

دو روش بیهوشی متداول که عموماً استفاده می شوند عبارتند از :

۱- استفاده از ماده ای بنام MS222 (Metaeaine Methane Sulphonate)

۲- استفاده از بنزوکائین (Benzocaine)

ماده ای است محلول در آب، و هنگامیکه یا مقدار ۵۰ mg در هر لیتر (۵۰ ppm) استفاده گردد، بیهوشی سبکی را سبب می شود. با اینحال استفاده از این ماده در سیستم های پرورشی گسترده گران می باشد. بنزوکائین قبل از اضافه نمودن به آب، در حجم بسیار کمی از الکل حل می گردد و یک غلظت تقریباً ۲۵ میلی گرم در لیتر ایجاد می شود.

سرنگهایی که برای تزریق واکسن بکار می رود می تواند برای چند دوز (dose) مورد استفاده قرار گیرد. محل تزریق داخل صفاق در جلوی باله های مخرجی می باشد. سرنگ با زاویه حدود ۲۵ درجه از سطح بدن قرار داده می شود. تا پس از تزریق ماده وارد شده به حفره صفاقی کمترین آسیب را به اندامهای داخلی برساند. هنگام کار باید سرسوزنها مرتب تعویض شود چون در ضمن کار سائیده می شوند. سرنگهای قابل دسترس تجاری برای یک میزان مشخص (۱/۰ میلی لیتر) تنظیم شده اند، که با اندازه وزن ماهی ارتباطی ندارند.

همچنین تعداد ماهیان تزریق شده بوسیله سرنگهای اتوماتیک دستی حاوی مخزن پادگن، می تواند در هر ساعت یا هر روز افزایش یابد.

جدول شماره (۵): مختصری از فواید و محدودیتهای روشهای تزریق غوطه وری و خوراک در واکسیناسیون ماهیان :

روش	فواید	محدودیت ها
تزریقی	<ul style="list-style-type: none"> - بیشترین توانایی ایمن سازی را دارد. - استفاده از مواد مشوق در این روش کم است. - روشی موثر و با ارزش در ماهیان بزرگ 	<ul style="list-style-type: none"> - تنها در کارگاههای پرورشی متراکم کاربرد دارد. - استرس فراوان به همراه دارد (چه در هنگام بیهوش کردن و چه در هنگام دستکاری). - دارای زحمت فراوان - ماهی باید بیشتر از ۱۵ گرم باشد.
غوطه وری	<ul style="list-style-type: none"> - در ماهیان با وزن کمتر از ۵ گرم کاربرد دارد. - بیشترین تأثیر در ماهیان با وزن کمتر از ۱۰ گرم دارد. - شکل حمام دادن یا شستشو (bath) در این روش استرس به همراه ندارد. 	<ul style="list-style-type: none"> - فقط برای کارگاههای پرورشی متراکم کاربرد دارد. - شکل سریع (Dip) استرس ناشی از دست گرفتن ماهی به همراه دارد. - ایمن سازی در این روش به اندازه روش تزریقی نمی باشد.
خوراکی	<ul style="list-style-type: none"> - تنها روش برای کارگاههای پرورشی وسیع و گسترده می باشد. - استرس زیادی به همراه ندارد. - برای هر اندازه از وزن ماهیان کاربرد دارد. 	<ul style="list-style-type: none"> - ایمن سازی در آن ضعیف است. - برای ایجاد مصونیت به میزانهای زیادی از واکسن نیاز می باشد. - تنها برای ماهیانی است که با رژیم غذایی مناسب تغذیه می شوند.

جدول شماره (۶): روش بکار گرفتن و تجویز واکسنها در ماهیان :

مدت زمان تماس	نسبت محلول واکسن (بستگی به نوع واکسن و اندازه ماهی دارد)			روش
۳۰-۵ ثانیه	۱ : ۳	۱ : ۱۰	۱ : ۱۰۰	غوطه ور سازی به روش dip
یک ساعت یا بیشتر		۱ : ۵۰۰	۱ : ۵۰۰۰	غوطه ور سازی به روش bath
۲-۵ ثانیه	۱ : ۳	۱ : ۱۰	۱ : ۱۰۰	اسپری
تزریق مستقیم	غیر محلول (۰/۱ میلی لیتر)			مایه کوبی
یک هفته یا بیشتر	به همراه غذا			خوراکی

تزریق داخل عضلانی در سطح پشتی ماهیان بندرت استفاده می شود، چرا که احتمالاً موجب ایجاد زخم ناخوشایند و بد منظر می گردد و همچنین می تواند سبب نشست ماده تلقیحی قبل از جذب شدن گردد. اگر مشوق یا کمکی برای مثال روغن یا زاج سفید (alum based) در واکسن وجود داشته باشند، تزریق داخل عضلانی نباید مورد استفاده قرار گیرد چرا که سبب نکروز خارجی عضله می شود، که اغلب بصورت زخم می باشد. علی رغم وجود منافذ صفاقی (Peritoneal pores) در اکثر گونه های ماهیان (برای مثال آزاد ماهیان) با این وجود ضرر واکسن هنگام تزریق از راه داخل صفاقی بسیار کم است.

میزان عمل واکسینه نمودن به وزن انفرادی هر ماهی، مهارت واکسیناتور و بازدهی تیم بیوشی و نیز مربی پرورش ماهی بستگی دارد. در شرایط مطلوب وقتی که وزن هر ماهی بیش از ۲۰ گرم باشد، یک مربی اضافی و کمکی می تواند ۲۰۰ الی ۱۰۰۰ ماهی را در مدت یک ساعت تزریق کند. میزان واکسینه ها بندرت به تعداد ۶۰۰-۷۰۰ در مدت یک ساعت خواهد رسید حتی اگر شرایط مطلوب ناچیز، و کار توسط کارگران بی تجربه صورت گرفته باشد.

حمل کردن ماهیان با دست قسمت خطرناک کار در این روش است. و مربیان مهمترین افراد، در بی خطر نمودن کار هستند، تا ضررهایی واقع نشود. همچنین توجه به این نکته مهم است، که ماهیان برای مدت

زمان کمی باید بیهوش بمانند. بنابراین در یک زمان ماهیان باید آماده شوند و توسط واکسیناتورهایی که به میزان کافی قبلاً در نظر گرفته شده و همچنین توانایی کار پیوسته و مداوم در حداکثر سرعت را دارند، واکسینه گردند. توجه به سلامتی ماهیان مقدم تر است و اگر در ضمن کار تاخیری واقع شود مسئول تذکر دادن در این مورد مرییان می باشند. با بکارگیری دستوارت لازم می توان از ضررهای روش تزریقی جلوگیری نمود.

روش تزریق از دو جهت، ایجاد مصونیت و نیز از نظر اقتصادی سودمند می باشد. هر چند که با زحمت و تلاش بسیار زیادی همراه است زمانیکه ماهیان پایین تر از ۱۵ گرم وزن دارند بطور نسبی غیر عملی می شود. برای هدفهای آزمایشی و تجربی حتی بچه ماهیهای نارس کوچکتر (Smalest fry) ممکن است تزریق شوند. آزاد ماهیانی که در مرحله مهاجرت و زانشان به میزان ۴۵-۲۵ گرم رسیده باشد با اطمینان کامل می توانند تزریق گردند. اما در چنین مرحله حساسی از چرخه زندگی آزاد ماهیان، مراقبت در اعمال انتقال دادن آنها به خارج جهت تزریق ضروری می باشد. روش تزریق بیشتر در بین ماهیان پرورشی قفسهای شناور و یا در زمانیکه ماهیان بزرگ (بیشتر از ۱۰۰ گرم)، به درمان نیازمند باشند مورد استفاده قرار می گیرد.

ب- روشهای غوطه وری :

از روشهای دیگر واکسیناسیون در استفاده روتین و عادی که با بازدهی خوبی همراه است، غوطه ور ساختن مستقیم سطح خارجی ماهی در واکسن رقیق شده هنگامیکه واکسن بطور عمده از طریق آبشش ها مورد استفاده قرار می گیرد.

غوطه ور ساختن مستقیم به دو شکل انجام می گیرد:

۱- واکسیناسیون بصورت غوطه وری سریع

۲- واکسیناسیون بصورت شستشو یا حمام دادن

واکسیناسیون غوطه وری سریع (روش dip):

در نزدیکی مخزن های آب موجود در کارگاه پرورش ماهی یک مخزن کوچک محتوی واکسن قرار می گیرد. حجم واکسن لازم جهت شستشو وابسته به دستور کارخانه سازنده واکسن می باشد اما عموماً " و اکثراً " واکسن رقیق شده بصورت یک قسمت واکسن در ۹ قسمت آب مقطر حل می گردد و دمای آب مقطر همانند دمای آب محل زندگی ماهی است. هر لیتر واکسن غیر رقیق شده یا غلیظ محتوی آنتی ژن کافی برای ۱۰۰ کلیو گرم ماهی می باشد. بنابراین ۱۰۰، ۰۰۰ ماهی با وزن ۴/۵ گرم برای واکسینه شدن نیاز به ۴/۵ لیتر واکسن غلیظ خواهند داشت. که مقدار رقیق شده آن ۴۵ لیتر واکسن خواهد بود که برای این حجم کار ضرورت دارد. جدول شماره ۷ نیاز به واکسن را برای اندازه های مختلف ماهیان با توجه به این برنامه نشان می دهد.

تورهای شستشو جهت اجرای این روش وجود دارد که ماهی بصورت آرام در تور قرار داده می شود و آنگاه در واکسن برای مدت ۲۰ ثانیه تا یک دقیقه غوطه ور ساخته می شود، البته توجه به سفارش اختصاصی کارخانه سازنده واکسن لازم است. پس از آن ماهی به یک مخزن نگهداری تازه برمی گردد. بهتر است آب محتوی واکسن لازم جهت شستشو را اکسیژن دار نمود، بخصوص اگر یک واکسن برای جهت تعیین تعداد ماهیان در تورهای شستشو مشکل است، اگر چه لازم است دانسته شود، اما ماهیان نباید در تورها ازدحام داشته باشند. توصیه در مورد مقادیر واکسن به ازاء وزن ماهیان، بصورت ۴۵۰ گرم وزن ماهی به ازاء یک لیتر واکسن رقیق شده می باشد. دستکاری انبوهی جمعیت و در تور قرار دادن ماهیان جهت انجام واکسیناسیون بصورت Dip بسیار استرس زا می باشد و ممکن است ضرر قابل توجهی را سبب گردد. ولی با اینحال حتی بطور نسبی گونه های حساس مانند، ماهی خاردار دریائی (sea bream) دریائی که گرفتن آنها مشکل است بوسیله این روش درمان می شوند

واکسیناسیون به طریق شستشو یا حمام دادن (روش bath):

ضرورت انجام واکسیناسیون بصورت شستشو بدون قرار دادن ماهی در تور یا بدون اینکه در دست گرفته شود ضروری است که واکسن بطور مستقیم در مخزن نگهداری اضافه گردد. این روش اجرا اگر چه ساده است اما مقدار مصرف واکسن را بسیار بالا می برد.

اضافه نمودن یک قسمت واکسن در ۱۰ قسمت آب در مخزن نگهداری نیاز به حجم زیادی از واکسن دارد. هر چند یک محلول بسیار رقیق، برای ایجاد مصونیت طولانی، به مدت زمان تماس زیادی نیازمند می باشد. برنامه واکسیناسیون به طریق شستشو (Bath vaccination) به صورت استاندارد توسط Egidius و Anderson در نروژ انجام یافت و این روش بطور گسترده ای قبل از مهاجرت آزاد ماهیان، یعنی در مرحله ۴-۸ هفتگی قبل از انتقال به آب دریا مورد استفاده قرار گرفت. در هنگام اجرای این روش میزان آب مخزن نگهداری به سطح حداقل پایین آورده می شود و هنگامی که وزن ماهی مشخص شده باشد، با اکسیژن دار کردن مخزن به مدت یک ساعت می توان ماهی را در مخزن با اطمینان نگهداری نمود. به مخزن حجمی از واکسن اضافه می کنیم، تا زمانیکه رقت $\frac{1}{500}$ بدست آید. بعد از یک ساعت جریان آب برگردانده شده و حجم مخزن به حالت طبیعی قبلی رسانده می شود و واکسن از این طریق به آهستگی رقیق می شود.

جهت انجام واکسیناسیون، وزن ماهیان باید به ازاء یک لیتر واکسن غلیظ محاسبه گردد. به ازاء یک لیتر واکسن ممکن است میانگین وزنی ۴۰-۶۰ کیلو گرم واکسینه گردد اما احتمالاً میانگین وزنی ۲۵-۳۰ کیلو گرم در ماهیانی از قبیل آزاد ماهی مهاجر (Salmon smolts) و ماهی توربوت Turbot اثر مفیدتری داشته باشد. روش واکسیناسیون بصورت شستشو، زحمت فراوانی ندارد و یک یا دو فرد به تنهایی می توانند یک کارگاه را در مدت نیمروز بطور کامل واکسینه بنمایند.

واکسنهای غوطه وری در غلظتهای بالا می توانند سمی باشند و ضروری است که از کارخانه سازنده تبعیت شود. همچنین گونه های مختلف ماهیان ممکن است بطور متفاوتی نسبت به واکسنها حساسیت نشان دهند.

اگر یک واکسن مورد استفاده در گونه ای از ماهیان بوسیله کارخانه سازنده تست نشده باشد، بهتر است قبل از انجام واکسیناسیون اصلی یک تست در محل بصورت شستشوی تعداد کمی از ماهیان انجام گیرد و این موضوع بسیار اهمیت دارد.

برای آزاد ماهی اطلسی، واکسنهای بیماری ERM نسبت به واکسنهای بیماری ویبریوسیا رسمی می باشند، در حالیکه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تحت شرایط طبیعی از نظر رشد نسبت به هر دو نوع واکسن حساس می باشند. از نظر تئوری هر دو روش غوطه وری (Bath and dip) احتمالاً می توانند در سیستم قفس های شناور در دریا استفاده شوند اما از نظر اجرای عملی شاید غیر اقتصادی باشد

ج- واکسیناسیون به روش خوراکی:

برای کارگاه های پرورشی بزرگ و گسترده که ماهیان در حوضچه های بسیار بزرگی پرورش داده می شوند و دست زدن به ماهیان فقط در هنگام صید انجام می گیرد، واکسن های خوراکی تنها تدبیر کاربردی ممکنه می باشند. در گذشته تلاش هایی در جهت انجام واکسیناسیون ماهی توسط روش خوراکی انجام شده است و اخیراً نیز در زمینه این روش تحقیقات فراوانی برای همه واکسنهای باکتریایی رایج بعمل آمده است مصونیت ایجاد شده بوسیله این روش نسبت به روشهای دیگر پایین تر بوده و همچنین رسیدن به این مصونیت طولانی تر است. ولی ممکن است در صورت وجود آنتی ژن کافی، مصونیت ایجاد شده بطور قابل قبولی بالا باشد. همچنین زاج پتاسیم (potassium alum) بطور قابل ملاحظه ای افزایش توان واکسن های خوراکی ویبریو را نشان داده است. پژوهشهای بعدی، استفاده از مواد مشوق را به همراه واکسنهای خوراکی ثابت کرده است

کاربردی ترین روش ایمن کردن در تعداد زیادی از ماهیان روش - خوراندن پادگن است. ماهیان ذرات نسبتاً بزرگ را از راه روده خود جذب می کنند. بیگانه خواری لکوسیتهی مواد غذایی هضم یا نیمه هضم شده (بخصوص چربیهای خنثی و پلی پیتیدها) از لوله گوارشی جهت رها شدن به داخل جریان خون یا سیستم

لنفاوی در ماهیان اتفاق می افتد. این قسمت از مواد غذایی مهم می باشد که خود جذب سایر ذرات را بخوبی بر عهده می گیرد. یاخته های باکتریایی یا واکسن هیا (باکترین ها) تهیه شده از یاخته های باکتریایی نیز محتملاً بیگانه خواری شده و از طریق گردش خون یا مجاری لنفاوی به ماکروفاژها در اندامهای تولید کننده پادتن (بافت خون ساز کلیه، طحال یا تیموس) حمل می شوند بیگانه خواری مبین آن است که چرا ماهیان می توانند پادتن های مشابه گردش کننده در برابر باکترین های تجویز شده بطریق خوراکی ایجاد کنند

ایمنی خوراکی ماهی قزل آلا اولین بار در سال ۱۹۴۲ نشان داده شد واکسن تهیه شده از آئروموناس (باکتریوم) سالمونیسیدا به ماهی قزل آلا خورانده شد و ظاهراً حالت حفاظتی متوسط در برابر برفورونکلوز ایجاد کرد. از سایر تحقیقات چنین نتیجه می شود که پادتنهای هومورال در مدتی طولانی پس از خوراندن پادگنهای باکتریایی، یعنی در حدود ۷۰ تا ۲۷۲ روز بوجود می آیند. هنگامیکه ماهی به طریقه خوراکی ایمن شده را با همان باکتری بر خورد می دادند با کاهش تلفات روبرو می شدند، اطلاعات حاصله از تجارب انجام شده نشان می دهد که می توان بیماریهای باکتریایی را با ایمنی کنترل نمود، ولی با اینحال تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است. ایمن سازی به طریق خوراکی در صورت توام شدن با سایر روش های ایمن سازی ممکن است در ماهیان دریافت کننده پادگن، مصونیت را زیاد تر و یا طولانی تر بگرداند

د- روش نفوذ با فشار اسمزی بالا یا برابر:

یک روش بدعتی ایمنی دسته جمعی برای ماهیان بوده که در سال ۱۹۷۶ گزارش گردید. ماهی قزل آلا ی رنگین کمان ابتدا در محلول اوره - (urea) یا کلرورسدیم با فشار اسمزی بالا یعنی ۱/۶۵۰ میلی اوسمول (milliosmoles) به مدت ۲ دقیقه و سپس در آلبومین سرم گاوی با فشار اسمزی پایین (۰.۲٪ محلول آبی) با مدت ۳ دقیقه قرار داده شد. میزان آلبومین سرم گاوی در خون ماهیان آزمایشی ۰/۲ میلی گرم در میلی لیتر خون تعیین گردید.

آلبومین سرم گاوی هنگامیکه هر دو محلول (اوره یا کلرور سدیم در ۱/۶۵۰ میلی اسمول و ۲٪ آلبومین سرم گاو) تماماً بکار برده شده بودندو به خون قزل آلائی مورد آزمایش داخل گردیده بود. روش دو مرحله ای نسبت به روش یک مرحله ای میزان بیشتری از سرم گاو تحویل و جابجا کرده است روشی که در آن ماهیان ابتدا در معرض محلول با فشار اسمزی بالا سپس در تعلیق پادگنی با فشار اسمزی پائین قرار می گیرند معمولاً " نفوذ با فشار اسمزی بالا " نامیده می شود. به روشی که در آن عامل ایمنی در یک محلول با فشار اسمزی بالا بحالت تعلیق در می آید " نفوذ با فشار اسمزی برابر " اطلاق می گردد. هر دو روش برای ایمنی دسته جمعی ماهی قزل آلا بر علیه بیماری دهان قرمز انتریک (ایجاد شده بوسیله یرسینیا روکری) تجویز شده اند. بطور کلی باکترین های یرسینیا روکری و ویبریوانگوتیلا روم محتملاً بعلت محدودیت سروتیپهای آنها به فراوانی سروتیپهای باکتریهای بیماریزای دیگر به طور موفقیت آمیز به کاربرده شده اند.

اطلاعات منتشر شده ای درباره اینکه چگونه هیپراسموز و باکترین در نظر گرفته شده در ماهیان واکنش ایمنی ایجاد می کند وجود ندارد.

معمولاً پادتن گردش کننده در ماهیان این شده با فشار اسمزی بالا بوجود نمی آید گفته می شود پاسخ ایمنی از نوع با واسطه سلولی است ولی دلیلی برای این امر نشان داده نشده است.

مهمترین مزیت بکار بردن هیپراسموز برای ایمن کردن آن است که می توان تعداد زیادی از ماهیان را با یک حمال نفوذی منفرد واکسینه نمود.

تکنیک معمولی عبارت است از غوطه ور ساختن ماهیان هنگامی که کوچک (۱۰۰ تا ۱۰۰۰ ماهی برابر کیلو گرم) هستند. دسته های ۱۰۰، ۵۰۰، عددی ماهیان و یا بیشتر را می توان کاملاً براحتی در محلول با فشار اسمزی بالا و تعلیق باکترین یا تعلیق اسمزی برابر جابجا نمود. بشکه ها (vats) و یا تگارهای چوبی یا وان های (tubs) وسیله ایمن کردن را می توان در کنار تانکهای ماهی قرار داد و با باکترین کار کرد. یک ایمنی اولیه و متعاقب آن یک ایمنی یادآور ۲ یا ۳ هفته پس از ایمنی اولیه برای ایجاد مصونیت بهتر توصیه شده است

معایب این روش: قیمت باکترین مانع ایمن کردن تعداد زیاد ماهیان در کارگاههای پرورش ماهی می شود.

باکترین ها را بایستی به نسبت وزن معین شده ماهیان در هر لیتر باکترین بکار برد. در یک باکترین تجارتي ایمن کردن ۶۸ کیلو گرم ماهی در هر لیتر توصیه شده است.

مدت انقضاء ایمنی بیماری پس از ۵ تا ۷ ماه گزارش شده است حتی در ماهی قزل آلا، رنگین کمان پس از ۵ تا ۷ ماه گزارش شده است حتی اگر ایمنی یادآور بکار رود. ماهیان قزل آلا ایمن شده ظاهراً حالت حفاظتی و دفاعی را از دست داده و مرگ و میر آنها از بیماری دهان قرمز آنتریک در شرایط پرورشی با یک همه گیری پرسبیا روکری آغاز می گردد. از نظر اقتصادی مدت ۷-۵ ماه بسیار کم می باشد

ماهی قزل آلا، آزاد و احتمالاً گونه های دیگر ماهیان می توانند در مقابل تغییر خیلی زیاد فشار راسمزی هنگام واکسید شدن با روش فشار اسمزی بالا مقاومت کنند. تجارب به عمل آمده نشان داده است که بسیاری از گونه های ماهیان آب شیرین را نمی توان در محلولهای با فشار راسمزی ۱/۶۵۰ میلی اسمول، بدون اینکه ماهیان تلف شوند، حتی به مدت چند ثانیه قرار داد. بنابراین می بایستی هیپراسموز مورد استعمال در ایمنی ماهیان برای آن دسته از ماهیانی که قادر هستند در برابر فشار اسمزی نسبتاً بالا مقاومت کنند، محدود گردد.

ایمنی با فشار اسمزی بالا توان بالقوه عظیمی را برای کنترل بسیاری از بیماریهای ماهیان دارد. تحقیقات بیشتری محدودیتها و امتیازهای آن را در ایمنی ماهیان مشخص خواهد کرد

ه- روش نفوذ با اسپری کردن:

تحقیقات انجام شده بر روی روشهای مناسب برای ایمن کردن دسته جمعی منجر به ایجاد روش نفوذ با اسپری کردن گشته است. ماهیان از آب - خارج شده و با باکترین تحت فشار بالا (۱۰۰ پوند بر هر اینچ مربع = تقریباً ۷ کیلو گرم بر هر سانتی متر مربع)، با به کار بردن یک دستگاه ماسه پاش (sand blusting gun) اسپری می شوند. پادگنهای ویبریوا نگوئیلا روم (vibrio anguillarum) با فرمالین کشته شده و ملحق شده به

ذرات بنتونیت (bentonite) یا سیلیکات آلومینیوم و پاشیده شده بر روی ماهی آزاد کوهو حفاظتی بر علیه ویبریوز به مدت تا ۱۲۵ روز ایجاد کرده است. تکنیک نفوذ با اسپری کردن در کنترل ویبریوز نسبت به روش ایمنی خوراکی در ماهی آزاد کوهو موثرتر تشخیص داده شده است. یک ماده ایمن کننده چهار ارزشی حاوی دو گونه ویبریو، آثروموناس سالمونیسیدا ورنیباکتریوم سالمونینا روم (Salmoninarum Rentbacterium) به ماهی آزاد کوهو نفوذ داده شده و تیتراهای جمع کننده برای تمام ارگانسیم نشان داده شده است. بعلاوه مواد ایمن کننده چند ارزشی یک اثر کمک ایمنی از خود بروز داده که هر یک واکنش ایمنی ماهی را نسبت به دیگری افزایش داده است روش نفوذ با اسپری کردن به تحقیق یک تکنیک ایمنی دسته جمعی امید بخش برای ماهیان می باشد

و- روش نفوذ توأم با خلاء :

یک روش دسته بندی باکترین و واکسن برای ایمنی ماهیان بوده که در سال ۱۹۷۶ گزارش شده است. این روش اصطلاحاً نفوذ توأم با خلاء نامیده شده زیرا ماهیان در تعلیق نمکی پادگن های باکتریائی یا ویروسی در یک اطاق خلاء به حالت تعلیق نگه داری می شوند. ماهی و تعلیق پادگن در معرض ۳ بار کاهش سریع فشار جوی که به سرعت به فشار جوی محیطی قابل برگشت می باشند قرار می گیرند. تمام مراحل اجرائی این روش تقریباً به ۲ یا ۳ دقیقه نیاز دارد، تصور می شود که پادگنها به وسیله تغییرات سریع در فشار جوی به بافتهای ماهی نفوذ می کنند.

روش نفوذ توأم با خلاء بطور تجربی برای ایمن کردن ماهی آزاد کوهو بر علیه بیماری نکروز بافت های خونساز عفونی (IHN)، بیماری دهان قرمز انتریک، ویبریوز و فورونکولوز به کار برده شده است گفته می شود ماهیان واقع شده در معرض پادگن های IHN در برابر ویروس زنده معمولی IHN حفاظتی نظیر آنچه که از تزریق پادگن به دست می آید نشان داده اند. ماهی آزاد کوهو ایمن شده در برابر ویبریوز هنگامیکه در معرض

و بیرویوانگوییلازم قرار گرفت نسبت به ماهی آزاد غیر ایمن شده شاهد ۴/۳ مرتبه تلفات کمتر داشته است. در ماهیان ایمن شده با پادگن های آئروموناس سالمونیسیدا به طریقه نفوذ توأم با خلاء پادگنهای مایعی مشابه قابل اندازه گیری تولید نشده و در معرض برخورد قرارنگرفته اند و این امر باعث بروز شک و تردید در موثر بودن این روش ایمنی برای کنترل فورونکولوز شده است

معایب این روش: برای اجرای این روش با ملزومات گرانقیمت نیاز است. برای ایمن کردن دسته جمعی ماهیان در شرایط موسسات بزرگ پرورش ماهی به اطاق خلاء بزرگ و پمپ خلاء با ظرفیت بالا جهت اجرای صحیح این روش احتیاج خواهد بود.

جای تعجب است که غالب ماهیان تغییرات زیاد فشار را مثلاً کاهش فشار جوی محیطی تا فشارهای پایین برابر ۱۰ تا ۱۵ میلی متر جیوه و اعمال شده در ۲ نوبت در مدت ۲ تا ۳ دقیقه را تحمل می کنند. با وجود این پادگن های به حالت تعلیق درآمده در محلول های نمکی ممکن است برای بسیاری از گونه های ماهیان حساس نسبت به آب نمک کشنده باشند حتی اگر استرس تغییر فشار در کار نباشد. از آزمایش های انجام شده بر روی ماهیان حساس نمکی ماهی قنات سرچربی (Fat hedminnow)، کپور معمولی (Carp)، گویی (Guppy) و دم شمشیری (Swordtail) چنین برمی آید که ماهیان عمل خلاء را می توانند تحمل کنند. احتمالاً تغییر سریع فشار جوی به تنهایی برای نفوذ دادن باکترین ها و واکسن ها به ماهیان حساس نمکی مفید می باشد

ز) واکسیناسیون به روش اتوماتیک:

واکسیناسیون به طریق اتوماتیکی کمتر استفاده شده است اما در مکانیزه کردن روش های غوطه وری (Immersion) بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند. اگر چه همیشه با کفایت و قابل قبول نمی باشند. دستگاه اتوماتیک اولین بار بوسیله گولد (Gould) و همکاران اختراع گردید. در واحدهای کارگاه های بزرگ در آمریکا استعمال اسپری بطور گسترده ای مورد استفاده قرار می گرفت. ماهیان روی یک تسمه

نقاله کشیده شده و از زیر یک اسپری عبور می کنند و حداقل ۵ ثانیه در معرض واکسن رقیق شده بطور حتم قرار می گیرند. واکسن در یک مخزن که زیر تسمه است جمع شده تا از نظر اقتصادی صرفه جویی شود. مصونیت بدست آمده در این روش قابل مقایسه با روش غوطه وری مستقیم (Direct Immersion) تشخیص داده شده است.

یک روش دوم اتوماتیکی فرآیندهای غوطه ور کردن در خود می باشد که یک واحد وزنی سبک درون یک مخزن نگاهداری یا در کناره مسیری که ماهیان به سمت تسمه لاستیکی بلند می شوند بصورت شناور قرار می گیرد. واکسن تمام آنها را شستشو داده و پس از آن به یک مخزن جداکننده و یا سطح های جدا کننده می رود. هر دو روش می توانند با رعایت چگونگی قرار گرفتن آنها به خوبی ترکیب شوند

تدابیر زمانهای بهتر جهت واکسینه کردن، و نیز تقویت دادن ماهیان برای پرورش دهنده ماهی اهمیت دارد. چون ماهی قزل آلاهی رنگین کمان پرورشی در پس از یکسال در معرض فروش قرار می گیرد. استفاده از برنامه های استاندارد جهت بررسی کافی می باشد (در واکسنهای ویرویی و ERM). در گونه های دیگر مثل آزاد ماهی اقیانوس اطلس، دوره پرورش برای چندین سال طول می کشد و با این حال اطلاعات کمتری در طی مدت مصونیت بیش از یک سال وجود دارد. هر چند که در بسیاری از بیماریها، تماس مداوم با پاتوژن در محیط تقویت طبیعی ایمنی را سبب می شود و اگر چه در تمام مدت دلیل قاطعی وجود ندارد که ثابت کند اینها واقعاً در ماهیان رخ می دهد. در واکسنهای با تدابیر لازم ویژه پرورش مطابقت داشته باشد و در هر کارگاه اختصاصی استعمال داشته باشد، اما دو فاکتور که با گذشت زمان تغییر می یابند و بسیار اساسی و پراهمیت هستند عبارتند از:

۱- اندازه وزن ماهیان

۲- درجه حرارت آب

الف- اندازه وزن ماهیان:

گاهی اوقات پاسخ ایمنی ماهیان در ابتدای بلوغ بعد از تفریح (hatching) کامل می شود. هر چند که در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان نشان داده شده است که پاسخ ایمنی در همان وزن کم ۱۳٪ گرم کامل می شود، اما میزان مصونیت بدست آمده پایین تر می باشد.

اندازه وزن ماهیان (نه سن ماهیان) فاکتور قابل توجهی می باشد. بیشترین کارها در این مورد توسط جانسون (Johnson) و همکاران انجام گرفته است. او با استفاده از ۶ گونه آزاد ماهی مختلف نشان داد که یک سطح بالای ایمنی تنها در ماهیان با وزن بیشتر از یک گرم بدست می آید. هر چند که مصونیت حاصله در این وزن پس از تقریباً ۳ ماه ظاهر می شود، اما واکسن زدن ماهیان در وزن ۴ گرم ایمنی را در یک سطح بالاتر برای حداقل یکسال نگه می دارد. (به فصل دوم مراجعه گردد).

این فاکتورها با سادگی جهت تجربه می توانند در سطح کارگاه یا مزرعه پرورشی منتقل گردند. واکسیناسیون بصورت غوطه وری در وزن های کم تأثیر دارد. واکسینه کردن ماهیان جوان (young fish) به ۳ دلیل به پرورش دهنده ماهی توصیه می گردد:

الف- محافظت نمودن بچه ماهیها از بیماریهای موثر.

ب- توانایی واکسینه نمودن تعداد زیادی از ماهیان به ازای لیتر-واکسن.

ج- از نظر منطقی واکسینه نمودن اکثریت ماهیان کوچک آسانتر است.

اگر مصونیت بیشتر از یک رشد و نمو فصلی لازم باشد چون این احتمال وجود دارد که آزاد ماهیان با وزن کمتر از ۲/۵ گرم ممکن است مصونیت را بسرعت از دست بدهند پس این نکته باید مورد توجه قرار گیرد. بعضی در این مورد ماهی باید در وزنی بالاتر از ۲/۵ گرم واکسینه شود. همچنین لازم است که متوسط وزن انفرادی ماهیان در هنگام مراقبت جهت عمل بالاتر از میزان حداقل باشد. در انگشت قدهای قزل آلا وزن انفرادی کمتر از ۳/۵ گرم نباشد.

با اینکه این توصیه هاییک تدبیر لازم جهت واکسینه ماهیان کوچکتر را توضیح می دهند. اما گاهی اوقات در جائیکه محل پرورش شدیداً آلوده باشد اقدام به واکسیناسیون علیه بیماری ERM در ماهی قزل آلا می کنند. این ماهیان در محل هجری و در وزن ۱/۵-۱ گرم و نه بیشتر در ۸ هفته قبل از انتقال واکسینه می شوند. میزان ایمنی اکتسابی، گاهی اوقات با درمان آنتی بیوتیکی در هنگام انتقال تداخل می کند، این مسئله مکرراً اتفاق افتاده هر چند که کم است، ولی ماهیانی که در هنگام شیوع همگانی واکسینه نشده اند معمولاً در واکسن زدن مجدد ایمن نمی شوند.

آزاد ماهی اقیانوس اطلس، اگر چه نسبت به بیماری ERM مستعد می باشد. اما غالباً تنها در برابر بیماری ویبریوز در هنگام نظریه اینکه حداکثر خطر مرگهای ناشی از وقوع بیماری ویبریوز در هنگام انتقال به آب دریا (مهاجرت) اتفاق می افتد واکسیناسیون در زمان ۶-۴ هفته قبل از این زمان صورت می گیرد. در این زمان ماهی در بین وزن ۴۰-۲۵ گرم متغیر خواهد بود. در تعیین مخارج پرداخت شده نسبت به ارزش انفرادی هر ماهی، واکسیناسیون غوطه وری هنوز اقتصادی بنظر می رسد، حتی اگر تنها ۴۵ کیلو گرم ماهی به ازای هر لیتر واکسن مورد عمل قرار گیرد.

ماهیان دریائی از قبیل ماهی پهن (Turbot)، ماهی خاردار دریائی (Sea bass) و ماهی سیم دریائی (Sea bream) مشکلات متفاوتی را ایجاد می کنند همچنین در ماهی قزل آلا، در زمان انجام واکسیناسیون در هنگام انتقال از هجری صورت می گیرد. در کارگاههای پرورشی، مخصوصاً ماهی قزل آلا غالباً در تام دوره زندگی در معرض بیماری ویبریوز قرار دارند. اندازه حداقل وزن مورد نیاز و نیز اندازه های مطلوب جهت واکسیناسیون و پایدار نمودن ایمنی هم اکنون فضاهائی از دانش تکمیل نشده در گونه های دیگر آزاد ماهیان می باشد

ب- درجه حرارت :

جنبه های زیادی از فیزیولوژی ماهیان، به انضمام میزانی از ایمنی اکتسابی تحت تأثیر درجه حرارت قرار می گیرد. بطور کلی ایمنی حفاظتی وقتی که درجه حرارت برای هرگونه اختصاصی پایین تر از حد مطلوب قرار گیرد، آهسته تر توسعه می یابد. از این رو بسیاری تواناییهای بالقوه واکسن بیماریها در دماهای بالا قابل توجه می شوند و مشخصاً این مسئله در پایدار نمودن توسعه ایمنی مفید می باشد

تکثیر و ازدیاد نسل عامل بیماریزا همچنین به درجه حرارت ارتباط دارد در نتیجه ماهیانی که در درجات حرارت پایین (کمتر از ۷)، زندگی می کنند نیاز کمی به پاسخ ایمنی دارند زیرا ازدیاد نسل عامل بیماریزا در غالب موارد خیلی پایین بوده، به نحوی که نمی تواند برای میزبان مضر باشد تولید سم بوسیله عوامل بیماریزا حتی به نقطه ای کاهش پیدا می کند که دیگر قادر به آسیب رساندن نخواهد بود. بنابراین یک تکامل منطقی واکنش ایمنی در این ماهیان صورت گرفته است زیرا آنهائیکه در آبهای سرد (کمتر از ۷) زندگی می کنند ایمونوگلوبولین ها را تولید نمی کنند. تحقیقات انجام شده با مار ماهیان برای مثال نشان می دهد که پادتنهای آگلوتینین کننده در درجات ۱۶ تا ۱۹ °C ایجاد می شوند که در ۷ تا ۱۱ غیر ممکن می باشد تولید پادتنهای آمگلو تینین کننده بر علیه اسپرم خارتن (urchin) دریائی در ماهی کپور در ۲۸ °C، چهار روز زودتر نسبت به ۱۵ °C نشان داده شده است.

زمان پاسخ ایمنی برای تولید پادتن با درجه حرارت محیط مرتبط می باشد. بسیاری از تحقیقات انجام شده بر روی پاسخهای ایمنی در ماهیان بر روی ماهیان سردآبی انجام گرفته است. پاسخ ایمنی در این جانوران نسبتاً کند می باشد. برای مثال قزل آلائی رنگین کمان در ۱۵/۵ °C تیتراهای آگلوتیناسیون جزئی (۱/۴ یا کمتر) ۲۸ روز پس از تزریق تعلیق مایه (واکسن کمکی) پادگنهای آئروموناتس هیدروفیلا ایجاد کرده است. به نظر می

رسد زمان پاسخ ایمنی در ماهیان گرم آبی نگهداری شده در طیف های بالای درجه حرارت قابل قبول برای این ماهیان سریعتر می باشد

پادتن های مایعی یا هومورال حداقل پس از یک هفته از تزریق پادگن های باکتریائی نشان داده شده است سرعت پاسخ ایمنی در ماهیان گرم آبی در درجات زیر ۱۳ تا ۱۵ کاهش یافته یا کاملاً قطع می شود

آمند (Amena) و جانسون (Johnson) نشان دادند که آزاد ماهی ساک آی (sock eye salmon) یا اونکورنکوس نرکا (oncorhynchus herlka) واکسینه شده با باکترین و بیبریو (vibrio bactrin) تنها در دمای 4°C ، بعد از حدود ۴۰ روز ایمنی آن توسعه می یابد. هورن (Horne) و همکاران همچنین نشان دادند ایمنی در مقابل بیماری و بیریوز در ماهی قزل آلابی واکسینه شده در دماهای $4-6^{\circ}\text{C}$ توسعه می یابد و در همین ماهی ایمنی بمدت حداقل ۳۳۰ روز پایدار مانده مشخص شده است که برای ایجاد یک میزان ایمنی قابل توجه و بالا نیاز به زمان بسیار طولانی تری وجود دارد. در اینجا آشکار می شود که در آزاد ماهیانی که در دماهای پایین قرار دارند ایمنی بدست نمی آید و پاسخ ایمنی فقط بطور بسیار کمی بالا می رود. هر چند بسیاری از کارخانه ها اشاره دارند که معمولاً در دماهای پایین تر از $5-6^{\circ}\text{C}$ واکسیناسیون توصیه نمی شود، ولی جائیکه اختیار عمل وجود داشته باشد در همان درجه حرارت بالای ممکنه برای گونه های ماهیان واکسیناسیون باید مورد استفاده قرار گیرد.

در نتیجه هنگام واکسیناسیون باید به درجه حرارت محیط زندگی ماهیان توجه شود. هم گونه ماهی و هم درجه حرارت محیطی مطلوب در سرعت پاسخ ایمنی تأثیر دارد.

۳- تدابیر اقتصادی در واکسیناسیون ماهیان :

چه پرورش دهنده ماهی بخواهد از یک واکسن تجارتي استفاده بکند و چه نخواهد اساساً یک تصمیم اقتصادی و یک بررسی سود و زیان در این میان مطرح می باشد. فاکتورهای مرتبط با این قبیل

آنالیزهای سود و زیان از کارگاهی به کارگاه دیگر تفاوت می کند و در اینجا تنها یک چشم انداز وسیعی می تواند در این مورد داده شود.

هیچ واکسنی چه برای انسان و چه برای حیوان صد در صد نمی باشد بعضی موارد انفرادی از جمعیت واکسنها بطور موثری برای دوره های طولانی مصونیت زانمی باشند و تعداد کمی بیماری نیز وجود دارد که هنوز واکسنی برای آنها وجود ندارد و کنترل آنها از طریق دیگر مثلاً از طریق آنتی بیوتیک تراپی صورت می گیرد. اگر چه ارزش اثر یک واکسن تنها کاهش دادن زیانهای اقتصادی ناشی از مرگ و میر نمی باشد، اما باید همچنین بتواند کاهش میزان رشد و نمو ناشی از عفونت را کم کند و نیاز به دارو درمانی شیمیایی را نیز تنزل دهد، بنابراین، بررسی سود و زیان به توقعات ما از یک واکسن توانا بستگی دارد. پرورش دهنده ماهی می تواند با استفاده کردن از یافته های زیر در ارزیابی خویش هنگام واکسیناسیون کمک بگیرد. بیشتر اطلاعات قابل دسترس امروزی به کمک استفاده از واکسنهای بیماری ERM در کارگاههای پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان بدست آمده است. جزئیات بررسی و تجربه اقتصادی این داده ها توسط هورن (Horn) و رابرتسون (Robertson) از کار بر روی بیماری ERM بدست آمده است.

بر اساس محاسبات فرض شده است که ارزش واکسنهای بیماری ERM و ویبریوز در حدود ۱۰۰ لیتر می باشد (£ 100 lit). ارزش در ماهیان به روش تحویل ماهی و اندازه ماهی بستگی دارد (جدول شماره ۷). مقدار یا دوز واکسن قابل تزریق ۰/۱ میلی لیتر به ازای هر ماهی بدون در نظر گرفتن اندازه وزن ماهی می باشد (1 per/ fish). در صورتیکه مقدار یا دوز واکسن در روش غوطه وری (immersion vaccine) یک لیتر به ازای ۱۰۰ کیلو گرم وزن ماهی محاسبه شده است (1 litre/ 100 kg fish) یعنی ۰/۱ میلی لیتر برای هر ۱۰ گرم ماهی یا یک میلی لیتر برای هر ۱۰۰ گرم ماهی از این رو متوسط ارزش اثر در هنگام واکسینه کردن ماهیان در روش غوطه وری بیشتر زیر وزن ۱۰ گرم می باشد، در صورتیکه برای ماهیان بسیار

بزرگتر از ۱۰ گرم روش تزریق بیشتر کاربرد دارد و اثر آن بیشتر است، با اینکه در عمل تزریق ماهیان زیر

وزن ۲۰ گرم انجام نمی گیرد

جدول شماره ۷: ارزش و مقادیر لازم برای واکسیناسیون بطریق غوطه وری علیه بیماری ERM برای ماهیان با اندازه های مختلف:

واکسن		اندازه ماهی	
پوند / تعداد	گرم	ماهی / ۱۰۰ حجم (لیتر)	£ / 100 lit * (پوند)
۱۳۰	۳/۵	۰/۰۳۵	۳/۵
۱۰۰	۴/۵	۰/۰۴۵	۲/۵
۹۰	۵/۰	٪ ۵۰	۵/۰
۶۰	۷/۵	۰/۰۷۵	۷/۵
۴۰	۱۱/۰	۰/۰۴	۱۱/۰
۳۰	۱۵/۰	۰/۱۵۰	۱۵
۲۰	۲۲/۰	۰/۲۲۰	۲۲
۷/۵	۶۰	۰/۶۰۰	۶۰
۴/۵	۱۰۰	۱/۰۰۰	۱۰۰
۱/۸	۲۵۰	۲/۵۰۰	۲۵۰
۱/۰	۴۵۰	۴/۵۰۰	۴۵۰

* واکسن در 100/ litre £ ارزش دارد.

یازده طریق واکسینه نمودن :

- به طریق غوطه وری هر ۱۰۰ kg ماهی
- به طریق تزریق داخل عضلانی هر ۱۰۰۰۰ ماهی

در یک محاسبه اقتصادی پس از واکسیناسیون به روش غوطه وری (Immersion) در ماهی قزل آلابی رنگین کمان با وزن ۴/۵ گرم و در برابر بیماری ERM هورن (Horne) و ربرت سون (Robertson) براساس داده های قابل دسترس در سطح مزرعه (field) نشان دادند که اگر واکسینه کردن در یک درصد (۱٪) بیشتر ماهیانی که به وزن فروش رسیده اند نتیجه بدهد، بها و قیمت واکسن ضمن آن بدست خواهد آمد (در این بررسی ماهیان در متوسط وزن انفرادی ۲۵۰ گرم پرورش می یافتند).

بعلاوه افزایش بقا ماهیان واکسینه شده تنها فایده اقتصادی از واکسیناسیون نیست، بلکه داده های حاصل از واکسینه کردن ماهی قزل آلابی رنگین کمان در سطح فیلدشان می دهد که در قیمت های جیره های درمانی ممکن است صرفه جویی بالای ۷۰٪ باشد و همچنین در ضریب تبدیل غذایی نیز افزایش حاصل می گردد

واکسن های موجود و رایج در واکسیناسیون ماهیان

با توجه به آنچه که در فصل های قبلی گفته شد، این را می دانیم که ماهی می تواند یک پاسخ ایمنی در مقابل برخی از اجرام بیماریزا یا پاتوژنها نشان دهد و پاسخ سلولهای آماسی ماهی به عفونتهای معمول توسط پاتوژنها باکتریائی، انگلی و قارچی مخصوصاً در رابطه با هیستوپاتولوژی باکتریایی، انگلی و قارچی، مخصوصاً در رابطه با هیستوپاتولوژی آنها بخوبی مطالعه گردیده اند.

بعنوان مثال پادتنهای خنثی کننده در ماهی قزل آلالی رنگین کمان که به طور طبیعی توسط ویروس نکروز عفونی پانکراس (IPN) آلوده شده است رسوب دهنده های آنتی ژن های قارچی در ۹۳٪ از آزاد ماهیان آزمایش شده یافت گردیده است ولی فقط ۶۶٪ این ماهیها توسط قارچ آلوده شده بودند که این موضوع نشان می دهد که به طور طبیعی درجات مختلفی از مصونیت در مقابل این عفونت بدست می آید. همچنین این را می دانیم که عفونتهای پایین تر از حد کشنده در کپور ماهی پاتوژن انگل ایکتیوفتریوس مولتی فلیس (Ichthyophthius multifiliis) که عامل بیماری لکه سفید می باشد، مقاومت ماهی در عفونتهای بعدی را ممکن برمی سازد. این گونه مشاهدات این موضوع را بیشتر ثابت می کند که ماهی قادر به ایجاد یک پاسخ ایمنی حفاظتی در مقابل پاتوژنهای طبیعی می باشد و بنابراین واکسیناسیون بطریق مصنوعی یک موضوع قابل اجرا می باشد.

با توجه به اینکه مشکل چگونگی تجویز واکسن در تعداد زیادی از آبزیان برای اولین بار در اواسط ۱۹۷۰ در ایالات متحده با توسعه و رشد روش های حمام دادن (bath) و غوطه وری سریع (dip) برای دو واکسن باکتریائی (ویبریوز و دهان قرمز انتروباکتریائی) حل گردید. اما تا سال ۱۹۸۳ طول کشید تا اولین دو واکسن انگلیسی ماهی، برای این دو بیماری، جهت استفاده در صنایع تولید آزاد ماهی و قزل آلا، مجوز تولید گرفت. در حال حاضر چهار واکسن باکتریائی و یک واکسن ویروسی به شکل تجارتي در دسترس می باشند ولی همچنین تعداد دیگری واکسن تحت بررسی و آزمایش در سطح آزمایشگاهی وجود دارند

۱- واکسنهای رایج و مورد استفاده در ماهیان:

واکسن های باکتریائی که به شکل تجاری در دسترس قرار دارند در حال حاضر توسط کمپانیهای متعددی ساخته می شوند. و اغلب در آزاد ماهیان یا سالمونیده ها مورد استفاده قرار دارند اگر چه یک واکسن دانمارکی بر علیه بیماری ویبریوز در ماهی کاد (روغن ماهی) نیز ساخته شده است.

واکسنهای باکتریائی در دسترس عبارتند از:

۱- واکسن بر علیه بیماری ویبریوز (با عامل ویبریوانگویلاروم (vibrioanguillarum)

۲- واکسن بر علیه بیماری فرونکلوز (با عامل آئروموناس سالمونیسیدا)

۳- واکسن بر علیه بیماری دهان قرمز انتروباکتریایی یا ERM (با عامل یرسینیاروکری)

۴- واکسن بر علیه بیماری هیترا (Hitra) یا بیماری ویروسوز آبهای سرد (با عامل

ویروس سالمونیسیدا) .

واکسنهای عمدتاً بشکل فرمالینه شده کل کشت سلولی براث (cell broth cultures) می باشند، اگر

چه واکسن بیماری دهان قرمز انتروباکتریائی لیز شده توسط pH (pH lysed) می باشد. این واکسنها، اغلب شامل یک یا چندین سویه یا سروتیپ از باکتریها می باشند. که این موضوع بویژه برای اهداف ناحیه جغرافیایی خاص مهم می باشد.

کمپانیهای متعددی نیز ترکیبات مختلفی از واکسنها را عرضه کرده اند تمام این کمپانیها محصولات مشابهی از نظر تأثیر را عرضه کرده اند. به گونه ای که واکسنها اغلب توسط کمپانیهای محلی و تحت نظر آزمایشگاههای تحقیقاتی آکادمیک یا دولتی، در پاسخ به نیازهای محلی، ساخته می شوند

جدول شماره ۸، کمپانیهای مشغول ساخت واکسنهای ماهی را نشان می دهد، تمام این کمپانیها به

استثنای کمپانی پیتمن مور (pitman Moore)، مختصراً بر روی ساخت واکسن برای صنعت پرورش آبزیان

متمرکز شده اند.

جدول شماره (۸) : واکسنهای ماهی قابل دسترس از نظر تجاری :

نام کمپانی	محل کمپانی	نوع واکسن
Biomed Research laboratories	واشینگتن - آمریکا	بیوواکس (ویبریو آنگویلا روم)
Aquacltare Vaccines Ltd, saffern walden	اسکسی (Essex) بریتانیای کبیر (UK)	ERM ویبریو ERM ₃ (هاجرمن و دو سویه نروژی)
Aqua Health Ltd	کارلوتون - کانادا	ویبروژن (ویبریو آنگویلا روم و ویبریو وردالی) فوروژن (آثروموناس سالمونیسیدا) فوروژن (آثروموناس سالمونیسیدا - غوطه وری) آرموژن (یرسینیا روکری، سروتیپ ۱)
پیتمن مور	بریتانیای کبیر	فیکسی واکس V (ویبریو آنگویلا روم، ویبریو دردالی) (یرسینیا روکری، سروتیپ ۱)
Rhon- Merieux	لیون - فرانسه	ویبریتا (ویبریوزیس) یرسی واکس
Leo labororium	اسلو - نروژ	ویبریو واکس (ویبریو آنگویلا روم) ارم واکس (یرسینیا روکری - سروتیپ ۲ و ۳)
Apokothrnes Laboratorium	اسلو - نروژ	هیترا (ویبریو سالمونیسیدا) هیترا / ویبریو
نورودواسک	استکهلم - سوئد	نورد ویبریو vet (ویبریو آنگویلا روم سروتیپ ۱ و ۲)
	توکیو - ژاپن	ویبریو واکسین (سروتیپ)
بیوتو	چکسلواکی	SVC (واکسن ویروسی برای کپور)

تنها واکسن در دسترس علیه یک بیماری ویروسی ماهی در چکسلواکی ساخته شده است، و بر علیه

ویرمی بهاره کپور می باشد.

اغلب بیماریهای مهم اقتصادی ماهیان پرورشی باعث برانگیخته شدن تلاشهای بسیاری برای کنترل این بیماریها در سطح دنیا شده اند و تحقیقات نشان داده است که کوشش های اولیه در نهایت در سطح وسیعی موثر بوده است.

دو دلیل زیر واقعیت عرضه شدن تعداد کمی از واکسن ها را به شکل تجاری نشان می دهد:

۱- نارساییهای بعد از مصرف واکسن یا تناقص واکسن در سطح کاربردی (تفاوت نتایج آزمایشگاهی

واکسن و نتایج در سطح فیلد).

۲- احتمال عدم بازگشت سرمایه اولیه (عدم سوددهی).

الف- واکسن ویریوز

از بیماریهای مسئله ساز موجود که موجب بوجود آمدن شکل تجاری واکسن آن گردید. بیماری ویریوز بود. که در سال ۱۹۷۰ بسیار مهم و مورد توجه قرار گرفت. ویرویوزیک بیماری باکتریائی ماهیان آب شور و مهاجر می باشد. و هر دو دسته ماهیان پرورشی و آزاد را مبتلا می نماید

این بیماری می تواند در موارد مختلف، موجب ۴۰ درصد مرگ و میر در بین جمعیت های ماهیان پرورشی گردد، این بیماری دارای گونه های قابل ابتلا، گسترده ای در بین ماهیان پرورشی می باشد و می تواند گونه های آزاد ماهی اقیانوس آرام، آزاد ماهی اطلس یا اصیل، قزل آلاهی رنگین کمان، مارماهی (eel)، دم زرد، ماهی سیم دریای سرخ، ماهی خاردار دریائی را مبتلا نماید. ویرویوز همچنین می تواند در قزل آلاهی رنگین سردآبی پرورشی مسئله ساز باشد و نیز می تواند سخت پوستان پرورشی از جمله میگوها را مبتلا سازد

زیانهای ناشی از این بیماری تنها در ژاپن بالغ بر مبلغ یازده میلیون ین در تولید بوده است. با اینگونه طیف درگیری متعدد و گسترده نکته جالب توجه این است که اولین واکسن ماهی که تحقیقات گسترده ای بر روی تجاری شدن آن انجام گردید واکسن ویرویوز بود. بابا مخیر در کتاب بیماریهای ماهیان پرورشی در مورد

این بیماری می نویسد: " ویبریوز بیماری عفونی که می تواند تلفات زیادی را در مار ماهیان مهاجر قابل صید موجب شود. این بیماری فقط در آبهای دریایی که دارای بیش از ۰.۲۵٪ نمک دریائی باشند در فصول گرم تظاهر می کند و محل شیوع و ظهور آن از سالی به سال دیگر ممکن است تغییر یابد. این بیماری در آبهای شیرین در مواردی که ماهیان پرورشی از ضایعات و مازاد ماهیان دریائی تغذیه می شوند شیوع پیدا می کند. این بیماری اولین بار تحت عنوان طاعون قرمز در مار ماهیان بررسی شد ولی در حال حاضر در بسیاری از ماهیان عالی دیده می شود "

گونه ای از ویبریوز که غالباً علت معمول این بیماری در ماهیان می باشد ویبرسوانگویلازم می باشد. این گونه بخشی از میکروفلور طبیعی محیط آبی است و فقط تحت شرایط خاصی بیماری ایجاد می کند یعنی وقتی که ماهی بوسیله دمای بالای آب، تغییرات سریع دما یا شوری آب، تراکم زیاد یا کیفیت پایین آب، تحت استرس واقع شود ویبریوانگوتیلاروم از اجزاء عمده میکروفلور گوارشی ماهیان سالم پرورشی یا با زندگی آزاد بشمار می آید. Hastein در سال ۱۹۷۵ عامل بیماری ویبریوز را زایمهرگان دریائی و کف زیان جدا نمود. این میکروب گرم منفی بوده، منحنی و خمیده، به ابعاد ۲-۱*۰/۵ میکرون و یا تنها تاژک خود متحرک می باشد. این میکروب بر روی غالب محیطهائی که دارای نمک طعام (NaCl) به مقدار ۱-۱/۵ درصد باشند بخوبی رشد می کند. این میکروب در برابر ۰/۱۲۹ ویبریوستات (یک ترکیب پتریدین) و آنتی بیوتیکهای نوویوسین حساس می باشد

دوره کمون بیماری بر حسب درجه حرارت، حدت سویه ها و درجه استرس محیطی که ماهیان در آن به سر می برند تغییر می کند.

حدود آستانه درجات حرارت مساعد برای ظهور بیماری متغیر است برای آزاد ماهیان پهن (توربورت)

۱۰-۱۱ °C می باشد در حالی که برای کفشک ماهیان یا pleuronectidae (یکی از تیزه های ماهیان پهن) و

مارماهیان مهاجر درجات حرارت بالای $16-15^{\circ}\text{C}$ ، درجات مطلوب به شمار می آید. تلفات ناشی از شیوع بیماری ویبریوز در ماهیان پرورشی ممکن است با بیش از ۵۰ درصد بویژه در ماهیان جوان برسد.

به غیر از ویبریوآنکویلاروم، ویبریوآوردالی (V. Ordalli) که قبلاً بیوتیپ II ویبریوآنکویلاروم نامیده می شد نیز در ژاپن و ایالات متحده مسئله ساز است

واکسن های رایج تجاری ویبریو شامل مخلوطی از ویبریوانکویلاروم و ویبریوآوردالی می باشند، پادگن های حفاظت کننده به شکل لیپوپلی ساکاریدهای مقاوم به حرارت، در دیواره سلولی تشخیص داده شده اند بطوری که همچنین می توانند بداخل کشت شناور (Supernatant) آزاد گردند. این پادگن ها مولکولهای بزرگی (۱۰۰ کیلودالتون) هستند و می توانند روش های مختلف استخراج را تحمل کنند. دیگر آنتی ژنهای پروتئینی کوچک در غشاء خارجی دارای وزن مولکولی بین ۴۹ تا ۵۱ کیلودالتون هستند، علاوه بر این آنتی ژن قوی با وزن مولکولی ۴۰ کیلودالتون از جنس پروتئین را نیز دارا می باشند

این آنتی ژنها مقاوم به گرما می باشند و از این رو واکسن های غیر فعال شده با فرمالین که معمولاً مصرف می شوند بهتر از آنهایی هستند که توسط حرارت غیرفعال شده اند.

تکنیک های ساده بسیار موثر عمل کرده اند و تکنیک های پیشرفته ای مثل مهندسی ژنتیک که انتظار فواید بیشتری از آنهایی می رود عمل موثری در بر نداشته اند.

مکانیسم حفاظتی که توسط واکسیناسیون ویبریو ایجاد می شود. به گونه ای که برای بسیاری از واکسن ها صدق می کند. بطور کامل روشن نیست. ولی یک نقش حفاظتی پادتن توسط آزمایشهای ایمن سازی غیر فعال به طور واضحی نشان داده شده است به هر حال، ارتباط بین حضور پادتن اختصاصی و حفاظت روشن نیست، روش های واکسیناسیون خوراکی یا غوطه وری برای القاء حفاظت موثر هستند.

بررسی های مختلف نشان می دهد که واکسن های ویبریو در سطح مزرعه همیشه مؤثر بوده و براحتی

ساخته و مصرف می شوند و آینده نوید بخش به نظر می رسد

ب- واکسن بیماری دهان قرمز انتروباکتریائی:

بیماری دهان قرمز انتروباکتریائی اولین بار در قزل آلالی رنگین کمان در ایالت ایداهو آمریکا به وسیله Rucker بررسی و عامل آن جدا شده است (Bullock و همکاران، ۱۹۷۱).

نام باکتری دهان قرمز به طور موقت برای عامل این بیماری به وسیله Ross و همکاران در سال ۱۹۶۶ پیشنهاد شده در سال ۱۹۷۸ به عامل این بیماری نامن یرسینیا روکری (*Yersinia ruckeri*) اطلاق گردید. محل استقرار این میکروب ناشناخته می باشد. این میکروب به صورت باسیلهائی به ابعاد ۳-۲*۱-۰/۷ میکرون بوده و به وسیله تازکهای اطراف (peritrichous) متحرک می باشد. میکروبی گرم منفی است که روی محیطهای معمولی بخوبی رشد می کند، درجه حرارت مساعد برای رشد آن 22°C است. به نظر می رسد انتقال بیماری از طریق جریان آب صورت می گیرد. بیماری علاوه بر آمریکا و کانادا در نروژ نیز وجود دارد. در حال حاضر در اغلب نواحی اروپای غربی، استرالیا، و افریقای جنوبی پراکنده است. این بیماری همچنین می تواند دیگر گونه های مورد توجه تجاری از جمله آزاد ماهی اقیانوس اطلس آب شور پرورشی را مبتلا سازد

بیماری از طریق آب با همگیری های کلینیکی که در دماهای بالای 10°C در زمان بالا بودن میزان آلودگی رخ می دهد. اگر چه دوز یا میزان های پایین عفونت زا می تواند سبب ایجاد ماهیان حاصل شود که می تواند در شرایط نگهداری به موجب ایجاد بیماری گردد.

سویه های یرسینیا روکری به طور معمول بر مبنای واکنش آنها با آنتی سرم خرگوش به ۵ سروتیپ تقسیم بندی می شوند. این تیپ ها عبارتند از تیپ I (سویه هاگرمن اصلی یا Orriginal Hagerman) که معمولی ترین و حادترین سروتیپ است تیپ II (اولیری O'leary) که نسبتاً حاد است، تیپ III (استرالیا) که غیر حاد است، تیپ IV (با حدت ناشناخته) و تیپ V (با حدت بسیار کم)

شکل لیپوپلی ساکاریدی سروتیپ های مختلف مشابهت هایی را بین سروتیپ های I و III و V و بین

سروتیپ های I و II نشان می دهد

در سیستم های متراکم این بیماری غالباً ماهیان انگشت قد را مبتلا می سازد. روش واکسیناسیون به

طریق حمام دادن (bath) که در سال ۱۹۷۰ اعمال گردید برای کنترل بیماری بسیار خوب و مناسب بود (۱۸).

طرز تهیه واکسن بسیار ساده است. باکتری ها به مدت ۴۸ ساعت در pH برابر ۷/۲ کشت داده می شوند،

به مدت ۱-۲ ساعت در $pH = 9/8$ باکتری هالیزه می شوند (این مسئله خود به خود رخ می دهد) و غیرفعال سازی

حاصل از تجربه سلولی با فرمالین ۰/۳٪ انجام می شود. واکسن به صورت رقت ۱ به ۱۰ استفاده می شود و ماهی

به مدت ۳۰ ثانیه در آن فرو برده می شود (غوطه ور می گردد) اطلاعات حاصل از آزمایشات مزرعه ای در

استخرهای پرورشی نشان می دهند که واکسن همیشه نقش مثبتی داشته است. بزرگترین آزمایش گزارش شده

که توسط Tebbit و همکاران انجام گرفت و در این آزمایش بیش از ۲۲ میلیون قزل آلاهی رنگین کمان در سه

کارگاه جداگانه به مدت دوره ای بیش از دو سال تحت نظر قرار گرفت مجموع نتایج حاکی از ۸۴٪ کاهش در

مرگ و میر به علت ERM می باشد و به علاوه ماهیان واکسینه شده به میزان ۷۷٪ کمتر به تغذیه درمانی نیاز

داشتند و به میزان ۱۳/۷٪ در تبدیل غذایی افزایش نشان دادند.

اگر چه واکسن های غوطه وری بیماری ERM رایج نشان داده اند که بسیار مؤثر از نظر تجاری

سودمندند، اما هنوز مسائل متعددی در رابطه با استفاده آنها حل نشده باقی مانده است.

واکسن در ابتدا برای ماهی قزل آلاهی رنگین کمان با دوره تولید کوتاه جهت فروش ساخته شد. با

توسعه مصرف واکسن برای آزاد ماهی اقیانوس اطلس مدت ایمنی واکسن (در نهایت ۳۰۰ روز است) شاید برای

حفاظت این ماهی در طی تمام دوره تولیدشان، بدون یک تقویت کننده کافی نباشد، برخلاف واکسن های

ویبریو، آنتی ژن های حفاظتی یرسینیا روکری شناخته شده نیستند، شکل حفاظت ایمنی ایجاد شده، بعنوان ایمنی

هومورال ثابت نشده است

ج) واکنش بیماری فورونکولوز:

بیماری فورونکولوز یا کورک یک بیماری میکروبی کاملاً شناخته شده و تعریف شده آزادماهیان بوده که سایر ماهیان آب های شیرین را نیز مبتلا می سازد. آزادماهیان آبهای شور (دریا) نیز دچار این بیماری می شوند ولی نقش آن در دریاهای بازناشناخته می باشد. این بیماری تقریباً در هر نقطه ای از جهان که آزادماهیان تکثیر و پرورش داده می شوند به جز استرالیا، زلاندنو و تاسمانیا ممکن است دیده شود. بالاترین ضررها را در ماهیان پرورشی بخصوص هنگامی که تحت استرس باشند ایجاد می کند. تلفات و خسارات در آب با درجه حرارت بالای 15°C نسبت به زیر 10°C بیشتر است

همه گیری های متعدد در جمعیت های وحش ماهیان ثبت شده اند. اما اثر بزرگ اقتصادی بیماری بر روی جمعیت های آزاد ماهی اطلس اروپا، امریکای شمالی و ژاپن بوده است. تنها در اسکاتلند، بیماری فورونکولوز زیانی در حدود ۵ میلیون پوند در سال به شکل کاهش تولید به صنایع وارد نمود

عامل این بیماری آئروموناس سالمونیسیدا می باشد که از طریق ماهیان بیمار یا حامل در اثر تماس تخم های آلوده و لوازم بیماری را منتقل می کند. تصور می شود که لوله گوارشی، جراحات خارجی یا حتی آبشش ها راههای نفوذ باکتری و ابتلاء باشند ولی قطعاً ثابت نشده است. میکروب این بیماری می تواند مدت یک هفته در آب شیرین و یک روز در آب شور به زندگی خود ادامه دهد. در آب هایی که با فاضلاب مخلوط می شوند این میکروب تکثیر یافته و می تواند تا مدت یک ماه زنده بماند. هنگامی که تراکم ماهیان به کمتر از ۲/۵ ماهی در هر مترمکعب آب کاهش یابد انتشار بیماری متوقف می شود

سویه های غیرتیبیکال آئروموناس سالمونیسیدا (که به طریق بیوشیمیایی از سویه های تیبیک افتراق داده می شود) نیز گزارش شده است که علت بیماری های قرحه ای یا اوالسراتیو در کپور، ماهی حوض (ماهی طلایی) و مارماهی های پرورشی تجاری می باشد.

مرتبط است. این فاکتورها برای تولید واکسن اهمیت آنها نشان داده شده است. کازئیناز خارج سلولی، یک سرین پروتئاز با وزن مولکولی ۷۰ کیلو دالتون می باشد که در بیماریزایی آن را مهم می دانند و نسبت به اغلب مهارکننده های پروتئاز موجود در سرم طبیعی ماهیان مقاوم است.

اخیراً توکسین کشنده آئروموناس سالمونیسیدا که سابقاً ناشناخته بود توسط الی و الیس (Lee and

Ellis) شرح داده شده و نشان داده شده که مولکولی شبیه لکوسیتولیزین و همولیزین است

فاکتورهای بیشمار خارج سلولی آئروموناس سالمونیسیدا، انتخاب آنتی ژن های حفاظتی را بسیار

پیچیده می کند، و در طی ده سال گذشته واکسن های تجربی هنوز به طور آزمایشی بر مبنای ۵ تیپ بنیادی

(اصلی) بوده اند که شامل :

۱- یاخته کشته شده یا قطعات سلولی

۲- محصولات خارج سلولی (ECP) و توکسوئیدهای ECP

۳- تمام سلول های کشته به علاوه ECP

جدول شماره (۹) : محصولات خارج سلولی آئروموناس سالمونیسیدا

سال انتشار تحقیقات	نام فاکتور
	* فاکتورهای نگهداری شده :
۱۹۸۹	۱- ۷۰ کیلو دالتون نگهداری شده پروتئاز (کازنازسیرین پروتئاز)
۱۹۸۹	۲- گلپتیناز (متالوپروتئاز)
	* سموم حاصل از غشاء سلول آسیب دیده :
۱۹۷۷	۱- لکوسیتولیزین
۱۹۸۲	۲- سیتوتوکسین گلیکوپروتئین
۱۹۸۳	۳- آلیزین (همولیزین)
۱۹۸۵	۴- H لیزین (همولیزین)
۱۹۸۳	۵- انتروتوکسین
۱۹۸۸	۶- G CAT
۱۹۸۲	۷- G CAT/LPS
۱۹۹۰	
	* فاکتورهای دیگر :
۱۹۸۰	۱- لیپوپلی ساکارید
۱۹۸۳	۲- لیپوپلی ساکارید
۱۹۸۳	۳- رنگدانه قهوه ای
۱۹۸۸	۴- استراز
۱۹۹۰	۵- آمیلاز
۱۹۹۰	۶- ریونوکلئاز
۱۹۹۰	۷- آریل - سولفاتاز
۱۹۹۰	۸- α - گلوکوسیداز
۱۹۹۰	۹- α - مائوسیداز
۱۹۹۰	۱۰- آلکالین فسفاتاز
۱۹۹۰	۱۱- فسفولپاز
۱۹۹۰	۱۲- لیزوفسفولپاز

۴- واکسن زنده تخفیف حدت یافته

۵- آنتی ژن های خالص

فقط دو نوع آنتی ژن آئروموناس سالمونیسیدا در فرم های خالص یا نسبتاً خالص آزمایش شده اند:

پروتئاز لیپوپلی ساکارید (LPS) و بخش حاوی گلیکوپروتئین از ECP.

طبق جدول شماره ۱۰ نتایج به نحو گسترده ای متغیر است. مسئله غیرمنتظره فقط این نیست، در مطالعات مختلف، سویه های مختلف از باکتری ها در تحت شرایط مختلف کشت رشد نمودند، و ترکیبات آنتی ژنی واکسن ها به مقدار کمی شناسایی شده است.

واکسن های تجاری قابل دسترس فورونسکولوز اولین بار در اوایل سال ۱۹۸۰ به بازار وارد شد و ترکیب واقعی آنها معلوم نیست.

واکسن ها در ابتدا تنها به شکل تزریقی در دسترس بودند اخیراً واکسن غوطه وری (Immersion) هم مجوز گرفته است. اطلاعات مبنی بر موفقیت در سطح فیلد (مزرعه) مشکل بدست می آید. اگر چه گزارش شده است که یک واکسن در سطح مزرعه (فیلد) ۷۳٪ حفاظت داده است. مکانیسم حفاظت نیز مشخص نیست، و تولید پادتن در نتیجه تزریق واکسن (بیشتر بر علیه لیپوپلی ساکارید LPS) الزاماً ارتباط متقابلی با حفاظت ندارد، اگر چه یک گزارش مبنی بر وجود یک پاسخ ایمنی با واسطه سلولی در قزل آلاهی قهوه ای (Brown Trout) در مقابل آئروموناس سالمونیسیدا موجود است، که ارتباط متقابلی با حفاظت علیه عفونت طبیعی دارد.

یک مشکل بزرگ در طراحی و ساخت یک واکسن مؤثر فورونکولوز وجود ماهیان ناقل می باشد و اینکه آیا واکسیناسیون می تواند از ایجاد این وضعیت ممانعت کند یا آن را افزایش دهد. همچنین این اعتقاد وجود دارد که آئروموناس سالمونیسیدا به طور فعالی سرکوب گر ایمنی می باشد و این تنها به علت وجود وضعیت حامل طولانی مدت بلکه به علت نارسایی غیرمنتظره قدرت اثر واکسن در سطح فیلد و بر مبنای بررسی های آزمایشگاهی نشان می دهند که ماهیان واکسینه شده با واکسن های ECP

نسبت به ماهی های غیرواکسینه یا شاهد فعالانه و سریعتر فورونکولوز را مهار می کنند

اخیراً حضور اپی توپ های سرکوب گر ایمنی در آئروموناس سالمونیسیدا مشخص شده است اگر چه در طی سال های اخیر کم و بیش، پیشرفت های بزرگ جدیدی توسط محققین DAPS بدست آمده است.

جدول شماره (۱۰): آزمایشات تجربی واکسن فورونکولوز:

حفاظت	روش برخورد	گونه ماهی مورد استفاده	ادجوانت	روش تجویز	سویه واکسن
					<u>واکسن های حاوی تعلیق کشته شده</u>
برخورد ضعیف	مزرعه (فیلد)	آزاد ماهی کوهو ^۱	هیدروکسید آلومینیوم	خوراکی	SS- 70 (حاد)
ضعیف تا بیشتر از ۵۰٪	مزرعه (فیلد)	آزاد ماهی کوهو	FCA	داخل صفاقی	SS- 70 (حاد)
ضعیف تا بیشتر از ۵۰٪	مزرعه (فیلد)	آزاد ماهی اقیانوس اطلس		نفوذ با فشار اسمزی بالا	A 47 R (حاد)
بیشتر از ۵۰٪	مزرعه (فیلد)	قزل آلالی قهوه ای ^۲		خوراکی	؟
-	غوطه وری	قزل آلالی بروک ^۳		داخل صفاقی	؟ (حاد)
بیشتر از ۹۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی هوکو		داخل صفاقی	AS – IR (حاد)
		آزاد ماهی چینوک ^۴			
		آزاد ماهی ساک آی			

-
- 1 . Coho Salmon
 - 2 . Brown Trout
 - 3 . Brook Trout
 - 4 . Chinook Salmon

حفاظت	روش برخورد	گونه ماهی مورد استفاده	ادجوانت	روش تجویز	سویه واکسن
-	غوطه وری	آزاد ماهی کوهو		داخل صفاقی	SS- 70 (غیر حاد)
ضعیف؟	فیلد	آزاد ماهی کوهو		داخل صفاقی	AS - IR (حاد)
ضعیف؟	فیلد	آزاد ماهی کوهو		غوطه وری	AS - IR (حاد)
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی هوکو، چینوک		غوطه وری	AS - IR (حاد)
-	غوطه وری	آزاد ماهی هوکو		داخل صفاقی	AS - IR (حاد)
بیشتر از ۵۰٪	داخل صفاقی	آزاد ماهی کوهو	FCA	داخل صفاقی	AS - 76 - 30 (حاد)
کمتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی کوهو	FCA	داخل صفاقی	AS - 76 - 30 (حاد)
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	قزل آلالی بروک ، قزل آلالی رنگین کمان		داخل صفاقی	AS- I (حاد)
-	غوطه وری	آزاد ماهی اقیانوس اطلس		داخل صفاقی	AS- I (حاد)
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی اقیانوس اطلس		نفوذ با فشار اسمزی بالا	AS- I (حاد)
-	غوطه وری	آزاد ماهی بروک ، قزل آلالی رنگین کمان		داخل صفاقی	TG 51 / 79 (حاد)

حفاظت	روش برخورد	گونه ماهی مورد استفاده	ادجوانت	روش تجویز	سویه واکسن
					<u>واکسن های حاوی ECP توکسوئید - ECP</u>
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی بروک	FCA	داخل صفاقی	؟ (حاد)
-	غوطه وری	آزاد ماهی بروک		غوطه وری	3.95 (حاد)
-	فیلد	قزل آلالی رنگین کمان		خوراکی	؟ (حاد)
کمتر از ۵۰٪	داخل صفاقی	آزاد ماهی کوهو		داخل صفاقی	AS - 76 - 30 (حاد)
					<u>واکسن های حاوی تعلیق کشته شده + ECP</u>
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی اقیانوس اطلس + بروک		غوطه وری	3.95 (غیر حاد)
بیشتر از ۵۰٪	فیلد	قزل آلالی قهوه ای		غوطه وری	3.95 (غیر حاد)
کمتر از ۵۰٪	فیلد	قزل آلالی رنگین کمان		خوراکی	؟ (حاد)
					<u>واکسن تخفیف حدت یافته :</u>
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی اقیانوس اطلس + بروک		غوطه وری	3.95 (غیر حاد)
					<u>واکسن گلیکوپروتئین :</u>
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی بروک		داخل صفاقی	Various

حفاظت	روش برخورد	گونه ماهی مورد استفاده	ادجوانت	روش تجویز	سویه واکسن
					<u>واکسن های پروتئاز:</u>
بیشتر از ۵۰٪	داخل صفاق	آزاد ماهی ساک آی		داخل صفاقی	A- 7301 (حاد)
بیشتر از ۹۰٪	داخل عضلانی	آزاد ماهی اقیانوس اطلس		داخل عضلانی	NCMB 1102 (غیر حاد)
					<u>واکسن اندوتوکسین:</u>
بیشتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی بروک		داخل صفاقی	3.101 (حاد)
					<u>واکسن های تجارتنی:</u>
بیشتر از ۹۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی کوهو+ آزاد ماهی اقیانوس اطلس + آزاد ماهی بروک		داخل صفاقی	؟
بیشتر از ۵۰٪	فیلد	قرل آلائی اسپکلد ^۵		داخل صفاقی	؟
-	غوطه وری	آزاد ماهی اقیانوس اطلس		داخل صفاقی	؟
کمتر از ۵۰٪	غوطه وری	آزاد ماهی اقیانوس اطلس		غوطه وری	؟

د- واکسن بیماری هیترا:

واکسن بر علیه بیماری هیترا، با بیماری ویبریوز آب های سرد، با عامل ویبریو سالمونیسیدا، اولین بار در سال ۱۹۸۰ در نروژ مشکل برزگی آفرید، و محرک تحقیقات فشرده ای توسط دانشمندان علوم پرورش آبزیان آنجا گردید، که منجر به ساخت یک واکسن تنها پس از ۳ یا ۴ سال شد

به دلیل جستجوها و ره یافت های دقیق و گسترده علمی بر روی این موضوع و بررسی دقیق بر روی ارگانسیم ایجاد کننده بیماری، که به یافتن یک پادکن خاص گونه ای یعنی مولکول VSPI منجر شد. این مولکول در سطح سلول حضور دارد به گونه ای که به داخل محیط کشت آزاد می شود، می توان آن را به کمک الایزا و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم در خون و بافت های ماهیان مبتلا نشان داد.

آماده سازی و تهیه واکسن فقط شامل تهیه محصولی کشته، توسط فرمالین ۰/۵٪ از کشت سلولی کامل با تراکم 10^9 سلول در میلی لیتر می باشد. واکسن به صورت غوطه وری است که لازم است در دو نوبت داده شود و واکسیناسیون یادآور معمولاً ۶ هفته پس از نوبت اول داده می شود

در یک بررسی در سطح فیلد که توسط هلم و جورگسن (Holmand gorgensen) گزارش شده است و دربرگیرنده ۹۰/۰۰۰ ماهی می باشد، آزاد ماهیان واکسینه شده، واجد یک سطح ایمنی در حدود ۹۵٪ در پی یک برخورد (Challenge) طبیعی ۶ ماه پس از واکسیناسیون بودند. واکسن بطور گسترده ای در نروژ مورد استفاده قرار گرفته و ثابت شده که بسیار سودمند و مفید است در حال حاضر به نروژ محدود است اگر چه یک همه گیری از اسکاتلند گزارش شده است

ه- واکسن بیماری بهاره کپورماهیان:

تنها واکسن تجاری در دسترس موجود بر علیه بیماری ویروسی ماهی، واکسن بیماری SVC یا ویرمی بهاره کپورماهیان می باشد. این بیماری حاد و مسری رابدوویروس کارپیو (Rhabdovirus Carpio) ایجاد می شود، و اولین بار توسط فیجان و همکاران (Fijan, et al) شرح داده شده است

همانگونه که از نام بیماری مشخص است گونه اصلی که مبتلا می گردد ماهی کپور است، و مشخصاً در بهار اما تمامی گروه های سنی مبتلا می شوند و بیماری بطور وسیعی در تمامی کشورهای پرورش دهنده کپور در اروپا گسترده است

فصل و دمای محیط اثرات بسیار قوی بر رابطه بین میزبان و ویروس می گذارد. وضعیت فیزیولوژیک ماهی در طی زمستان بر روی همه گیری بیماری در بهار مؤثر است دمای آب در اوایل بهار حداقل دمای مساعد برای ساخت پادتن ها و سنتز انترفرون می باشد، و این گونه تصور می رود که پادتن هایی که قبلاً در تابستان ساخته شده اند در اواخر زمستان تماماً از بین می روند، بنابراین تا حدی ماهی را در بهار حساس می سازد (۱۸). ابزارهای کنترل این بیماری، غیر از واکسیناسیون بقیه قدرت اثر کمی دارند. ریشه کنی توسط کشتار گله و ضد عفونی ساختمان ها و محیط (استخرها) می تواند در مزارع کوچک و محدود و موفقیت آمیز باشد، اما استخر یا حوضچه های با محوطه خارجی بزرگتر و محدود نشده غالباً به گونه ای غیر قابل اجتناب توسط ماهیان وحشی (غیر پرورشی) آلوده می شوند.

چون کپور ماهی در دماهای آب بهاری به خوبی تغذیه نمی کند داروهای شیمیایی به صورت خوراکی جهت درمان محدودیت مصرف دارند. در استخرهای با حجم زیاد استراتژی واکسیناسیون به دلیل اعمال مدیریتی در این گونه استخرها محدود شده است.

با استثناء گله های بیجه ماهیان نارس و رودخانه ای ، معمولاً وقتی که دمای آب برای واکسیناسیون مناسب است کپور ماهی را از آب خارج نمی کنیم. واکسن تجارتي تهیه شده توسط بیووتا (Bioveta) حاوی دو سویه غیر فعال شده و یک روغن ادجوان می باشد و برای تزریق داخل صفاقی در بهار توصیه می شود. واکسن ایده آل واکسنی است که باید به دو طریق حمام دادن یا خوراکی بدون نیاز به خارج کردن ماهی از استخر قابل استفاده باشد. این ترکیبات به طور تجربی آزمایش شده اند. واکسیناسیون توسط یک واکسن زنده تخفیف حدت یافته در کپور ماهی های جوان هنگامی که به روش حمام دادن یا تزریق داخل صفاقی اعمال شود حفاظت

خوبی را یک ماه پس از واکسیناسیون ایجاد می کند، همچنین یک واکسیناسیون خوراکی با استفاده از یک واکسن زنده که در آخر تابستان داده شود یک حفاظت ایمنی پایدار و طولانی مدت را ایجاد می کند. متأسفانه مصرف واکسن زنده در سطح صنعتی بخصوص اگر یک وضعیت حامل بودن به علت مصرف آنها ایجاد شود، قابل اجرا نیست و بسیاری از کشورها مجوز ساخت این گونه واکسن ها را صادر نمی کنند، واکسنهایی که جهت مصرف خوراکی بی خطر هستند، سوبه های تخفیف حدت یافته فوق ایمنی زا می باشند و واکسن های سنتزی مرکب از آنتی ژن های ویروسی غیر عفونی را جهت روش غوطه وری استفاده می شوند

۲- واکسن های غیر رایج و در مرحله آزمایش :

تحقیقات بر روی واکسن های دیگر بر پایه آزمایش و بررسی های تجربی ادامه دارد و غالباً ثابت شده است که حداقل از نظر تکنیکی کاربرد این واکسن ها امکان پذیر است به هر حال تحقیقات در مقیاس آزمایشات بزرگ در سطح مزارع با استفاده از سری تولیدات واکسن ها ادامه دارد و این تحقیقات از نظر اقتصادی تنها بر مبنای میزان نیز بازار و علاقمندی کمپانی های واکسن سازی انجام می گیرد (۱۸).

از جمله واکسن های تحت بررسی و تجاری نشده می توان واکسن های بیماری هایی از قبیل بیماری باکتریایی کلیه یا BKD (Bacterial Kidney Disease) بیماری ناشی از آئروموناس هیدروفیلا، بیماری ناشی از ادوارسیلا تاردا (Edwardsiella tarda)، بیماری سپتی سمی هموراژیک (Septicemic Hemorrhagique) ویروسی و بسیاری بیماری های دیگر را نام برد

۳- نتیجه گیری و بحث :

با توجه به اینکه حدود ۲۰ درصد از مجموع پروتئینی حیوانی مورد احتیاج بشر را ماهی تأمین می نماید و با توجه به ویژگی های خاص تغذیه ای و پروتئینی گوشت ماهی، توجه به صنعت مراقبت و پرورش این موجود اهمیتی خاص پیدا می کند. آنچه مسلم است. صنایع مختلف تولید کننده پروتئین از قبیل صنعت مرغداری و نیز صنعت دامداری پیشرفت و شکوفایی خویش را مدیون پیشگیری بیماری های تهدید کننده

این صنایع می باشد. در این پیشگیری نقش واکسیناسیون بر همگان واضح و روشن است. واکسیناسیون در این صنایع ضمن بالا بردن تولید، هزینه سرسام آور درمان را نیز به خوبی کاهش می دهد در صنعت پرورش ماهی، همانند صنایع فوق، واکسیناسیون جایگاه بس ویژه ای را در سه مسیر در بر می گیرد.

۱- بال بردن سطح تولید

۲- کاهش هزینه درمان

۳- افزایش ضریب تبدیل غذایی در ماهی

بطور یقین واکسیناسیون در ماهیان همانند موجودات عالی تر کارشدنی است. با توجه به رشد روزافزون صنعت پرورش ماهی در کشورمان تحقیق درباره بیماری های اندمیک و بومی این صنعت ضروری به نظر می رسد. چرا که با شناخت این بیماری ها و با استفاده از تجارت محققان رشته ایمنی شناسی ماهی می توان زمینه پیشگیری از بسیاری از این بیماری ها را فراهم نمود و ضمن بالا بردن راندمان تولید و کاهش هزینه ها کشور را به دست خودکفایی در این صنعت سوق دهیم.

آغاز تاریخچه واکسیناسیون ماهی به سال ۱۹۴۲ برمی گردد، که در این سال دوف (Duff) به گونه ای موفقیت آمیز قزل آلائی کات ترات (Cut- throat) را بر علیه بیماری باکتریایی فورونکولوز که توسط آثروموناس سالمونیسیدا ایجاد می شود ، واکسینه نمود مطالعات تکامل سیستم ایمنی در ماهی قزل آلا و ماهی کپور نشان می دهد که سلول ها سیتوتوکسیک و پادتن تولید شده در برابر آنتی ژن های ذره ای در حدود ۴ هفته پس از تفریح ظاهر می شوند. همچنین توانایی تشکیل خاطره ایمنی و تولید پادتن در برابر آنتی ژن های محلول در حدود ۸ هفته پس از تفریح ایجاد می گردد. برخورد با آنتی ژن محلول از طریق تزریق (نه از طریق غوطه ور سازی) قبل از اینکه بچه ماهی نارس به سن ۸ هفتگی برسد تحمل ایمنی را ایجاد می کند. مطالعات نشان می دهند که ایمنی حفاظتی در آزادماهیان واکسینه شده در برابر بیماری های ویروزی یا ERM در حدود ۸ هفته پس از تفریح کامل می شود ولی از نظر اقتصادی به میزان قابل قبولی نخواهد رسید، مگر آنکه بچه ماهی

نورس وزنش ۵/۰ تا ۱ گرم باشد(در حدود ۱۰ هفته پس از تفریح و در ماهیانی که در دمای ۱۰ نگهداری شده اند).

اندازه و وزن بچه ماهی نسبت به سن آن فاکتور بسیار مهمتری است.

این گونه مشاهدات ثابت می کند که ماهی قادر به ایجاد پاسخ ایمنی حفاظتی در مقابل پاتوژن های

طبیعی است و بنابراین واکسیناسیون را می توان در ماهیان بکار برد.

در حال حاضر ۴ واکسن باکتریایی و یک واکسن ویروسی به شکل تجارتي در دسترس می باشند

همچنین تعداد دیگری هم در حال بررسی های آزمایشگاهی می باشند.