

مروری بر

واکسیناسیون

در ماهی

دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان-۱۳۹۸

گردآوری و ترجمه: دکتر جعفر دورودی

ویرایش: دکتر امراله قاجاری

۲	مقدمه
۲	۱- برخی مبانی ایمنی شناسی و مسائل کلیدی در واکسیناسیون ماهی
۵	۲- دلایل منطقی و اهداف استفاده از واکسن در ماهی
۶	۳- مشخصات واکسن ایده آل ماهی
۷	۴- عوامل موثر در انتخاب واکسن مناسب و عملکرد آن
۷	۴-۱- عوامل مربوط به بیماری
۷	۴-۲- عوامل مربوط به واکسن
۷	۴-۳- عوامل مربوط به ماهی
۷	۴-۴- عوامل جانبی
۸	۵- پاسخ ایمنی و اثربخشی واکسن
۸	۵-۱- روشهای اندازه گیری پاسخ ایمنی
۸	۵-۲- سه معیار مورد استفاده برای سنجش و ارزیابی اثربخشی واکسن
۸	۶- عوامل محیطی موثر بر پاسخ ایمنی و اثربخشی واکسن
۹	۷- روش های واکسیناسیون
۹	۷-۱- واکسیناسیون دهانی (خوراکی)
۱۰	۷-۲- واکسیناسیون تزریقی
۱۱	۷-۳- واکسیناسیون غوطه وری (مخاطی)
۱۲	۸- مزایا و معایب روشهای مختلف واکسیناسیون
۱۲	۸-۱- مزایای و معایب واکسیناسیون دهانی
۱۳	۸-۲- مزایای و معایب واکسیناسیون تزریقی
۱۳	۸-۳- مزایای و معایب واکسیناسیون غوطه وری (مخاطی)
۱۴	۹- عوامل موثر در انتخاب روش واکسیناسیون
۱۴	۱۰- پروتکل واکسیناسیون
۱۴	۱۰-۱- واکسن های تزریقی
۱۷	۱۰-۲- واکسن های غوطه وری
۱۷	۱۱- واکسن های موجود ماهی
۱۷	۱۱-۱- نکات قابل توجه
۱۸	۱۱-۲- آنتی ژن های غیرفعال ثبت شده تجاری در سراسر جهان
۱۹	۱۱-۳- بیماریهای ماهی که در نقاط مختلف جهان واجد واکسن های تجاری هستند
۲۱	۱۲- مراحل کلی توسعه و تولید واکسن ها
۲۱	۱۳- عوامل موثر در توسعه و تولید واکسن های جدید
۲۱	۱۴- انواع فناوری های زیستی در تولید واکسن های ماهی
۲۲	۱۵- بی خطری (Safety)
۲۲	۱۵-۱- اهم اطلاعات لازم جهت ارزیابی بی خطری (Safety) واکسن
۲۴	۱۵-۲- الزامات ایمنی اضافی برای " واکسن های حاصل از فناوری زیستی "
۲۵	۱۵-۳- الزامات ایمنی اضافی برای " DNA واکسن ها "
۲۶	۱۶- الویتها و برنامه های سازمان دامپزشکی

مواد غذایی حاصل از آبزیان منبعی مهم و با کیفیت برای تامین نیازهای تغذیه ای انسان بوده و سهم این بخش در تامین پروتئین حیوانی مورد نیاز بشر بشدت در حال افزایش است. آبی پروری سریعتر از سایر بخش های تولیدکننده مواد غذایی در حال رشد بوده و امروزه با محدود شدن منابع صیادی، بیش از ۵۰ درصد از مصرف جهانی محصولات آبزیان از آبی پروری حاصل می شود.

بیماری ها یکی از مهمترین عوامل محدود کننده در آبی پروری هستند. برای به حداکثر رساندن سلامت آبزیان دو مقوله مزرعه داری بهینه و مدیریت عمومی (از جمله امنیت زیستی، تغذیه، ژنتیک، مدیریت سیستم، و کیفیت آب) بسیار حیاتی هستند. با این حال، همه مزارع در برابر شیوع بیماری ها آسیب پذیرند زیرا بسیاری از موجودات بیماریزای فرصت طلب که ممکن است بدون ایجاد علائم بیماری در بدن بعضی از ماهی ها مستقر شده باشند (حاملین) می توانند در شرایط نامساعد محیط و میزبان بروز نموده و خسارات قابل توجهی وارد نمایند.

باتوجه به افزایش خطر گسترش بیماری های آبزیان بدلیل رشد چشمگیر تجارت بین المللی و جابه جایی های داخلی آبزیان زنده و محصولات آنها، و توسعه روز افزون آبی پروری در کشور و لزوم افزایش بهره وری در این صنعت، ارتقاء توان و بهبود آمادگی برای مقابله با بیماریها بیش از پیش ضروری می باشد. در این راستا "واکسن" بعنوان یکی از ابزارهای مهم مقابله با عوامل بیماریزا، از جایگاه خاصی برخوردار بوده که تهیه و کاربرد صحیح و ایمن آن، در ترکیب با عوامل ضروری (ازجمله بچه ماهی با کیفیت بالا، تغذیه خوب، مدیریت بهداشتی، روش های بهینه مزرعه داری و پرورش) می تواند نقش مهمی در امر پیشگیری و کنترل بیماریها و نتیجتاً افزایش "نرخ بقاء survival rate" و سودآوری در حوزه آبزیان داشته باشد.

۱- برخی مبانی ایمنی شناسی و مسائل کلیدی در واکسیناسیون ماهی

- ماهی ها یک گروه ناهمگن هستند که به سه دسته تقسیم می شود؛ شامل ۱- آگنادا (Agnathales) (ماهی های بدون آرواره مانند مارماهی دهان گرد و مکنده ماهی ها)، ۲- غضروف ماهیان (Chondrichthyes) (ماهی های با اسکلت غضروفی مانند کوسه ها، پرتوماهی ها و لقمه ماهی ها) و ۳- ماهی های استخوانی (Osteichthyes). ماهی هایی که از نظر طبقه بندی بالای سطح آگنادا قرار دارند، قادر به نشان دادن پاسخ های ایمنی تطبیقی معمول در مهره داران، با ویژگی هایی همچون ایمونوگلوبولین ها، گیرنده های سلول های T، سیتوکین ها و مولکول های پیچیده سازگار بافتی (Major histocompatibility complex) می باشند. در واقع ماهی ها ابتدایی ترین موجودات واجد پاسخ های ایمنی تطبیقی هستند. سیستم ایمنی ماهی از نظر کارایی و پیچیدگی نسبت به مهره داران رده های بالاتر (ازجمله پستانداران) ساده تر و تمایز نیافته تر است. اگرچه سیستم ایمنی ماهی در مقایسه با پستانداران ابتدایی است اما به نظر می رسد شباهت ها نسبت به تفاوت ها بیشتر باشد.

- اولین خط دفاعی سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل خارجی، یعنی مخاط و پوست دارای مولکول های واکنش ایمنی (یعنی لیزوزیم، کامپلمنت و ایمونوگلوبولین) هستند.

- تحقیقات اولیه حاکی از آن بود که ایمونوگلوبولین (Ig) موجود در پوست و مخاط غیر اختصاصی است. با این حال، اخیراً آنتی بادی اختصاصی در برابر انگل ها و باکتری ها در مخاط نشان داده شده است. ظاهراً این آنتی بادی در سرم تولید نمی شوند، بلکه به صورت موضعی تولید می شوند (یعنی توسط لنفوسیت ها در پوست). مولکول های هومورال غیر اختصاصی در ماهی عبارتند از لکتین ها، آنزیم های لیتیک، ترانسفرین و اجزای سیستم مکمل.
- سلول های غیر اختصاصی سیستم ایمنی ماهی شامل مونوسیت ها یا ماکروفاژهای بافتی، گرانولوسیت ها (نوتروفیل ها) و سلول های سیتوتوکسیک می باشند. ماکروفاژ ها در فاگوسیتوز و تخریب عوامل خارجی و باکتری های مهاجم مشارکت می کنند. فعال سازی ماکروفاژ بوسیله سیتوکین ها و محرک های ایمنی (بتاگلوکان و سایر ترکیبات) صورت می گیرد که توانایی این سلول ها را برای کشتار اجرام مهاجم افزایش می دهد.
- ایمنی اکتسابی در ماهی شامل هر دو پاسخ هومورال و باواسطه سلولی است. واکنش باواسطه سلولی در ماهی مشابه پستانداران است و بر حضور آنتی ژن که منتج به یک فرآیند آبخاری رویدادها می شود (شامل تولید سیتوکین که پاسخ سلولی را تنظیم یا تقویت می کند)، تکیه دارد.
- بیشتر ارگان های لنفاوی مولد و ثانویه پستانداران در ماهی نیز یافت می شوند، بجز گره های لنفاوی و مغزاستخوان.
- بخش قدامی کلیه ماهی ها به احتمال زیاد منبع "مولکول های پیچیده سازگار بافتی MHC" است که بعدها موجب تکامل لمفوسیت های B و T می گردد، امری که در تیموس مهره داران رخ می دهد.
- در ماهی ها سلولهای T پیشگام (progenitor T-cells) به منظور تربیت سلول های T (توانایی تشخیص خودی از غیرخودی) و بلوغ عملکردی از کلیه به تیموس مهاجرت می کنند. لنفوسیت های B از کلیه منشاء گرفته و بالغ می شوند؛ بنابراین ناحیه قدامی کلیه ماهی به عنوان "معادل تکاملی" مغز استخوان شناخته می شود. سلول های B ماهی نیز در زمان تحریک آنتی بادی تولید می کنند.
- نوع آنتی بادی اصلی در ماهی یک ایمونوگلوبولین (Ig) ایزوتایپ مشابه M است. هیچ گونه ایزوتایپ متناظر با IgG، IgA یا IgE پستانداران در ماهی شناسایی نشده است و پاسخ ایمنی ثانویه هومورال در ماهی، در صورت وجود، نسبت به پستانداران کمتر مشهود است.
- یکی دیگر از تفاوت های عمده ماهی با دیگر مهره داران این است که میزان متابولیسم و تکامل واکنش های ایمنی مستقیماً به دمای محیط آبی آنها بستگی دارد.
- ممکن است که گونه های مختلف ماهی تفاوت های عمده ای در نحوه مبارزه با پاتوژن ها و همچنین واکنش آنها نسبت به واکسن ها داشته باشند. فقدان دانش دقیق از سیستم های ایمنی در گونه های مختلف ماهی، امکان مطالعه هر دو ایمنی ناشی از پاتوژن و واکسن را محدود می کند. تنوع گونه ها و دانش محدود از سیستم های ایمنی بدن ماهی، توسعه واکسن ها و یا روشهای واکسیناسیون جدید را محدود می کند.
- واکسن با تحریک اجزای خاطره ای سیستم ایمنی، حفاظت درازمدت خاص در برابر بیماری معین ایجاد می کند.
- واکسیناسیون ماهی فقط برای پیشگیری از بیماری در ماهی های سالم توصیه می شود.

- در برخی گونه های ماهی، مشکلات عمده بیماری ممکن است در مراحل لاروی یا تخم ظاهر شود، قبل از اینکه حیوان به اندازه کافی بزرگ باشد تا واکسینه شود یا حتی یک سیستم ایمنی فعال داشته باشد.
- بر خلاف سایر انواع دام، فرصت های محدودی در طول زندگی ماهی های پرورشی برای تجویز واکسن ها وجود دارد. در دوره حیات ماهی اولین زمانی که می توان واکسیناسیون انجام داد، بلافاصله بعد از آن است که سیستم ایمنی آن فعال گردد (گاهی پس از آن که کیسه زرده جذب می شود).
- بسته به گونه ماهی، نوع واکسن و درجه حرارت محیط آبی، واکسیناسیون باید در یک زمان مناسب قبل از مواجهه با بیماری و یا قبل از انتقال به یک محل مستعد بیماری انجام شود (در یک حداقل زمان معین قبل از خطر مواجهه با پاتوژن ها).
- بدلیل نقص آشکار انتقال ایمنی مادری در ماهی، محافظت از فرزندان بواسطه واکسیناسیون والدین محدود است.
- تا به امروز "آزمون و خطا" استراتژی اصلی توسعه واکسن های ماهی بوده است و این رویکرد تجربی احتمالا در کوتاه مدت ادامه خواهد یافت. بعلت دانش محدود از سیستم ایمنی ماهی، پاتوژن ها و پاتوژن بیماری ها، توسعه واکسن ها برای گونه هایی که به تازگی پرورش آنها آغاز شده (یا بیماری های جدید در ماهی هایی که قبلا پرورشی شده اند) معمولا محدود است.
- اغلب آنتی ژن هایی که تا به امروز در ساخت واکسن های ماهی مورد استفاده قرار گرفته اند پاتوژنهای باکتریایی و ویروسی کشته یا غیرفعال ساده هستند که به صورت تجربی تولید شده اند.
- با چند استثناء، واکسن های علیه بیماریهای باکتری ها بسیار موثر هستند در حالی که در واکسن های ویروسی اثربخشی متنوع تری مشاهده می شود. تاکنون واکسن های ضد بیماریهای انگلی و قارچی ماهی تولید نشده است.
- در حال حاضر نگرانی های مربوط به محیط زیست مانع توسعه و استفاده از واکسن های زنده ویروسی در ماهی می شوند؛ زیرا امکان ابتلاء گونه های غیر هدف (که واکسن برای آنها ساخته و ارزیابی ایمنی نشده) در تماس ناخواسته با میکروارگانیسم های تخفیف حدت یافته وجود دارد.
- همانند تمام واکسن های دامپزشکی، "مقرون به صرفه بودن" در مزرعه، یک محدودیت اساسی در تولید واکسن تجاری است.
- درمورد اکثر واکسن های ماهی، در مقایسه با واکسن های مشابه مورد استفاده در مهره داران برتر، میزان آنتی ژن نسبتا بیشتری مورد نیاز است، بنابراین تولید واکسن های ویروسی غیرفعال مقرون به صرفه دشوار است.
- واکسیناسیون ایجاد حفاظت در برابر بیماری میکند، اما باعث حذف کامل عوامل بیماریزا از بدن ماهی نشده و لذا ممکن است معذالک وضعیت حامل (Carrier state) وجود داشته باشد.
- تحریک ایمنی از طریق واکسیناسیون اصولا متاثر از تقابل میکروارگانیسم و میزبان میباشد، اما عوامل محیطی نقش قابل توجهی در ایجاد مقاومت مناسب در میزبان دارند؛ لذا مدیریت مناسب همراه با بهداشت مناسب مزرعه و محدود کردن استرس که عوامل کلیدی در پیشگیری از بیماری های عفونی هستند نیز برای تاثیر بهینه واکسن ها ضروری می باشند.

۲- دلایل منطقی و اهداف استفاده از واکسن در ماهی

- در بسیاری از فعالیت های دامپروری متراکم نظیر پرورش گاو، گوسفند و طیور بدلیل ماهیت گونه دام امکان جداسازی دام ها از گونه های وحشی به آسانی ممکن است، لیکن در محیط های آبی پروری، همانند قفس های دریایی، استخرها و کانال ها که آب آنها از محیط زیست تامین می شود، جلوگیری از تماس ماهی پرورشی با پاتوژن های محیطی یا پاتوژن های موجود در ماهی های وحشی بسیار دشوار است؛ لذا برغم رعایت اصول امنیت زیستی در مزارع، ماهی های پرورشی دائما در تهدید ابتلاء به انواع پاتوژن ها بسر می برند.
- درمان ماهی پس از ابتلاء به عفونت نیز می تواند چالش هایی ایجاد کند. به طور کلی، داروها در شرایط مزارع تجاری عمدتا به صورت خوراکی یا غوطه وری بکار می روند. تجویز محصولات دارویی مانند آنتی بیوتیک ها به روش تزریق در ماهی ها فقط درمورد جمعیت های کوچک با ارزش بسیار بالا، از قبیل مولدین، ممکن است.
- حمام دادن یا غوطه ور کردن ماهی ها در محصولات دارویی برای تعداد زیاد ماهی با اندازه های بزرگ خصوصا در شرایط دریایی مانند سالمون در قفس های دریایی، می تواند به لحاظ فنی عملیات بسیار سخت و دشواری باشد. بنابراین تجویز داروها به همراه خوراک شایعترین روش مصرف می باشد؛ هرچند، این روش نیز با مشکلاتی همراه است که باعث می شود تاثیر تجویز خوراکی دارو محدود و تنها بر روی ماهی هایی که در مراحل اولیه ابتلا به بیماری خاصی قرار دارند باشد، ازجمله:
 - تاثیر نامطلوب برخی از محصولات مانند تعدادی از آنتی باکتریال ها بر روی طعم و دلپذیری خوراک
 - وجود رقابت بین ماهی های قویتر و ضعیفتر در دریافت خوراک و نتیجتا دریافت مقدار بیشتر دارو همراه خوراک توسط ماهی های قویتر.
 - کاهش اشتها یا بی اشتهایی ماهی های مبتلا به عنوان اولین عوارض بیماری که منجر به کاهش شانس درمان ماهی های بیماری می شود.
- مشکل دیگر در درمان ماهی این است که مشاهده نشانه های بالینی بیماری و تشخیص براساس این علائم دشوار است و تا حد قابل توجهی تشخیص بیماری در ماهی براساس یافته های پس از مرگ انجام می شود. این امر می تواند امکان بکارگیری دارو در مراحل اولیه بروز حاد بیماری را تقریبا غیر ممکن نماید.
- درمقایسه با بیماری های ویروسی که متعاقب بیماری، ماهی های بازمانده ایمنی پیدا می کنند، در بیماریهای باکتریایی بازماندگان گله های ماهی مبتلا ایمن نشده و لذا بیماری مکررا برگشت می نماید، بطوریکه پرورش دهنده جهت کنترل بیماری و جلوگیری از تلفات مجبور به استفاده مکرر از آنتی بیوتیک ها و ضدعفونی کننده ها می باشد.
- با وجود آن که تعداد زیادی ویروس باعث مشکلات در آبی پروری می شوند، هیچ دارویی برای درمان بیماریهای ویروسی آبیان وجود نداشته و فقط امکان مقابله با باکتری های فرصت طلب ثانویه وجود دارد. در این مورد نیز پرورش دهندگان جهت جلوگیری از عفونت ثانویه ناشی از عوامل باکتریایی اقدام به مصرف مکرر انواع آنتی بیوتیک می نمایند.
- علاوه بر حجم بالای مصرف آنتی بیوتیک، موضوع نگران کننده تر در ایران استفاده از محصولات غیراختصاصی آبیان (اغلب مربوط به طیور) بدلیل تجاری است. از آنجا که آنتی بیوتیک های غیراختصاصی آبیان برای استفاده در محیط های آبی و متناسب با فیزیولوژی آبیان طراحی نشده اند باعث بروز شدیدتر عوارض نامطلوب بهداشتی، بهداشت عمومی و زیست محیطی ناشی از مصرف آنتی بیوتیک ها می شوند.

- استفاده از واکسن منجر به کاهش نیاز به آنتی بیوتیک ها و مواد شیمیایی شده و نتایج زیر را حاصل مینماید:
 - کاهش نگرانی ها در مورد سطح باقیمانده آنتی بیوتیک ها در بافت های مورد تغذیه انسان
 - کاهش مشکلات مقاومت آنتی بیوتیکی (جلوگیری از ایجاد سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک)
 - پیشگیری از اثرات نامطلوب بر فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهی پرورشی و نیز پروبیوتیک های مصرفی در طول دوره پرورش بعنوان بهبود دهنده تغذیه و بهبود دهنده آب
 - پیشگیری از اثرات نامطلوب بر باکتریهای مفید محیط زیست اعم از باکتریهای موجود در آب و خاک و فلور باکتریایی آبزیان وحشی و نتیجتاً حفظ اکوسیستم ها
 - صرفه جویی قابل ملاحظه در هزینه های تولید
- چنانچه واکسیناسیون در ترکیب با عوامل ضروری (از جمله بچه ماهی با کیفیت بالا، تغذیه خوب، مدیریت بهداشتی، روش های بهینه مزرعه داری و پرورش GAP) بکار رود، بهترین روش برای افزایش "نرخ بقاء survival rate" و سودآوری در حوزه آبزیان است.
- استفاده از واکسن ها در ماهی های خوراکی به ویژه آزادماهیان ، باهدف پیشگیری از بیماریها، سابقه ای بیش از ۳۰ سال داشته و اعتقاد براین است که یکی از دلایل اصلی موفقیت پرورش آزادماهیان بوده است. در نروژ در سال ۱۹۸۷، قبل از استفاده گسترده از واکسن ها، حدود ۵۰ تن آنتی بیوتیک ها استفاده شده و تنها ۱۰ سال بعد در سال ۱۹۹۷، زمانی که واکسن ها بیشتر رایج شدند، مصرف آنتی بیوتیک به کمتر از ۲ تن کاهش یافت .
- در مورد پاتوژن های مشترک ماهی و انسان، واکسیناسیون ماهی می تواند در پیشگیری از انتقال این پاتوژن ها به انسان نیز موثر باشد. بطور مثال، استرپتوکوک iniae که یک پاتوژن شایع در تیلاپیا ، گربه ماهی و استریپ باس است بالقوه می تواند باعث سلولیت پوست دست انسان شود. دو باکتری Vibrio و Edwardiella که هر دو از عوامل بیماری زای ماهی هستند ، می توانند باعث التهاب دستگاه گوارش و عفونت زخم ها در انسان شوند.

۳- مشخصات واکسن ایده آل ماهی

- بی خطر (برای ماهی، واکسیناتور و مصرف کنندگان محصولات ماهی) باشد.
- در برابر طیفی از انواع پاتوژن ایمنی زا و اثربخش باشد.
- حفاظت طولانی مدت، حداقل تا پایان زمان چرخه تولید، ایجاد نماید.
- از بروز تلفات پیشگیری نماید.
- برای تعداد زیادی از گونه های ماهی کارآمد باشد.
- با تشخیص بیماری تداخل ننماید.
- پایدار بوده و شرایط ذخیره سازی آن آسان باشد.
- آماده سازی و تجویز آسان باشد.
- ارزان و مقرون به صرفه باشد.
- به راحتی تولید شود.
- به راحتی مجوز بگیرد و ثبت شود.

۴- عوامل موثر در انتخاب واکسن مناسب و عملکرد آن:

برای انتخاب واکسن مناسب و کارآیی هرچه بهتر واکسن در آبزیان بایستی موارد زیر مورد توجه قرار گیرند:

۴-۱- عوامل مربوط به بیماری:

- چه بیماری را می خواهید کنترل کنید؟
- چه هنگامی این بیماری رخ می دهد؟
- وضعیت بیماری درگله / درجه خطر بیماری
- تنوع رفتاری پاتوژن / ژنتیک پاتوژن

۴-۲- عوامل مربوط به واکسن:

- تکنولوژی تولید واکسن
- روش آماده سازی و تجویز واکسن
- سن توصیه شده واکسن
- تعداد تزریق (نیاز یا عدم نیاز به تزریق یادآور)
- مدت زمان لازم برای شروع ایمنی زایی پس از تجویز
- طول دوره ایمنی زایی (Duration of immunity) / مدت زمان حفاظت
- نرخ ایجاد حفاظت Protection Rate
- درصد نسبی زنده ماندن Relative Percent Survival
- نوع و تعداد آنتی ژن ها: مونو والان یا پلی والان

۴-۳- عوامل مربوط به ماهی:

- گونه ماهی (سردآبی / گرم آبی و...)
- چرخه تولید و تاریخچه زندگی (زمانی یا سنی که ماهی بیشترین حساسیت به بیماری را دارد)
- وضعیت سیستم ایمنی ماهی
- اندازه ماهی: هر قدر ماهی کوچکتر باشد خطر واکنش های موضعی افزایش می یابد.

۴-۴- عوامل جانبی:

- روش پرورش ماهی
- عوامل استرس و تغذیه
- عوامل محیطی مانند درجه حرارت، شوری، نور، کیفیت آب،...

۵- پاسخ ایمنی و اثربخشی واکسن

۵-۱- روشهای اندازه گیری پاسخ ایمنی

- ردیابی و شناسایی انواع سلول های ایمنی و چگونگی تغییرات جمعیت این سلول ها.
- تست های کاربردی ساده همانند الیزا: اندازه گیری IgM توسط الیزا آسان است اما IgT اندازه گیری (آنتی بادی مخاطی) اینطور نیست.
- بیان ژن (مثلا سیتوکین ها، IgT)

۵-۲- سه معیار مورد استفاده برای سنجش و ارزیابی اثربخشی واکسن عبارتند از:

- طول دوره ایمنی (Duration of immunity)
- نرخ ایجاد حفاظت (Protection Rate)
- درصد نسبی زنده ماندن (Relative Percent Survival)

$$RPS = \left(1 - \frac{\% \text{ مرگ و میر واکسینه}}{\% \text{ مرگ و میر کنترل (غیر واکسینه)}} \right) \cdot 100$$

۶- عوامل محیطی موثر بر پاسخ ایمنی و اثربخشی واکسن

۱. سیستم و پاسخ ایمنی ماهی می تواند به شدت تحت تاثیر عوامل مختلف خارجی مانند دما، نور، کیفیت آب، شوری و عوامل مختلف استرس زا قرار گیرد.
۲. کاهش دمای محیط آبی (که به دلیل ماهیت خونسرد بودن ماهی واجد اهمیت است) بر میزان عملکرد فیزیولوژیکی و نتیجتاً پاسخ ایمنی آنها تأثیر می گذارد. شروع یک پاسخ ایمنی در گونه های آب گرم سریع تر از گونه های آب سرد است. معمولاً ایجاد یک ایمنی خوب حاصل از واکسیناسیون، بسته به درجه حرارت، چند هفته تا چند ماه طول می کشد. همچنین ثابت شده که افزایش دما باعث افزایش خطر واکنش های موضعی می شود.
۳. نشان داده شده که در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان، مدت نور روزانه نیز پاسخ ایمنی را تحت تأثیر قرار می دهد. این امر بواسطه کاهش تعداد لکوسیت های موجود در گردش خون ناشی از افزایش مدت نور روزانه رخ می دهد. بدن ماهی در پاسخ جبرانی به کاهش مدت نور روزانه اقدام به افزایش لکوسیت ها می کند تا نیاز به ساعات مواجهه با این عامل کاهش یابد. افزایش مدت نور روزانه همچنین می تواند باعث افزایش فعالیت لیزوزیم و سطوح IgM موجود در گردش خون شود.
۴. سطوح اکسیژن در محیط می تواند پاسخ ایمنی را تعدیل کند. کمبود اکسیژن بافتی فعالیت انفجار تنفسی ماکروفاژها را سرکوب می نماید و سطح آنتی بادی های موجود در گردش خون را کاهش می دهد.
۵. افزایش میزان مواد جامد معلق در محیط ماهی، باعث افزایش سطح هماتوکریت می شود تا کاهش توانایی آبشش ها برای جذب اکسیژن را جبران کند. این عامل همچنین فعالیت لیزوزیم و سطوح IgM موجود در گردش خون را، در پاسخ به افزایش میزان پاتوژن ها که در محیطی غنی از ذرات قابل انتظار است، افزایش می دهد.

۶. افزایش شوری از طریق افزایش فعالیت آنزیم های لیتیک، انفجار تنفسی ماکروفاژها و افزایش میزان IgM موجود در گردش خون بر پارامتر های ایمنی تاثیر می گذارد. هرچند، دلیل این که چرا این تغییرات با شوری مرتبط است، در حال حاضر ناشناخته مانده .

۷. تغییرات سطوح pH در محیط، نتایج متناقضی برای پارامترهای سیستم ایمنی همانند میزان لیزوزیم و IgM در گردش خون نشان می دهد.

۸. در نهایت، استرس ناشی از عوامل انسانی مانند تراکم، دستکاری و حمل و نقل می تواند سطح کورتیزول در گردش خون را افزایش داده و باعث نقصان ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی شده و علاوه بر مهار اثربخشی واکسن، ماهی ها را مستعد ابتلا به پاتوژنهای فرصت طلب می کند.

۷- روش های واکسیناسیون

۱-۱- واکسیناسیون دهانی (خوراکی):

بیشترین تلاش برای توسعه چنین واکسن های صورت گرفته است زیرا راحت ترین روش برای واکسیناسیون گروهی بوده و کمترین استرس را وارد می نماید، اما در این روش دز دریافتی متغیر بوده و گاهی اوقات از نظر قدرت ایمنی زایی ضعیف است.

روش تجویز خوراکی می تواند بر اساس واکسن متغیر باشد. سه روش مخلوط کردن واکسن با خوراک عبارتند از:

۱- افزودن پودر واکسن به خوراک آماده با استفاده از یک عامل چسبنده مانند روغن خوراکی یا حتی ژلاتین،

۲- اگر واکسن به صورت مایع باشد اسپری بر روی خوراک آماده

۳- آمیختن واکسن به داخل خوراک در طی فرایند ساخت آن. برای کاهش رهاشدن میکروارگانیسم واکسن به آب و/یا حفاظت در برابر تجزیه واکسن توسط فرایندهای گوارش ماهی، اغلب از پوشش برای واکسن استفاده می شود (پوشش Micro-encapsulation و پوشش Bio-encapsulation).

البته روشهای دیگری نیز برای تجویز خوراکی واکسن وجود دارد که کمتر استفاده می شوند؛ مثلا قراردادن موجوداتی که بعنوان غذای زنده ماهی استفاده می شوند (rotifers, brine shrimp) در محلول غلیظ واکسن و بلع واکسن توسط این غذاهای زنده و سپس خوراندن آنها به ماهی ها.

باید توجه زیستی (biomass) ماهی های مورد واکسیناسیون تخمین زده شود و واکسن با توجه به دستورالعمل سازنده با میزان کافی خوراک مخلوط شود. درمورد واکسن های مایع، بایستی واکسن به مدت ۱ ساعت قبل از مصرف به دمای اتاق (۲۰ درجه سانتیگراد) منتقل شود. اگر اجزای واکسن در داخل ظرف خود تفکیک شه و بصورت چندلایه درآمده باشد، ظرف را به شدت تکان دهید تا لایه های جدا شده به طور کامل مخلوط شوند. وزن مورد نیاز از خوراک پلیت شده را به یک میکسر منتقل و درحین چرخش آرام میکسر واکسن را به داخل خوراک ریخته یا اسپری کنید.

اگر از یک اسپری کننده استفاده شود، باید آن را طوری تنظیم نمود که اسپری بصورت ذرات درشت و بدون خطر تولید "ذرات آئروسول" ایجاد شود. ظرف اسپری باید در طول عملیات میکس کاملاً تخلیه شود. مخلوط کردن پلیت ها را حداقل تا ۲ دقیقه پس از اضافه شدن تمام واکسن ادامه دهید. برای آن که واکسن به طور کامل در پلیت اشباع شود، خوراک آماده شده را برای مدت یک ساعت قبل از شروع تغذیه نگه دارید.

بعد از آن باید خوراک حاوی واکسن، با توجه به دستورالعمل های تولید کننده واکسن، به ماهی ها خوراندن شود. دستورالعمل سازنده واکسن در مورد نگهداری خوراک حاوی واکسن و همچنین حداقل اندازه ماهی که می تواند با یک واکسن خاص واکسینه شود نیز باید رعایت گردد.

۷-۲- واکسیناسیون تزریقی:

واکسیناسیون تزریقی در ماهی اصولاً به طریق داخل صفاقی (با یا بدون یاور ایمنی) انجام می شود، لیکن در برخی موارد مثلاً در مورد واکسن DNA بصورت داخل عضلانی صورت می گیرد. واکسن های کشته غالباً بصورت تزریقی تجویز می شوند. این روش پرهزینه ترین روش تجویز واکسن در ماهی است. در این روش بمنظور دستکاری راحت و ایمن ماهی ها در حین تزریق واکسن، لازم است آنها بیهوش شده یا آرامبخش دریافت نمایند. قبل از اجرای عملیات بیهوشی و تزریق واکسن، ماهی ها برای مدتی از غذا محروم می شوند (هرچه اندازه ماهی کوچکتر و دمای آب بالاتر باشد، فرجه زمانی مورد نیاز برای ناشتا بودن کمتر است). پس از این فرآیند ممکن است چند روز طول بکشد تا به تغذیه نرمال بازگردند، لذا این عملیات پی آمدهایی از نظر رشد و تولید نیز خواهد داشت. همچنین استفاده از بیهوشی ها همیشه با خطراتی همراه است. اگر چه درصد بسیار کمی از ماهی ها پس از تجویز ماده بیهوشی تلف می شوند، اما این نیز خسارت بالقوه برای مزرعه دار است. بعلاوه تزریق به تک تک ماهی ها یک مهارت ویژه است که مستلزم بکارگیری تیم های واکسیناتور آموزش دیده خاص می باشد. مضافاً آن که در این روش نگرانی های مربوط به امنیت زیستی نیز وجود دارد.

اگر چه کارهای قابل توجهی در زمینه توسعه ماشین های اتوماتیک واکسیناسیون صورت گرفته است، اما این ماشین ها بطور کامل جایگزین واکسیناسیون دستی نخواهند بود. با وجود آن که اصل استفاده از یک ماشین برای چنین فرآیند کار فشرده ای مطلوب است، لیکن دخالت انسان در مراحل از این فرآیند ضروری است. هنوز لازم است که برخی معاینات و یا بازرسی های پیش از تزریق برای تعیین ناهنجاریهای احتمالی فقط توسط پرسنل آموزش دیده میتواند انجام شود. حتی مسائل نسبتاً ساده ای نیز هست که باید با دخالت انسان انجام شود همانند اطمینان از اینکه ماهی ها به درستی وارد دستگاه واکسیناسیون می شوند و واکسن به محل مورد نظر تزریق می شود نه به بخش دیگری از بدن ماهی مانند عضله پشتی.

با این وجود، تزریق واکسن به تعداد زیادی از گونه های مختلف ماهی های برای چندین سال بصورت بسیار موفقیت آمیزی انجام شده و این روش تجویز، با اصل کلی یک تزریق برای ایجاد محافظت در طول زندگی ماهی تا مرحله برداشت، هنوز هم موثرترین روش حفاظت در برابر انواع بیماری ها است.

همچنین ایجاد علامت بسیار کوچک روی دیواره شکم ماهی بواسطه فرورفتن سوزن، بعنوان یک شاخص آشکار از این که ماهی واکسینه شده است، باقی می ماند که در روش های دیگر تجویز واکسن امکان پذیر نیست. این امر علاوه بر آن که می تواند در جنبه های مثبت تضمین کیفیت و تضمین سلامت مهم باشد، در مورد بررسی رخدادهای نامطلوب بعد از واکسن نیز می تواند مورد استفاده قرار گیرد. با این حال، برخی از مسائل ایمنی نیز وجود دارد که نیاز به توجه دارند؛ نه تنها برای ماهیانی که واکسن تزریقی را دریافت می کنند بلکه کارکنانی که به طور مستقیم در تزریق دخالت دارند.

روش کار از لحاظ حمل ماهی ها به میز واکسیناسیون، دستکاری در طی فرایند بیهوشی و واکسیناسیون و نیز در هنگام بازگشت به مخازن نگهداری، باید طوری ترتیب داده شود که موجب به حداقل رساندن آسیب فلسه های ماهیان شود. مهارت واکسیناتورها می تواند تاثیر مهمی بر روی سلامت ماهی ها داشته باشد زیرا تکرار تزریق داخل صفاقی با سرعت بالا یک وظیفه بسیار مهارتی است و همیشه پتانسیل خطای انسانی وجود دارد. باید بسیار مراقبت بود که اطمینان حاصل شود طول سوزن برای اندازه ماهی مناسب باشد. برای اطمینان از این که واکسن در قسمت مورد نظر از حفره شکمی و نه در یکی از اعضای داخلی مانند مثانه یا کلیه وارد می شود، در ابتدای برنامه واکسیناسیون باید چند ماهی واکسن خورده بصورت راندام کشتار شده و محل فرورفتن سوزن بدقت بررسی شود.

همچنین از آنجا که سوزنها در طول یک جلسه واکسیناسیون برای تعدادی از ماهی ها استفاده می شود، باید مراقب بود که از سوزن کند استفاده نشود زیرا به پوست ماهی آسیب رسانده و به میکروارگانسیم های فرصت طلب مانند باکتری های بی هوازی یا قارچ ها امکان می دهد که محل تزریق را بشکل ثانویه آلوده کنند. قطر سوزن نیز مهم است؛ کلفت بودن بیش از حد سوزن منجر به ایجاد سوراخ بزرگ بروی پوست و نشت واکسن به خارج از محل واکسیناسیون ماهی و در نتیجه دریافت دوز کمتر از حد مطلوب شده و نازک بودن بیش از حد سوزن می تواند مشکلات عبور فیزیکی واکسن از سوزن، به خصوص با واکسن های حاوی نسبتا بالای روغن در شرایط آب و هوای سرد، گردد.

مسئله مهم دیگر ایمنی پرسنل واکسیناسیون است. تعدادی از واکسن های ماهی موجود در حال استفاده، حاوی یک ادجوانت با مقدار نسبتا بالای روغن معدنی می باشند. خودتزریقی تصادفی (Accidental Self-injection) با این نوع واکسن می تواند منجر به عواقب بالقوه جدی شود. تمام واکسن های برپایه روغن باید بر روی بسته بندی علامت هشداردهنده داشته باشند و اگر واکسیناتور واکسن ماهی را تصادفی به خود تزریق نمود، باید بلافاصله کمک های پزشکی در دسترس باشد. پیامدهای آن ممکن است از برداشت ناحیه آسیب دیده تا از دست دادن انگشت تزریق شده و یا یک واکنش آنافیلاکتیک سیستمیک باشد. اگر فردی دچار حادثه خود تزریقی تصادفی شد نباید به او اجازه واکسن زدن دیگر ماهی ها با این نوع محصول داده شود.

۷-۳- واکسیناسیون غوطه وری (مخاطی):

در واکسیناسیون غوطه وری سلول های ایمنی موجود در پوست، مخاط و آبشش ماهی به طور مستقیم در معرض آنتی ژن قرار گرفته و ایجاد پاسخ ایمنی موضعی می نمایند. بعلاوه این آنتی ژن ها توسط برخی دیگر از سلولهای ایمنی به داخل بدن برده شده و یک پاسخ سیستمی نیز ایجاد می شود.

برای این منظور، بایستی توده زیستی (biomass) ماهی های مورد واکسیناسیون محاسبه شود زیرا واکسن براساس مجموع وزن بدن آنها تجویز می شود. همچنین اندازه ماهی ها مورد بررسی قرار می گیرد، زیرا واکسیناسیون مستلزم یک حداقل اندازه است و ماهی های کوچکتر از آن نباید واکسینه شوند. اطلاعاتی مربوط به حداقل اندازه ماهی برای هر واکسن خاص در برگه راهنمای آن درج شده است. واکسن با توجه به دستورالعمل های خاص و با استفاده از مقداری آب محل نگهداری ماهی ها رقیق می شوند و ماهی ها به صورت دسته ای برای مدت زمان توصیه شده (معمولا حدود ۳۰ ثانیه) در واکسن رقیق شده غوطه ور می شوند. هر بطری واکسن تغلیظ شده، جهت واکسیناسیون وزن مشخصی از ماهی ها کافی خواهد بود.

در حین غوطه وری ماهی ها، واکسن رقیق شده بایستی هوادهی شود. همچنین از دستورالعمل های واکسن در رابطه با حداقل درجه حرارت که پایین تر از آن نباید ماهی واکسینه شود، پیروی کنید. این امر به دلیل آن است که پاسخ ایمنی ماهی بستگی به دمای آبی که ماهی نگهداری می شود دارد و پایین تر از دمای مثلا ۴ تا ۵ درجه سانتیگراد، پاسخ ایمنی برای از ایجاد حفاظت مناسب در برابر بیماری ناکافی خواهد بود. درمورد همه واکسن های ماهی توصیه می شود که باید تنها ماهی های سالم واکسینه شوند. همچنین واکسن های تک گانه نباید مخلوط شوند.

• روش فروردن: در این روش ماهی های کوچک (۵ تا ۵ گرم) در مدت زمان بسیار کوتاه (۳۰ ثانیه) در محلول واکسن بسیار غلیظ (۱ قسمت واکسن به ۹ قسمت آب) قرارداده می شوند. این روش کاربرد گسترده تری دارد.

• روش حمام دادن: در این روش ماهی های بزرگتر برای یک مدت طولانی تر، معمولا یک تا چند ساعت، در معرض یک غلظت پایین تر واکسن قرارداده می شوند.

• اسپری (نوعی غوطه وری است که می تواند در ماهی های بزرگتر که در آنها امکان تزریق نیست، استفاده شود)

۸- مزایا و معایب روشهای مختلف واکسیناسیون

۸-۱- مزایای و معایب واکسیناسیون دهانی:

- واکسیناسیون دهانی با افزودن آنتی ژن به خوراک می تواند روش ایده آل برای واکسیناسیون ماهی باشد.
- ساده ترین و مناسبترین روش برای واکسیناسیون گروهی تمام اندازه های ماهی است.
- کمترین استرس را وارد می نماید .
- در هزینه و نیروی کار برای تجویز صرفه جویی قابل ملاحظه ای می شود.
- ایمنی مخاطی خوبی ایجاد می کند.
- در این روش همه ماهی ها واکسن را یکسان دریافت نموده و دز دریافتی هر قطعه ماهی متغیر است، لذا ضروریست اطمینان حاصل شود که همه ماهی ها به میزان کافی غذا دریافت کرده اند.
- در این روش برای ایجاد ایمنی مقادیر زیادی آنتی ژن مورد نیاز است، لذا قیمت هر دز واکسن بالاتر است.

– به علت تخریب آنتی ژن در روده ماهی، پاسخ ضعیف و ناپایدار (کوتاه مدت) و گاهی قدرت ایمنی زایی ضعیف با واکسن های خوراکی رایج گزارش شده است .

– این روش اثربخشی کم تا متوسط دارد، خصوصا وقتی به تنهایی (بدون بوستر) استفاده می شود.

۸-۲- مزایای و معایب واکسیناسیون تزریقی:

- رایج ترین و موثر ترین روش واکسیناسیون در ماهی است.
- بسیار موثر در تولید هردو پاسخ هومورال و سلولی سیتوتوکسیک است.
- حفاظت طولانی مدت، عبارتی بیش از یک سال دارد.
- آنتی ژن های متعدد را می توان در یک واکسن منفرد ترکیب و با یک تزریق تجویز نمود.
- تمام ماهی ها در جمعیت، واکسن را با دوز مناسب دریافت کرده و حجم واکسن مورد نیاز نسبتا کم است.
- بسته به توسعه یاور ایمنی مناسب، سطح و مدت زمان حفاظت بهبود یافته است.
- هزینه هر دز واکسن نسبتا کم و میزان هدر رفت آن ناچیز است.
- خصوصا در مورد ماهی های گرانبیایم بسیار باصرفه است.
- عملا برای ماهی های کوچک نامناسب است، و فقط می تواند در ماهی ۱۵ گرم یا بیشتر بکار رود.
- نیاز به تجهیزات پیشرفته، تعداد زیاد نیروی کار ماهر داشته و نسبتا زمانبر است.
- در این روش استرس دستکاری قابل توجه و خطر ابتلا به عفونت های قارچی پس از واکسیناسیون وجود دارد.
- بروز واکنش های موضعی محل تزریق از دیگر اشکالات آن است.

۸-۳- مزایای و معایب واکسیناسیون غوطه وری (مخاطی):

- موثر برای تعدادی از پاتوژن های باکتریایی
- تجویز ارزان و آسان برای ماهی های کوچک
- امکان واکسیناسیون سریع تعداد زیادی از ماهی ها
- کاهش استرس برای ماهی ها
- هزینه های پایین نیروی کار
- کم خطر برای تیم واکسیناسیون
- مؤثرترین روش برای تضمین ایمنی کوتاه مدت ماهیان کوچک.
- بسیار اثربخش، خصوصا در مورد واکسنهای زنده و تخفیف حدت یافته.
- مقدار واکسن مورد نیاز برای هر قطعه ماهی زیاد و لذا هزینه واکسن بالا.
- بسته به نوع آنتی ژن، سطح حفاظت پایین تا متوسطی ایجاد می کند.
- مدت زمان ایمنی کم بوده و نیاز به تکرار وجود دارد.

مقایسه روش‌های مختلف واکسیناسیون ماهی			
فاکتور	غوطه‌وری	تزریق	خوراکی
کاربرد	++	+	+++
استرس	±	-	+++
هزینه	++	-	++
اثربخشی	++	+++	±
طول دوره ایمنی	+	+++	±

۹- عوامل موثر در انتخاب روش واکسیناسیون:

- اندازه ماهی
 - نوع و سویه پاتوژن
 - واکسن تک سویه ای در مقابل چندگانه
 - نوع واکنش ایمنی مورد نیاز
 - مدت زمان حفاظت مورد نیاز
 - هزینه واکسن
- بطور مثال، از آنجا که بیماری IPN در حال حاضر عمدتاً در مراکز تکثیر قزل آلابی رنگین کمان در گروه سنی بچه ماهیان عمدتاً تا وزن ۲ گرم شایع می‌باشد، لذا اولویت با واکسن خوراکی و غوطه‌وری می‌باشد. همچنین لازم است واکسن بر اساس سویه‌های کشور تولید شده بصورتی که پوشش لازم بر علیه سویه A2 (SP) و ژنوتیپ V را ایجاد نماید.

۱۰- پروتکل واکسیناسیون

۱۰-۱- واکسن‌های تزریقی

از دو هفته قبل از واکسیناسیون

۱. سلامت ماهی‌ها را بررسی کنید.
۲. بررسی کنید که ماهی‌ها اندازه مناسب برای واکسیناسیون داشته باشند.
۳. اطمینان حاصل کنید که تیم واکسیناسیون از تاریخ واکسیناسیون برنامه ریزی شده آگاه باشند.
۴. اطمینان حاصل کنید که ماهی‌ها قبل از تاریخ واکسیناسیون تحت استرس قرار نخواهند گرفت.

یک هفته قبل از واکسیناسیون

۱. بررسی کنید که نوع و مقدار صحیح واکسن و لوازم تزریق در دمای یخچالی (۲ تا ۸ درجه سانتیگراد) نگهداری شود.
۲. تاریخ انقضا و کیفیت ظاهری واکسن را بررسی کنید.
۳. بررسی کنید که برند مناسب و مقدار کافی از مواد شوینده، ضدعفونی کننده و بیهوشی در محل وجود داشته باشد.

۴. بررسی کنید که سرنگ، میز و دستگاه واکسیناسیون و تجهیزات رقم بندی و پشتیبانی در محل وجود داشته و سالم باشند.

۵. بررسی کنید که تعداد کافی از سوزن های با قطر و طول مناسب در محل وجود داشته باشد.

۶. بررسی کنید که لوازم حفاظت در برابر خود تزریقی و نیز آدرنالین تزریقی (با تاریخ انقضا مناسب) در محل وجود داشته باشد.

۷. مطمئن شوید که "برگه خلاصه ویژگی های محصول (SPC) واکسن" بعنوان مرجع در دسترس باشد.
روز قبل از واکسیناسیون

۱. وضعیت سلامت، رفتار، اشتها و تلفات ماهی ها را بررسی کنید.

۲. بررسی کنید ماهی ها آماده واکسیناسیون بوده و متوسط اندازه آنها مناسب برای واکسیناسیون است.

۳. قبل از واکسیناسیون (۴۸ تا ۷۲ ساعت) غذاهای به ماهی ها را متوقف کنید.

روز قبل از واکسیناسیون

۱. بررسی کنید که تجهیزات واکسیناسیون و پشتیبانی تمیز و ضد عفونی شده و آماده استفاده باشند.

۲. مخازن / قفس های نگهداری ماهی های واکسینه باید تمیز و ضد عفونی شوند.

نکات عمومی قبل از شروع واکسیناسیون

۱. فقط ماهی سالم را واکسینه کنید.

۲. ماهی ها را وزن نموده و حداقل، حداکثر و متوسط وزن آنها را ثبت کنید.

۳. ضخامت دیواره بدن تعدادی از ماهی ها را بصورت تصادفی اندازه گیری کنید و حداقل، حداکثر و متوسط را ثبت کنید.

۴. بررسی کنید که سوزن با طول درست برای نفوذ ۱-۲ میلیمتر به حفره شکمی استفاده شود.

۵. تجهیزات تزریق به صورت استریل به ظروف واکسن متصل شوند.

۶. بررسی کنید که مواد و لوازم بیهوشی در دسترس و آماده باشند.

۷. غلظت ماده بیهوشی را با تزریق آزمایشی در تعدادی ماهی تنظیم کنید (رعایت ۴۵-۶۰ ثانیه).

۸. مطمئن شوید که "برگه خلاصه ویژگی های محصول (SPC) واکسن" بعنوان مرجع در دسترس باشد.

۹. مستندات ثبت سوابق واکسیناسیون را جدا از تعداد ماهی ها تکمیل و امضا کنید.

در طول واکسیناسیون

۱. سرعت بیهوش سازی را با میزان واکسیناسیون تنظیم کنید.

۲. به طور مداوم مت زمان ایجاد بیهوشی و زمان توقف در محلول بیهوشی را پایش کنید. اگر ماهی بیش از ۱-۲ دقیقه در محلول بیهوشی قرار داشته باشد ویا اگر زمان برای رسیدن به بیهوشی بیش از ۱-۲ دقیقه باشد موضوع را، جهت اصلاح روند کار، اعلام نمائید.

۳. برای اطمینان از ورود حداقل استرس و آسیب به مخاط و فلس ها، دستکاری تک تک ماهی ها باید به طرز ملایمی انجام شود.

۴. تک تک ماهی ها را از نظر هرگونه ناهنجاری آشکار بررسی کنید.
 ۵. تزریق باید در خط میانی، به اندازه ۱ تا ۱/۵ برابر طول باله شکمی جلوتر از قاعده باله شکمی، انجام شود.
 ۶. مطمئن شوید که کل دوز واکسن در حفره شکمی وارد شود.
 ۷. مکررا فلس های ماهی که به سوزن می چسبند را از آن پاک کنید.
 ۸. سوزن را بمحض آن که کند شد تعویض نمایید.
 ۹. مرتبا زمان برگشت از بیهوشی و هر گونه نشت واکسن از محل تزریق را پایش نمایید (بروی سطح مخزن ریکاوری مشاهده می شود).
 ۱۰. مرتبا تمام سطوح در تماس با ماهی را تمیز و ضد عفونی کنید.
 ۱۱. ماهی های واکسینه شده را در مخازن تمیز و ضد عفونی شده قرار دهید.
 ۱۲. تعداد ماهی در هر مخزن را در مستندات واکسیناسیون ثبت کنید.
 ۱۳. مستندات ثبت سوابق واکسیناسیون توسط شخص ثبت کننده تکمیل و امضا شود.
 ۱۴. در صورت رخداد تزریق اتفاقی به خود (Accidental Self-injection) ، فرد مجروح باید بلافاصله به مرکز پزشکی منتقل شود. برای اطلاع پزشک بایستی برگه اطلاعات ایمنی (Safety data Sheet) واکسن مورد استفاده به همراه برده شود.
- بعد از واکسیناسیون

۱. کیفیت واکسیناسیون را در تعدادی از ماهی ها که بطور تصادفی انتخاب می شوند، بررسی و نتایج را ثبت کنید.
۲. برای مدت چهار هفته پس از واکسیناسیون ماهی ها را دستکاری، رقم بندی و جابه جا نکنید.
۳. مستندات ثبت سوابق واکسیناسیون که توسط شخص ثبت کننده پاراف شده است باید توسط سرپرست تیم واکسیناسیون و مدیر سایت امضا شود.

تذکرات عمومی

۱. برای آن که واکسن موثر باشد، باید مطابق راهنمایی های مندرج در برچسب ها، نگهداری و تجویز شوند. در اکثر موارد واکسن ها باید در یخچال نگهداری شوند. دما یخچال باید، مطابق دستورالعمل واکسن، تحت نظارت باشد.
۲. تیم های واکسیناسیون باید ضوابط بهداشتی را بین سایت های مختلف یک مزرعه و بین مزارع رعایت کنند (عدم انتقال آلودگی های احتمالی).
۳. برای به حداقل رساندن میزان آسیب در طی واکسیناسیون، روش کار از لحاظ حمل ماهی ها به میز واکسیناسیون، دستکاری در طی فرایند بیهوشی و واکسیناسیون و نیز در هنگام بازگشت به مخازن نگهداری، باید طوری ترتیب داده شود که موجب به حداقل رساندن استرس دستکاری در ماهیان شود.
۴. سوزن واکسیناسیون باید به طور مرتب تعویض شود تا از آسیب دیدن ماهی و انتقال آلودگی از ماهی به ماهی دیگر جلوگیری شود.
۵. ظروف واکسن پس از باز شدن باید در طول عملیات واکسیناسیون آن روز مصرف شوند یا طبق دستورالعمل های تولید کنندگان معدوم شوند.

۱۰-۲- واکسن های غوطه وری

از یک هفته قبل از واکسیناسیون

۱. وضعیت سلامت، رفتار، اشتها و تلفات ماهی ها را بررسی کنید.
۲. بررسی کنید که اندازه ماهی ها مناسب برای واکسیناسیون باشند.
۳. بررسی کنید که نوع و مقدار صحیح واکسن در دمای یخچالی (۲ تا ۸ درجه سانتیگراد) نگهداری شود.
۴. تاریخ انقضا و کیفیت ظاهری واکسن را بررسی کنید.

روز قبل از واکسیناسیون

۱. بررسی کنید که تجهیزات واکسیناسیون و پشتیبانی تمیز و ضد عفونی شده و آماده استفاده باشند.
۲. مخازن / قفس های نگهداری ماهی های واکسینه باید تمیز و ضد عفونی شوند.
۳. ماهی ها را وزن نموده و حداقل، حداکثر و متوسط وزن آنها را ثبت کنید.
۴. مستندات سابقه واکسیناسیون را جدا از تعداد ماهی ها تکمیل و امضا کنید.
۵. مطمئن شوید که "برگه خلاصه ویژگی های محصول (SPC) واکسن" بعنوان مرجع در دسترس باشد.

در طول واکسیناسیون

۱. قبل از استفاده، بطری واکسن را بخوبی تکان دهید تا محتویات به طور یکنواخت مخلوط شوند.
۲. محتویات را بلافاصله پس از باز کردن رقیق کنید.
۳. واکسن را برطبق "برگه خلاصه ویژگی های محصول (SPC) واکسن" با استفاده از آب هچری رقیق کنید.
۴. واکسن های غوطه وری را با محصولات دیگر مخلوط نکنید.
۵. اطمینان حاصل کنید که دمای واکسن رقیق شده با دمای محیط نگهداری بیش از ۵ درجه سانتیگراد متفاوت نیست.
۶. ماهی را با توجه به اندازه آنها و حجم واکسن رقیق شده در چند دسته واکسینه کنید.
۷. از نظر زمان بندی غوطه وری ماهی، از مندرجات "برگه خلاصه ویژگی های محصول (SPC) واکسن" پیروی کنید.
۸. اطمینان حاصل کنید که تمامی پرسنل در تماس با واکسن یا ماهی های واکسینه شده از پوشش های حفاظتی مناسب از قبیل دستکش لاستیکی استفاده می کنند.
۹. مستندات ثبت سوابق واکسیناسیون را تکمیل و امضاء کنید.
۱۰. ظروف واکسن های استفاده شده را طبق دستورالعمل های تولید کننده معدوم نمائید.

۱۱- واکسن های موجود برای ماهی

۱۱-۱- نکات قابل توجه

- اولین واکسن های باکتریایی که بصورت تجاری به بازار عرضه شدند، واکسن های بیماری روده ای دهان قرمز (ERM, yersiniosis) و ویبریوز بودند که در اواخر دهه ۱۹۷۰ در آمریکا معرفی شدند. این واکسن ها بر پایه فرمولاسیون "تمام سلول غیرفعال شده" تولید شده و بطریق غوطه وری تجویز می شدند.

- اکثر واکسن های امروزی ماهی، برای صنعت پرورش ماهی سالمون و قزل آلا توسعه داده شده و تجاری شده اند، اما برای سایر گونه های پر ارزش آب شیرین و گونه های دریای نیز واکسن موجود است. خانواده سالمون ها، به رغم سهم نسبتا کوچک خود در کل حجم ماهی های تولید شده در جهان، در هر دو مورد مقالات علمی و فعالیتهای تجاری بیشترین تمرکز را بخود جلب مینمایند.
- موفق ترین کاربرد واکسن، استفاده در مبارزه با فرونکلوزیس (*A. salmonicida*) در ماهی قزل آلا بوده است.
- در دسترس ترین واکسن های ویروسی برای آبزیان پرورشی، مبتنی بر ویروس غیرفعال شده می باشند.
- واکسن های غیرفعال شده (کشته) ویروسی عموما تنها در صورتی کارآیی دارند که به طریق تزریق تجویز شوند؛ و از آنجا که برای دستیابی به حفاظت موثر نیاز به استفاده از دوزهای نسبتا بالا می باشد، تولید واکسن های ویروسی غیرفعال شده مقرون به صرفه دشوار است.
- هرچند تاکنون چند "واکسن های زنده ویروسی" با نتایج خوب در ماهی آزمایش شده و بنظر می رسد اینگونه واکسن ها از لحاظ ایجاد حفاظت، روش تجویز و قیمت مطلوب باشند، لیکن جنبه های ایمنی محیط زیستی (*ecosafety*) این واکسن ها بعنوان نقصی عمده در نظر گرفته شده و در حال حاضر مانع کاربرد آنها بعنوان واکسن های تجاری است.

۱۱-۲- آنتی ژن های غیرفعال ثبت شده تجاری در جهان :

- IPN
- IHN
- VHS (تجربی)
- ISA (تجربی)
- Iridovirus
- *Aeromonas salmonicida*
- *Vibrio salmonicida*
- *Vibrio viscosus*
- *Vibrio ordalii*
- *Vibrio anguillarum*
- *Yersinia ruckerii*
- *Flavobacterium psychrophilum*
- *Flavobacterium columnarae*
- *Piscirickettsia salmonis*
- *Piscirickettsia piscicida*
- *Renibacterium salmoninarum*
- *Streptococcus iniae*
- *Lactococcus garvieae*
- *Edwardsiella ictaluri*

۱۱-۳- بیماریهای ماهی که در نقاط مختلف جهان واجد واکنش های تجاری هستند (براساس چند منبع).

ردیف	بیماری	نوع واکنش	مناطق توزیع و بکارگیری	گونه های ماهی
۱	<i>Aeromonas hydrophila</i>	غیرفعال (باکترین)، زنده تخفیف حدت یافته	جهانی	آزادماهیان ، ماهیان آب شیرین / ماهیان آب دریا
۲	<i>Aeromonas salmonicida</i> Atypical /Carp Erythrodermatitis (Ulcer disease)	غیرفعال (باکترین)	جهانی	آزادماهیان ، ماهیان آب شیرین / ماهیان آب دریا
۳	<i>Aeromonas salmonicida</i> <i>salmonicida</i> (Furunculosis)	غیرفعال (باکترین)	اروپای شمالی ، کانادا / ایالات متحده آمریکا	آزادماهیان
۴	Bacterial kidney disease (<i>Renibacterium salmoninarum</i>)	غیرفعال (باکترین)، زنده تخفیف حدت یافته	شیلی ، کانادا / ایالات متحده آمریکا	آزادماهیان
۵	<i>Edwardsiella ictaluri</i> (Enteric septicaemia of catfish)	غیرفعال (باکترین)، زنده تخفیف حدت یافته	ایالات متحده آمریکا	گره ماهی
۶	Enteric Redmouth/ <i>Yersinia</i> <i>ruckeri</i> (ERM)	غیرفعال (باکترین)	اروپا ، شیلی	آزادماهیان ، ماهیان آب شیرین
۷	<i>Flavobacterium columnare</i> (<i>Columnaris</i>)	غیرفعال (باکترین)	ایالات متحده آمریکا-شیلی	گره ماهی کانال- آزادماهیان ، ماهیان آب شیرین
۸	<i>Flavobacterium psychrophilum</i> (<i>Flavobacteriosis</i>)/Rainbow trout fry syndrome (RTFS)	غیرفعال (باکترین)	شیلی ، کانادا / ایالات متحده آمریکا	آزادماهیان ، ماهیان آب شیرین
۹	Infectious haematopoietic necrosis (IHN)	غیرفعال (کشته)، DNA واکنش	کانادا، ایالات متحده آمریکا	آزادماهیان
۱۰	Infectious pancreatic necrosis (IPN)	غیرفعال (کشته)، DNA واکنش	جهانی	آزادماهیان
۱۱	Infectious salmon anaemia virus (ISA)	غیرفعال (کشته)	شیلی، کانادا، ایالات متحده آمریکا، نروژ	آزادماهیان

	انگلستان			
آزادماهیان، آزادماهی اقیانوسی	انگلستان، نروژ، ایرلند و اسکاتلند	غیرفعال (کشته)	Salmonid Alphavirus (SA)/ Pancreas disease (PD)	۱۲
قزل آلی رنگین کمان - آمبرجک /یلوتیل	ایتالیا، فرانسه، انگلستان - ژاپن	غیرفعال (بakterin)	Lactococcosis (Lactococcus garvieae)	۱۳
سیباس، سبیریم	مدیترانه	غیرفعال (بakterin)	Pasteurellosis (Photobacterium damsela subspecies piscicida)	۱۴
آزادماهیان	شیلی	غیرفعال (بakterin)	Piscirickettsia salmonis (Piscirickettsiosis)	۱۵
۲۶ گونه ماهی از جمله استریپاس هیبرید، تیلاپیا، قزل آلی رنگین کمان	جهانی	غیرفعال (بakterin)	Streptococcus agalactiae	۱۶
۲۶ گونه ماهی از جمله استریپاس هیبرید، تیلاپیا، قزل آلی رنگین کمان	جهانی	غیرفعال (بakterin)	Streptococcus iniae	۱۷
آزادماهیان، کاد/هالیپوت، سیباس، سبیریم، آمبرجک /یلوتیل	جهانی	غیرفعال (بakterin)	Vibrio anguillarum	۱۸
آزادماهیان	اروپای شمالی، کانادا / ایالات متحده آمریکا	غیرفعال (بakterin)	Vibrio salmonicida (Coldwater vibriosis)	۱۹
قزل آلی، سیباس	اروپا	غیرفعال (بakterin)	Vibrio spp (Warm water vibriosis)	۲۰
سیباس آسیایی، سیباس اروپا	ژاپن، اروپا	غیرفعال (کشته)	Viral encephalopathy and retinopathy/ Viral nervous necrosis (VNN)	۲۱
آزادماهیان	اروپای شمالی	غیرفعال (بakterin)	Wound disease (Moritella viscosa)	۲۳

۱۲- مراحل کلی توسعه و تولید واکسن ها

- جداسازی و شناسایی میکرو ارگانیسم عامل
- ایجاد تغییرات لازم در میکرو ارگانیسم منشاء و تولید میکرو ارگانیسم واکسن
- کشت و تکثیر میکروارگانیسم واکسن، یا آنتی ژن های هدف به طریقی دیگری
- غیر فعال کردن یا کشتن میکرو ارگانیسم ها (برای واکسن های غیر فعال شده)
- تایید اینکه واکسن عاری از عوامل خارجی است
- تایید اینکه واکسن برای گونه های مورد نظر، انسان و محیط زیست بی خطر است
- تأیید این است که در پیشگیری یا حداقل کاهش اثرات بیماری هدف موثر است
- فرموله کردن واکسن در یک حلال و حامل مناسب با یا بدون یاور ایمنی و بسته بندی برای تسهیل ذخیره سازی

۱۳- عوامل موثر در توسعه و تولید واکسن های جدید

در توسعه و تولید واکسن های آبزبان در آینده بایستی از این عوامل سود برد:

- افزایش دانش درمورد سیستم ایمنی ماهی
- افزایش دانش درمورد مکانیزم های پاتوژنز و حدت
- ایمن سازی غیر فعال
- محرک های ایمنی
- سیستم های بیان جدید
- بهبود یافته ها در مورد یاورهای ایمنی
- سیستم های تجویز دهانی
- بهبود واکسن های حاصل از فناوری زیستی

۱۴- انواع فناوری های زیستی در تولید واکسن های ماهی

علاوه بر فناوری های متعارف شامل زنده تخفیف حدت یافته (ATTENUATED) و ویروس غیرفعال شده (INACTIVATED) یا باکتری کشته شده (BACTRIN)، انواع فناوری های زیستی در تولید واکسن های ماهی بکار می رود. فناوری های زیستی عبارتند از جداسازی قطعاتی از DNA/RNA یک میکروارگانیسم بیماریزا، که کدگذاری بخش های ایمنی زای آن (پروتئین های سطحی) را بعهدده دارند، و سپس قرار دادن آن قطعات در مولکول های DNA یک حامل (یعنی پلاسمید ها، باکتری ها یا ویروس های غیر بیماریزا) و نهایتاً تکثیر حامل و بیان پروتئین ایمنی را برای تحریک سیستم ایمنی.

- واکنس های حامل نوترکیب (RECOMBINANT VECTOR): در این فناوری، یک باکتری یا ویروس غیربیماریزا بعنوان یک حامل، ژن کدکننده بخش های ایمنی زای (پروتئین سطحی) جرم مورد نظر برای واکسیناسیون را در ژنوم خود دریافت نموده و سپس آن باکتری یا ویروس تکثیر و برای تولید بذر واکنس (کشته و یا زنده) بکار گرفته می شود.

- واکنس های تحت واحد (RECOMBINANT SUBUNIT): یک واکنس تحت واحد در واقع بخش ایمنی زای (پروتئین سطحی) یک جرم بیماریزا است که برای تحریک ایمنی اکتسابی علیه آن جرم بیماریزا خالص شده است. برای تولید آن، قطعات کدکننده بخش ایمنی زای از DNA/RNA جرم مورد نظر واکسیناسیون جدا شده و به مولکول های DNA یک حامل (یعنی پلاسمید یا ویروس) وارد می شوند. این حامل ها به پذیرنده های نظیر باکتری ایکولای، انواعی از مخمرها یا سلولهای کشت شده حشرات وارد شده و شروع به تکثیر و بیان پروتئین ایمنی زای گذشته می نمایند که پس از خالص سازی بعنوان واکنس بکار گرفته می شوند.

- واکنس DNA (DNA VACCINES): واکنس های DNA عبارتند از پلاسمید های باکتریایی حاوی ژن کدکننده پروتئین سطحی یک جرم بیماریزا که پس از تلقیح به بافت مناسب میزبان، توسط سلولهای میزبان (مثلا عضلات بدن ماهی) جذب و شروع به تولید پروتئین ایمنی زای جرم مورد نظر نموده و با تحریک سیستم ایمنی ایجاد پاسخ های ایمنی خاص می کنند. پلاسمید خالص تلقیح شده، به داخل سلول های میزبان وارد شده و در هسته سلول بصورت خارج کروموزومی پایدار می شود. اخیرا مشخص شده است که جذب و بیان مولکول های DNA نوترکیب برهنه (بدون پلاسمید) در سلول های عضلانی پستانداران و ماهی ها پس از تزریق امکان پذیر می باشد.

۱۵- بی خطری (Safety)

در کلیه مراحل تحقیق و تولید واکنس ها، خصوصا واکنس های زنده حاصل از بیوتکنولوژی، رعایت مباحث بی خطری (Safety) در دام هدف، انسان و محیط زیست، و انجام ارزیابی های مربوطه ضروری می باشد. رهاسازی و استفاده از واکنس های وارداتی و تولیدی منوط به تأیید آن براساس استانداردهای مندرج در منوال OIE و ثبت آن مطابق دستورالعمل مربوطه می باشد.

۱۵-۱- اهمیت اطلاعات لازم جهت ارزیابی بی خطری (Safety) واکنس

- ۱- مشخصات میکروارگانیسم واکنس
 - ا. هویت میکروارگانیسم منشاء
 - ب. منبع و جداسازی میکروارگانیسم واکنس
 - ج. روشهای غربالگری و پروتکل های مورد استفاده در شناسایی و خالص سازی میکروارگانیسم واکنس
 - د. تاریخچه پاساژهای میکرو ارگانیسم واکنس
 - ه. میکروارگانیسم های بالقوه آلوده کننده
 - و. تست های خلوص (Purity) و شناسایی عوامل خارجی بالقوه در بذر واکنس

- ۲- فرآیندهای های کشت و برداشت
- ۳- فرآیندهای های تهیه محصول از کشت برداشت شده
- ۴- فرآیندهای غیر فعال سازی برای محصولات کشته شده
- ا. تایید اعتبار فرآیندهای غیر فعال سازی برای میکروارگانیزم محصول
- ب. تایید اعتبار فرآیندهای غیر فعال سازی برای میکروارگانیزم های آلوده کننده بالقوه
- ۵- مواد اولیه با منشاء حیوانی و سلول های مورد استفاده در تولید
- ا. هویت و منبع
- ب. فرآیندهای کنترل کیفیت و/ یا روش های استریل کردن
- ج. میکروارگانیزم های بالقوه آلوده کننده مواد اولیه با منشاء حیوانی و سلول های مورد استفاده
- د. تست های خلوص (Purity) و شناسایی عوامل خارجی بالقوه
- ۶- محیط های کشت و مواد افزودنی مورد استفاده در تولید
- ا. هویت و منبع
- ب. فرآیندهای کنترل کیفیت و/ یا روش های استریل کردن
- ج. میکروارگانیزم های بالقوه آلوده کننده محیط های کشت و مواد افزودنی
- د. تست های خلوص (Purity) و شناسایی عوامل خارجی بالقوه
- ۷- فرآیندهای کنترلی طی تولید
- ۸- فرآیندهای کنترلی محصول نهایی.
- ۹- بیخطری در دام هدف
- ا. تجویز تک دوز
- ب. تجویز چندبرابر دز
- ۱۰- ملاحظات ویژه برای واکسن های زنده
- ا. انتشار سویه واکسن در محیط
- ب. توزیع سویه واکسن در بدن حیوان واکسینه شده
- ج. احتمال برگشت به حدت سویه واکسن تخفیف حدت یافته
- د. احتمال نوترکیبی یا نوتریبی ژنوم سویه واکسن با ماده ژنتیکی سایر اجرام یا دام میزبان
- ۱۱- ایمنی کاربران
- ۱۲- بررسی باقیمانده ها
- ۱۳- ارزیابی خطر محیطی
- ۱۴- اثرات متقابل (سویه واکسن با سایر واکسنها و داروها)

۱۵-۲- الزامات ایمنی اضافی برای "واکسن های حاصل از فناوری زیستی"

۱. ارائه جزئیات توالی ژنی نشانگرهای ژنتیکی (Genetic Markers) سویه مورد استفاده در تهیه میکروارگانسیم واکسن، بمنظور فراهم کردن امکان پایش پراکندگی یا استقرار میکروارگانسیم واکسن بمحض رهاسازی آن در محیط.
۲. پایداری ژنتیکی (Genetic stability) میکروارگانسیم واکسن بایستی در بالاترین سطح پاساژ مورد استفاده در تولید نشان داده شود.
۳. اثرات فنوتیپی (phenotype effects) هر تغییر ژنتیکی باید به طور کامل ارزیابی شود تا اطمینان حاصل شود که تغییرات ژنتیکی هیچ اثرات غیر منتظره ای ایجاد نمی کند.
۴. اثرات هرگونه دستکاری ژن بر بیماری زایی سویه (pathogenicity) بایستی بررسی گردد.
۵. بمنظور ارزیابی تغییرات احتمالی در گرایش بافتی (tissue tropism) سویه مورد استفاده، باید مطالعات لازم در حیوان هدف انجام شود.
۶. بمنظور ارزیابی احتمال ادغام ژن های (integration of genes) مشتق شده از وکتور به ژنوم میزبان باید مطالعات لازم در حیوان هدف انجام شود.
۷. بمنظور ارزیابی پتانسیل انتقال افقی یا نوترکیبی ژن ها، از جمله خطر نوتریبی / نوترکیبی (reassortment / recombination) با همتایان وحشی سویه مورد نظر و بی مهرگان، باید مطالعات لازم انجام شود.
۸. بمنظور ارزیابی پتانسیل نوتریبی / نوترکیبی (reassortment / recombination) با سایر عوامل عفونی که ممکن است به صورت تصادفی در واکسن واقع شوند، باید مطالعات لازم انجام شود.
۹. پتانسیل واکسیناسیون در ایجاد بیماری های خود ایمنی (autoimmune) باید مطالعه شود.
۱۰. پتانسیل بروز بعضی واکنش های نامطلوب در جمعیت واجد زمینه های ژنتیکی خاص (genetic predisposition) باید مطالعه شود.
۱۱. پتانسیل افزایش حساسیت به عفونت با همان عاملی که محافظت در برابر آن مد نظر است، به علت سطح ایمنی بالا در برابر میکروارگانسیم وکتور باید مطالعه شود.
۱۲. مطالعات لازم بمنظور ارزیابی اینکه آیا میکروارگانسیم واکسن در محیط منتشر می شود یا نه و ارزیابی میزان و مدت انتشار سویه واکسن (extent and duration of vaccine shedding) باید انجام شود.
۱۳. سویه های نوترکیب که به محیط زیست منتشر می شوند باید از نظر بی خطری در گونه های غیر هدف (non-target species) و همچنین گونه های پستاندار مورد ارزیابی قرار گیرند
۱۴. توانایی سویه های نوترکیب برای بقاء در محیط (persist in the environment) در شرایط میدانی باید مورد بررسی قرار گیرد.

۱۵. احتمال مواجهه انسان، از طریق مسیرهای مستقیم و غیر مستقیم باید شناسایی و ارزیابی شود.

۱۶. پیامدهای احتمالی مواجهه انسان باید شناسایی و ارزیابی شود.

۱۷. حدت مورد انتظار (expected virulence) میکروارگانیزم واکسن در انسان باید مطالعه شود.

۱۸. خطر برای افراد مبتلا به نقص ایمنی (immunocompromised) باید مطالعه شود.

۱۵-۳- الزامات ایمنی اضافی برای " DNA واکسن ها "

درخصوص DNA واکسن های با مصرف دامپزشکی، برای انجام ارزیابی خطر، برخی جنبه های ایمنی به شرح زیر بایستی در نظر گرفته شود:

۱. اطلاعات در مورد پلاسمید و ژن مورد نظر: شرح مفصلی از پلاسمید DNA شامل اطلاعات مربوط به منشا و توالی نوکلئوتید ژن/ژنهای کدکننده پروتئین (یا پپتید).

۲. توزیع بیولوژیکی (Biodistribution) و پایداری: مطالعات توزیع بیولوژیکی DNA واکسن و پایداری آن در پستانداران یا ماهیان پس از تزریق (DNA پلاسمید بعد از تزریق، در بافت هایی مانند قلب و کلیه ماهی ردیابی شده).

۳. ادغام کروموزومی (Chromosomal integration): پتانسیل ادغام DNA پلاسمید به ژنوم میزبان منجر به اختلال در بیان ژن میزبان؛ و امکان ادغام در کروموزوم جنسی و ارث بردن توسط فرزندان،

۴. واکنش های ایمنی ناخواسته پس از واکسیناسیون با DNA واکسن: القا پاسخ های خود ایمنی (از آنجا که در یک DNA واکسن DNA حامل، یک پلاسمید از منشا باکتریایی است، ممکن است فعالیت محرک ایمنی ذاتی نیز داشته باشد)؛ واکنش زایی موضعی (Local Reactogenicity) و سمیت سیستمیک (تخریب بافت به علت پاسخ های سیتوتوکسیک)؛ تخریب یا آسیب رساندن به سلول ها، بافت ها و اندام ها به علت پاسخ التهابی ناشی از DNA واکسن؛ واکنش های آلرژیک (التهاب محل تزریق)؛ ایجاد تحمل به واکسن های DNA،

۵. انتشار محیطی DNA واکسن ها: DNA پلاسمید می تواند در برابر شکست در محیط، مقاوم باشد. پتانسیل رهاسازی ناخواسته محصولات DNA در محیط زیست؛ بقای DNA پلاسمید در محیط و جذب بالقوه این DNA توسط سایر موجودات در محیط زیست؛ پتانسیل انتشار آن از طریق حیوانات شکارچی؛ استفاده از نشانگرهای انتخاب مقاومت آنتی بیوتیکی (antibiotic resistance selection markers)، اگر پلاسمید هایی حاوی چنین ژن هایی وارد محیط شوند می تواند نگران کننده باشد.

۶. خطرات ناشی از کاربرد اضافی ژن های کدکننده سیتوکین ها یا مولکول های محرک ایمنی.

۷. به لحاظ ایمنی انسان، هرچند با احتمال کم، احتمال مواجهه و اثرات نامطلوب ناشی از هر دو طریق مستقیم (تزریق به خود توسط واکسیناتورها) و مسیرهای غیر مستقیم باید شناسایی شود.

۱۶- الویتها و برنامه های سازمان دامپزشکی

۱- باعنایت به وضعیت اپیدمیولوژیک بیماریهای آبزیان در کشور و سیاستها و برنامه های کنترلی و پیشگیری فعلی این سازمان ، درحال حاضر هیچگونه برنامه واکسیناسیون اجباری در آبزیان اجرا نشده و کاربرد تجاری واکسن برای پیشگیری و کنترل بیماریهای آبزیان در ایران محدود به واکسن بیماری باکتریایی استرپتوکوکوزیس می باشد، که از محل تولید داخلی (حاوی سویه های موجود کشور شامل لاکتوکوکوس گارویه و استرپتوکوکوس اینیایی) تامین شده و در موارد ضرورت در مزارع و مناطق با سابقه آلودگی براساس تشخیص و زیر نظر دامپزشکان مسئول فنی و بهداشتی مزارع تجویز و استفاده می شود. لذا این سازمان هیچگونه تعهدی درخصوص پیش بینی میزان و حجم واکسن مصرفی نداشته و این میزان متاثر از تقاضای مزارع خواهد بود.

ضمنا واکسن تولید داخلی بر علیه بیماری دهان قرمز (یرسینیوزیس) حاوی بیوتیپ های رایج کشور درحال طی نمودن مراحل نهایی ثبت در سازمان دامپزشکی بوده و بمحض صدور مجوزهای لازم، همانند واکسن استرپتوکوکوزیس بکار گرفته خواهد شد.

۲- هرچند برای تعدادی از بیماریهای آبزیان نظیر VHS هنوز تحقیقات منجر به تولید واکسن تجاری مناسبی در سطح جهان و این پژوهش ها همچنان ادامه دارد، لیکن نظر به توسعه روز افزون آبی پروری ، خصوصا سیستم پرورش در قفس، و لزوم افزایش سطح بهداشتی و بهره وری تولید در این صنعت، پیش بینی می شود با تغییر در استراتژی و برنامه مدیریت این بیماری ها، در آینده کاربرد واکسن علیه بیماریهای زیر گسترش یابد:

- Infectious haematopoietic necrosis (IHN)
- Infectious pancreatic necrosis (IPN)
- Viral haemorrhagic septicaemia (VHS)
- Viral encephalopathy and retinopathy/ viral nervous necrosis (VNN)
- Furunculosis(Aeromonas salmonicida subsp.salmonicida)
- Pasteurellosis (Photobacterium damsela subspecies piscicida)

۳- سازمان دامپزشکی کشور بعنوان متولی قانونی تامین بهداشت دام و فرآورده های دامی که وظیفه سیاست گذاری و برنامه ریزی درخصوص پیشگیری و کنترل بیماریهای آبزیان بعهده دارد، ضمن استقبال و حمایت از توسعه فعالیتهای تحقیقاتی در زمینه تولید و کاربرد واکسن های آبزیان، براساس وظایف و تکالیف قانونی خود ملزم به نظارت دقیق بر اینگونه فعالیتهای تحقیقاتی از جنبه تطابق با سیاست ها و برنامه های کلان پیشگیری و کنترل بیماریها ، بحث ایمنی

جمعیت دامی، انسانی و زیست محیطی و نیز مباحث حقوقی، بوده و از تمامی اساتید و محققین محترم مراکز دانشگاهی و تحقیقاتی انتظار دارد مطابق قوانین و آئین نامه های قانونی، سازمان دامپزشکی کشور را در جریان دقیق فعالیتهای خود قرار دهند.

باتوجه به تبصره ذیل ماده ۶ " آئین نامه مبارزه با بیماریهای دامی و جلوگیری از سرایت و انتشار آنها" مصوب جلسه مورخ ۱۳۹۰/۱۲/۰۷ هیئت محترم وزیران، ضروریست اجرای پژوهش های کاربردی درخصوص عوامل بیماری زای واگیر دامی، ازجمله موضوع واکسنهای آبزبان، توسط کلیه اشخاص حقیقی و حقوقی، با هماهنگی و رعایت شیوه نامه های سازمان دامپزشکی کشور انجام شود.

۴- تجاری سازی و استفاده از تمامی واکسن های تولید داخل منوط به اثبات کارایی، ایمنی زایی و بی خطری (Safety) واکسن پس از اتمام مراحل تحقیقاتی و تأیید آن براساس ضوابط و استانداردهای ملی و بین المللی (OIE, FAO) مربوطه و طی نمودن مراحل قانونی ثبت مطابق دستورالعمل سازمان (دفتر دارو و درمان) خواهد بود.

۵- باتوجه به اهمیت مباحث بی خطری (Safety) مربوط به واکسن های زنده و پیچیدگی ارزیابی و پایش خطرات اینگونه واکسن ها در دام هدف، انسان و محیط زیست، درحال حاضر استفاده از واکسنهای کشته مد نظر این سازمان است.