



وزارت جهاد كشاورزی



جمهوری اسلامی ایران

دستورالعمل اجرایی طرح کنترل

مایکوپلاسما (MS/MG)

در مزارع ماکیان مولد صنعتی

دفتر بهداشت و
مدیریت بیماریهای
طیور، زنبور عسل و
کرم ابریشم

آدرس: تهران، خیابان ولیعصر، دوراهی یوسف آباد،
ابتدای خیابان سیدجمال الدین اسدآبادی، ساختمان
سازمان دامپزشکی کشور

تلفن: ۸۸۹۶۲۳۸۰ - ۸۸۹۵۰۸۷۶

دور نویس: ۸۸۹۵۷۲۵۲

WWW.IVO.IR

پایگاه اینترنتی:

مقررات ملی دامپزشکی
۴۰۰/ط/۱/IVO

بازنگری

بهار ۱۴۰۲

به نام خدا

فهرست

..... مقدمه

..... ماده ۱: هدف

..... ماده ۲: تعاریف، واژه ها و اصطلاحات

..... ماده ۳: دامنه کاربرد

..... ماده ۴: مسئولیت اجراء

..... ماده ۵: قوانین و مقررات مرتبط

..... ماده ۶: ضوابط و مراحل اجرایی

..... ماده ۷: شرح وظایف دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های طیور، زنبور عسل

..... ماده ۸: شرح وظایف اداره کل

..... ماده ۹: شرح وظایف مدیریت و مسئول فنی و بهداشتی مزرعه

..... ماده ۱۰: شرح وظایف مرغدار گوشتی

به نام خدا

مقدمه:

مایکوپلاسما گالی سپتیکوم به عنوان یکی از عوامل اصلی ایجاد بیماری مزمن تنفسی (CRD) در پرندگان به خصوص در مرغ، خروس و بوقلمون شناخته شده است. بیماری در سرتاسر جهان گسترش دارد و باعث وارد آمدن خسارات عظیم اقتصادی به پرورش طیور به ویژه طیور صنعتی می شود. طیور بومی و روش های غیر صنعتی و متراکم پرورش طیور و پرندگان آزاد پرواز از دلایل پایداری و ماندگاری عامل بیماری در طبیعت هستند.

برنامه کنترل بهداشتی مایکوپلاسما گالی سپتیکوم - سینوویه با هدف ارزیابی کیفی شاخص های بهداشتی - قرنطینه ایی بکار گرفته شده در فارم پرورش و با بکارگیری تست غربالگری RSA و آزمایشات تکمیلی تحت نظارت سازمان دامپزشکی آغاز شد. با توجه به اینکه آلودگی گله های مولد در دوره تولید می تواند منجر به خسارت اقتصادی قابل توجه به واسطه کاهش تولید و کاهش جوجه درآوری و کیفیت نامناسب جوجه های نتاج در طی دوره پرورش شود. لذا با توجه به اهمیت و نیاز به روزرسانی دستورالعمل های ابلاغی (۱۰۲، ۱۰۳، ۱۰۴، وحدت رویه)، این بازنگری انجام و صرفاً "مفاد این دستورالعمل از زمان ابلاغ، لازم به اجرا می باشد.

ماده ۱: هدف:

- ۱- اعمال مدیریت مناسب برگله های مولد و گله های جوجه گوشتی در حال پرورش به دلیل مخاطرات بهداشتی و افزایش امکان درگیری گله با اجرام بیماری زا
- ۲- تولید و پرورش جوجه های یک روزه عاری از سویه بیماریزا و افزایش کیفیت جوجه یکروزه
- ۳- تعیین ژنوتیپ های غالب مایکوپلاسما در گله های مولد و گوشتی کشور
- ۴- وحدت رویه در اعمال ضوابط بهداشتی و کنترلی مایکوپلاسما در گله های مولد و گله های گوشتی در سطح کشور

ماده ۲ : تعاریف و واژه ها :

سازمان : سازمان دامپزشکی کشور

دفتر بهداشت طیور : دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های طیور، زنبور عسل و کرم ابریشم

اداره کل : اداره کل دامپزشکی استان

سامانه : سامانه الکترونیک پایش و مراقبت بیماری های پرندگان، زنبور عسل و کرم ابریشم (GIS)
مسئول فنی - بهداشتی : به دامپزشک مجری و هماهنگ کننده مقررات و ضوابط فنی و برنامه های بهداشتی در حوزه مزارع مرغ مولد، واحد های جوجه کشی و گله های گوشتی اطلاق می گردد.

پرورش دهنده : شخصیت حقیقی یا حقوقی است که دارای مزرعه پرورش و نگهداری طیور بوده و جوجه های مورد نیاز خود را از تولیدکنندگان جوجه یکروزه یا پرورش دهندگان پोलت مجاز به صورت بیمه شده خریداری نموده و دارای بیمه نامه معتبر میباشد.

تولید کنندگان طیور : به کلیه اشخاص حقیقی یا حقوقی که دارای مجوز قانونی بوده و به امر پرورش و نگهداری طیور اعم از لاین، اجداد و مادر به منظور تولید جوجه یکروزه اشتغال دارند اطلاق میگردد.
جوجه یکروزه : جوجه هایی که از تخم نطفه دار در داخل جوجه کشی تولید و برای پرورش و تولید گوشت و یا تخم خوراکی به پرورش دهندگان عرضه میگردد.

گله های مولد : به مجموعه ای از طیور ماده و درصد مشخصی طیور نر گفته می شود، که به منظور تولید تخم نطفه دار نگهداری می شوند.

ماده ۳ : دامنه کاربرد :

این دستورالعمل در مزارع طیور صنعتی (لاین، اجداد، مادر، تخمگذار تجاری و نیمچه گوشتی) کاربرد دارد.

ماده ۴ : مسئولیت اجراء :

اداره کل مسئول اجرای این دستورالعمل می باشد و تمامی صاحبان واحدهای تولیدی و پرورش دهنده طیور کشور موظف به رعایت مفاد آن و همکاری با اداره کل هستند.

ماده ۵ : قوانین و مقررات مرتبط :

۱-آیین نامه مبارزه با بیماری های دامی و جلوگیری از سرایت و انتشار آنها مصوب ۱۳۹۱/۶/۲۹

۲-ماده (۴) قانون سازمان دامپزشکی کشور مصوب ۱۳۵۰

ماده ۶ - ضوابط و مراحل اجرایی :

الف : روشهای تشخیص :

۱- روش سرمی RSA (Rapid Serum Agglutination) : روش متداول برای مونیتورینگ گله ها به ویژه گله های مولد و تخمگذار است و در تمامی کشورهای دنیا رایج است که یک روش سریع حساس و کم هزینه به عنوان یک تست اولیه غربالگری در تعیین وضعیت گله ها استفاده می شود. این روش بدلیل شناسایی IgM، بهترین روش سرولوژی برای شناسایی در اوائل آلودگی (بویژه در ابتدای ابتلای گله به بیماری) به MG/MS می باشد.

۲- روش سرمی ELISA (Enzyme-linked immunoassay) : که نسبت به روش "راپید" اختصاصی تر است زیرا IgG را آشکار میکند و یک تست اختصاصی برای تشخیص و یا تایید تشخیص MG است. این روش می تواند برای آشکار سازی آنتی بادی در نمونه های زرده تخم مرغ هم بکار گرفته شود.

۳- روش سرمی HI (Hemagglutination Inhibition test) تست اختصاصی تشخیص بیماری است که نحوه تهیه و نگهداری آنتی ژن به کار رفته در این روش، کار تشخیص را مقداری با مشکل مواجه می کند و خیلی رایج نیست.

۴- روش های مولکولی واکنش زنجیره ای پلیمراز (polymerase chain reaction) PCR

یک روش سریع و اختصاصی می باشد که اساس آن مبتنی بر تکثیر یا شناسائی یک قطعه خاص از ژنوم می باشد. یکی از روش های سریع برای شناسایی مایکوپلازما، روشهای مبتنی بر شناسایی ژنوم DNA است که به طور مستقیم از بافت یا ترشحات استخراج میشود. به طور کلی نتایج آزمایشات PCR و به خصوص real time-PCR سریع مشخص می شوند. همچنین انواع تست های PCR نظیر Multiplex- PCR قادر هستند نتایج دقیقی را در حضور عفونت های مخلوط با چندین عامل عفونی، آلودگی با عفونت های باکتریایی ثانویه و حضور مهارکننده های رشد مایکوپلازما مثل آنتی بادی ارائه دهنده (کشت و جدا سازی مایکوپلازما نیاز به زمان طولانی تری دارد). در این روش بخشی از ژنوم مایکوپلازما گالی سبتیکوم که حاوی قطعه RNA 16S از ژنوم می باشد، توسط سواب های گرفته شده از ترشحات شکاف کام در ناحیه حلقی پرنده تکثیر یافته که در صورت وجود میزان کافی از جرم مایکوپلازما و روش صحیح نمونه برداری، نتیجه تست مولکولی مثبت خواهد بود. اخذ نمونه سواب باید حتماً در هفته های اولیه آلوده شدن گله به مایکوپلازما صورت گیرد تا نتیجه آزمایش معتبر باشد و در صورت گذشت زمان (حداکثر ۳ هفته از شروع آلودگی)، نمونه برداری و نتیجه آزمایش مورد تأیید نخواهد بود.

۵- کشت و جدا سازی : این روش قطعی بوده اما پرهزینه و زمان بر می باشد همچنین مایکوپلازماها به سختی در محیط های کشت رشد می کنند و به زمان بیشتری نیاز می باشد.

نحوه نمونه گیری و آزمایشات لازم جهت ردیابی (پایش) و تشخیص MG/MS در فارمهای لاین، اجداد، مادر، تخمگذار تجاری و نیمچه گوشتی :

۱- نمونه گیری:

- در فارمهای زیر ۲۰ هزار قطعه از هر فارم به میزان حداقل ۷۵ نمونه خون (حداقل ۶۰ نمونه سرمی) تهیه گردد. (۲۳-۲۵ نمونه خون از هر سالن)

- در فارمهای با جمعیت بین ۲۰ هزار تا ۴۰ هزار قطعه از هر فارم به میزان حداقل ۱۲۰ نمونه خون (۹۰ نمونه سرم) تهیه گردد. (۲۳-۲۵ نمونه خون از هر سالن)

- در فارمهای با جمعیت بالای ۴۰ هزار قطعه نمونه گیری به میزان حداقل ۱۶۰ نمونه خون تهیه گردد. (۲۳-۲۵ نمونه خون از هر سالن)

- در فارمهای لاین و اجداد نمونه برداری ها در فواصل زمانی منظم ۳۰ روزه و تعداد نمونه به میزان حداقل ۲۵ نمونه سرم از هر سالن تهیه گردد.

شرایط فرد نمونه بردار :

الف - از پرسنل دامپزشکی بخش دولتی باشد.

ب- شاغل در بخش بهداشت و بیماری های طیور اداره کل و یا اداره دامپزشکی شهرستان بوده و آموزش های لازم در خصوص اخذ نمونه جهت آزمایشات سرولوژی و مولکولی را دیده باشد. نمونه برداری از واحدهای مرغ لاین و اجداد، صرفاً بایستی توسط کارشناسان اداره بهداشت و مدیریت بیماری های طیور اداره کل صورت گیرد.

ج- کارشناس نمونه بردار از واحد لاین و اجداد، حداقل از ۴ روز قبل و برای واحد مرغ مادر حداقل از ۲ روز قبل از نمونه گیری، نبایستی ترددی به واحد و یا مراکز وابسته به طیور داشته باشد.

۲- سن و روش نمونه برداری:

۲-۱ - نمونه گیری ها جهت تعیین وضعیت فارم از زمان جوجه ریزی تا شروع دوره تولید و قبل از ارسال اولین محموله تخم مرغ به جوجه کشی، بر عهده مسئول فنی بهداشتی و مدیریت فارم می باشد.

۲-۲ - اولین نمونه گیری نظارتی باید در ابتدای شروع دوره تولید (نشانه گذاری) در گله های مولد و حداکثر تا شش هفته بعد از تزریق آخرین واکسن روغنی انجام و به دنبال آن هر ۳۰ روز یکبار در گله های لاین و اجداد و هر ۴۵ روز یکبار در گله های مرغ مادر و توسط دامپزشکی بخش دولتی انجام گیرد.

۲-۳ - مسئول فنی بهداشتی فارم موظف به انجام نمونه برداری لازم و انجام آزمایشات سرمی به صورت دوره ای طبق دستورالعمل های صادره و اعلام نتیجه آن به اداره کل دامپزشکی استان و نیز درج در گواهی بهداشتی تخم مرغ نطفه دار تولیدی می باشد. در صورت وجود هرگونه شکایت احتمالی ملاک قضاوت نتایج آزمایشگاهی دامپزشکی بخش دولتی می باشد.

۲-۴ - برای نمونه برداری از فارم های لاین و اجداد به دلیل حساسیت بیشتر مدیریت بهداشتی فارم باید هماهنگی های لازم طبق یک برنامه مشخص زمانی و با رعایت پروتکل های بهداشتی صورت گیرد و در عین حال مدیریت مزارع اجداد موظف به همکاری و آماده سازی مقدمات کار جهت نمونه برداری می باشد.

۲-۵ - نمونه گیری از کلیه سالنها و در هر سالن، نمونه گیری به روش استاندارد (نمونه گیری ضربدری) انجام گیرد به نحوی که از طیور موجود در تمام نقاط سالن نمونه اخذ شود.

۲-۶ - خونگیری از ورید بالی انجام گیرد(در جوجه تا سن یک هفته، خونگیری از قلب و یا بریدگی گردن اخذ گردد).

۲-۷ - نمونه برداری از سالنها به تفکیک جنسیت (مرغ و خروس) و به نسبت جمعیت مرغ و خروس صورت گیرد.

۲-۸ - قراردادن سرنگ یا لوله محتوی خون برای مدت حدود ۲ ساعت در شرایط دمایی ۲۲ تا ۲۸ درجه سانتیگراد (دور از تابش مستقیم نور خورشید) و با زاویه ۳۰ درجه نسبت به خط افق صورت گیرد. ایجاد فضای خالی در داخل سرنگ، می تواند در جدا شدن بهتر سرم مؤثر باشد. سرمها بایستی شفاف و بدون همولیز باشند.

۲-۹ - نمونه خون اخذ شده باید به اندازه ای باشد که حجم سرم حاصل برای آزمایشات تست سریع و الیزا مناسب و کافی باشد. (حداقل ۱,۵ سی سی)

۲-۱۰- باقیمانده سرم بعد از انجام آزمایش رایید باید در ظروف کوچک مخصوص در دار، منجمد و نگهداری شود تا در صورت نیاز نسبت به انجام آزمایش تکمیلی الیزا بر روی همان نمونه سرم، اقدام گردد.

۳- نحوه ارسال نمونه به آزمایشگاه:

تمامی نمونه های اخذ شده بایستی با کد نمونه و به دور از آلودگی های محیطی و رعایت دمای مناسب بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شوند.

۴ - روش آماده سازی نمونه جهت ارسال به آزمایشگاه:

۴-۱ - در صورتیکه امکان انجام آزمایش RSA بلافاصله بعد از جداسازی سرم ها فراهم نباشد، نمونه های سرمی می تواند حداکثر تا ۴۸ ساعت در دمای ۸-۲ درجه سانتی گراد نگهداری شده تا در طی این مدت به آزمایشگاه برسند .

۴-۲ - سرم ها نباید بصورت منجمد شده جهت انجام آزمایش RSA ارسال گردد ولی برای آزمایش الیزا، سرم های منجمد قابل استفاده هستند.

۴-۳ - باقیمانده سرم ها همانگونه که قبل از این هم تأکید شد باید منجمد و تا مشخص شدن نتایج نمونه برداری بعدی از فارم، نگهداری شوند .

- نحوه بررسی و رسیدگی به شکایات آلودگی میکوپلاسمایی در جوجه های یکروزه تولیدی:

۱- درمورد جوجه های گوشتی و بر اساس دستورالعمل بررسی تلفات در هفته اول پرورش (ترجیحاً در سه روز اول بعد از هچ) در صورت شکایت پرورش دهنده، نمونه برداری به میزان ۱ در هزار (حداقل ۲۵-۲۳ نمونه خون از هر سالن) انجام شود. نمونه برداری باید توسط کارشناس دامپزشکی بخش دولتی انجام گیرد.

۲- در مورد جوجه های گوشتی انجام آزمایش الیزا بر روی سرم ها، وضعیت جوجه ها را از نظر میکوپلازما مشخص می نماید.

۳- در صورت مغایرت نتیجه آزمایشات با نتیجه مندرج در گواهی بهداشتی نتاج، موضوع توسط پرورش دهنده بر اساس دستورالعمل بررسی تلفات در هفته اول پرورش قابل پیگیری خواهد بود.

تبصره : در موارد رسیدگی به شکایات، نتایج آزمایشگاهی اداره کل و یا آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص سازمان دامپزشکی کشور معتبر و قابل استناد می باشد.

۴ - اداره کل موظف به انجام آزمایشات لازم در آزمایشگاه اداره کل و ارائه پاسخ حداکثر تا چهار روز اداری بعد از تاریخ نمونه برداری می باشد.

۵- مسئول فنی بهداشتی فارم (دکتر دامپزشک) موظف به تکمیل برگه بهداشتی تخم مرغ نطفه دار ارسالی به واحد جوجه کشی با استناد به نتایج آزمایشگاهی معتبر می باشد.

وظایف اداره کل :

۱- نمونه گیری های منظم و یا مورد نیاز به منظور پایش دوره ای بیماری میکوپلاسموزیس در مزارع مولد

۲- اعلام کتبی و رسمی نتایج آزمایشات پایش های دوره ای ، حداکثر تا ۴ روز بعد از نمونه برداری از فارم به مدیریت و مسئول فنی - بهداشتی فارم

۳- ابلاغ نتایج پایش های دوره ای به مدیریت مزارع مولد و اعلام موارد مثبت به دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های طیور و ادارات کل دامپزشکی استان ها

۴- پاسخگویی در خصوص اعتراضات مدیریت مزارع مولد و رفع ابهامات در زمینه نتایج پایش های دوره ای و هماهنگی با دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های طیور

۵- نظارت بر صحت درج اطلاعات در گواهی بهداشتی صادره از مزارع مولد در سیستم GIS

۶- در موارد خاص و در صورت عدم امکان انجام آزمایش در یک مقطع زمانی خاص در آزمایشگاههای دامپزشکی بخش دولتی، ارسال نمونه های اخذ شده مطابق ضوابط و با کد پیگیری به آزمایشگاه های مورد تأیید و همکار اداره کل و یا مرکز ملی تشخیص

۷- گله هایی که بر اساس ضوابط و مقررات در سیکل دوم تولید نگهداری می شوند، لازم است دستورالعمل مذکور تا پایان دوره در مورد آنها اجرا گردد.

وظایف مسئول فنی بهداشتی کارخانه جوجه کشی :

۱ - مسئول فنی بهداشتی کارخانه جوجه کشی، موظف است نسبت به تکمیل گواهی بهداشتی جوجه یک روزه با استناد به نتایج آزمایشگاهی معتبر درج شده در گواهی بهداشتی تخم مرغ نطفه دار اقدام

نماید. اعتبار نتایج آزمایشات برای MG/MS حداکثر ۴۵ روز برای گله های مرغ مادر و ۳۰ روز برای گله های مرغ لاین و اجداد از تاریخ نمونه برداری می باشد.

۲- در صورتیکه گله مولد از نظر MG/MS و براساس نتایج آزمایشات مثبت اعلام شود جوجه های تولیدی از تاریخ نمونه برداری، از نظر مایکوپلازما مثبت هستند که نتایج باید در گواهی بهداشتی جوجه های یک روزه تولیدی و سامانه ثبت گردد. درج عبارت MG/MS مثبت در کلیه گواهی های صادره برای تخم مرغ های نطفه دار تولید شده از تاریخ مثبت شدن مزرعه الزامی خواهد بود. در مورد جوجه های تولید شده در فاصله زمانی بین نمونه برداری از فارم و اعلام نتیجه قطعی به فارم و در صورت شکایت، دستورالعمل رسیدگی به شکایات جوجه یک روزه در هفته اول پرورش، ملاک رسیدگی خواهد بود

۳- مسئول فنی بهداشتی کارخانه جوجه کشی بلافاصله بعد از اعلام مثبت شدن مزرعه ارسال کننده تخم نطفه دار، موظف به تکمیل گواهی بهداشتی جوجه یکروزه تولیدی از همان روز به بعد و با استناد به نتایج آزمایشگاهی مثبت شدن گله می باشد.

ضوابط استفاده از واکسن و رصد و پایش گله های واکسینه شده با واکسن MS-H

مصرف واکسن MS-H در گله های مادر در دوره پرورش و در سن ۴ تا ۸ هفتگی و تنها در صورتی امکان پذیر است که از گله متقاضی و قبل از مصرف واکسن، نمونه برداری سرمی صورت گرفته و نتایج تست سریع (RSA) در رقت ۱/۸، منفی باشد. در این صورت اداره کل با ارسال نامه درخواست واکسن و مشخص کردن میزان واکسن درخواستی بر اساس میزان جوجه ریزی به متقاضی تحویل دهد تا نسبت به دریافت واکسن اقدام نماید. آنگاه اداره کل درخواست تحویل واکسن را به همراه میزان واکسن درخواستی بر اساس میزان جوجه ریزی به متقاضی تحویل داده و متقاضی موظف است حداکثر طی مدت ۷۲ ساعت نسبت به دریافت واکسن اقدام نماید. لازم به ذکر است که نتایج آزمایش RSA برای تقاضای واکسن، حداکثر تا ۷ روز بعد از زمان نمونه برداری از گله، دارای اعتبار می باشد.

در خصوص تمامی گله های مرغ مادر که بر اساس ضوابط و مقررات و در دوره پرورش واکسن مذکور را دریافت و مصرف کرده اند، لازم است در فاصله سن ۳۵ تا ۴۰ هفتگی با انجام نمونه برداری سواب حلقی از ناحیه نای در گله مرغ مادر واکسن خورده توسط بخش دامپزشکی دولتی و با انجام آزمایش HRM-PCR، نسبت به تشخیص تفریقی سویه واکسینال از سویه های وحشی (فیلد) مایکوپلازما سینوویه اقدام گردد.

تعداد سواب های اخذ شده از هر سالن ۱۰ عدد است که در شرایط به دور از آلودگی های محیطی به آزمایشگاه ارسال و با توجه به نتایج آزمایش مولکولی، نسبت به تعیین وضعیت گله مرغ مادر به میکوپلازما سینهویه به شرح زیر اقدام خواهد شد.

چنانچه نتایج آزمایشات مولکولی نشان دهنده جداسازی سویه واکسینال MS باشد، گله "واکسن MS مصرف کرده" و چنانچه نتایج مولکولی نشان دهنده جدا سازی سویه های وحشی و فیلدی MS باشد، گله "MS مثبت" و در مواردی که نتایج آزمایشات مولکولی از نظر HRM-PCR منفی باشد، گله "عاری از MS" محسوب خواهد گردید. این آزمایش برای گله های مرغ مادر متقاضی تولک بری، برای تعیین وضعیت گله از نظر MS و درج نتایج در گواهی بهداشتی جوجه یک روزه الزامی می باشد.

توضیح: این دستورالعمل دارای دو پیوست مربوط به فارم های لاین و اجداد و فارم های مرغ مادر می باشد.