



وزارت جهاد کشاورزی

سازمان دامپزشکی کشور

برنامه ملی مراقبت بیماری

ویروسی KHV در کشور

معاونت بهداشتی و پیشگیری

دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان

1400 دی ماه

مقدمه :

از آنجا که بیماریهای ویروسی ماهی ها غیر قابل درمان بوده و می توانند به سرعت همه گیر شده و موجب وقوع مرگ و میر و تلفات بالایی در جمعیت ماهی ها شوند و خسارات اقتصادی فراوان و گاهًا غیر قابل جبرانی به بار آورند، لذا از اهمیت بالایی برخوردار بوده و پیشگیری از بروز و وقوع آنها در زمرة اولویت های برنامه های بهداشتی سازمان دامپژوهشی کشور می باشد.

در این برنامه، مراقبت بیماری ویروسی (Koi Herpes Virus (KHV) که در کشور جزو بیماری های اگزوتیک بوده و نیز در گروه بیماری های اخطارکردنی سازمان بین المللی OIE قرار دارد، مورد نظر می باشد.

با توجه به این که خانواده ماهیان گرمابی از گونه های حساس و مستعد به این بیماری می باشند، برنامه مراقبت از بیماری KHV در گونه های گرمابی پرورشی (کپور معمولی)، کوی زیستی و ماهی قرمز انجام می گیرد. این برنامه از طریق اجرای مراقبت فعال در مراکز تکثیر و اجرای مراقبت غیرفعال در مزارع پرورش عملیاتی می گردد.

1. تعاریف:

1.1 بهر جمعیت (Lot) : گروهی از آبزیان در یک مرکز آبزی پروری که از یک گونه بوده و از یک جمعیت مولد پدید آمده و در یک واحد استخر قرار دارد و دارای منبع آب مشترک می باشند.

1.2. مراقبت (Surveillance) : بررسی مداوم و سیستماتیک که بر روی یک جمعیت آبزی هدف به منظور ردیابی وقوع بیماری با اهداف کنترلی که ممکن است نیازمند نمونه برداریهایی برای آزمایش کردن نیز باشد.

1.3. مراقبت فعال (Active) : بر اساس روش جمع آوری داده ها، مراقبت فعال به جمع آوری داده هایی مربوط می شود که بر اساس نمونه برداری جمعی با اهداف تعریف شده مشخص حمایت می شود. مراقبت فعال بررسی شیوع بیماری و مراقبت مخاطره محور و دیدهوری را در بر می گیرد.

1.4. مراقبت غیرفعال (Passive) : جمع آوری منفعل داده ها شامل گزارش موارد بالینی یا تحت بالینی مشکوک و گزارشات آزمایشگاهی توسط متخصصین، کلینیسین ها، پرورش دهنگان و سایر افراد به صلاحیت خودشان به مسئولین بهداشت و سلامت است.

1.5. مراقبت بر پایه عالیم بالینی (Clinical Base) : در این مدل، مراقبت بر اساس عالیم بالینی مشکوک به بیماری (Risk Base) و تلفات پایه ریزی می گردد و نمونه برداری فقط از موارد مشکوک رصد شده انجام می شود.

2. اهداف برنامه

1. پیشگیری از بروز و کنترل وقوع بیماری اخطارکردنی KHV
2. شناسایی مراکز تکثیر و مزارع پرورش آلوده KHV

3. عملیات اجرایی:

عملیات اجرایی در قالب مراقبت فعال و مراقبت غیرفعال صورت می گیرد.

در مراقبت فعال، مراکز تکثیر ماهیان گرمابی، مراکز تکثیر ماهیان کوی و قرمز و مزارع پرورش ماهیان گرمابی تحت مراقبت قرار می گیرند. در مراقبت غیرفعال، گزارش وقوع بیماری یا مشاهده علائم منتبه به آن در جمعیت ماهیان پرورشی و وحشی کشور مورد بررسی قرار می گیرد.

3.1. مراقبت فعال

با توجه به ردیابی ویروس عامل بیماری مورد اشاره در برنامه پایش و مراقبت سال 1400 مقرر گردید در سال آتی برنامه مراقبت KHV از مدل "Clinical Base" به مدل مراقبت هدفمند به همراه نمونه برداری (طبق جدول) تبدیل گردد، این برنامه بر اساس بازرگانی، معاینه، مشاهده علائم بالینی، ارزیابی بهداشتی و نمونه برداری هدفمند در مراکز انجام می شود و نمونه ها طبق برنامه ریزی استانی به آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص و یا آزمایشگاههای معین استانی (گیلان و خوزستان) ارسال می گردد.

الف- نمونه برداری و محدوده‌ی عملیات

- مراکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی
- مراکز تکثیر ماهی کوی و ماهی قرمز

جدول شماره (1) : لیست استان ها و تعداد مراکز تکثیر و پرورش فعال ماهیان گرمابی کشور

ردیف	نام استان	تکثیر	تکثیر و پرورش	پرورش
1	خوزستان	1	4	401
2	گیلان	0	5	667
3	مازندران	1	0	1055
4	آذربایجان غربی	0	1	10
5	گلستان	4	0	145
6	سیستان و بلوچستان	1	0	163
7	خراسان رضوی	0	1	88
8	کرمان جنوب	0	1	25
9	فارس	0	0	10
10	آذربایجان شرقی	0	0	31
11	اصفهان	0	0	23
12	البرز	0	0	2
13	ایلام	0	0	9
14	تهران	0	0	3
15	چهار محال و بختیاری	0	0	2
16	خراسان جنوبی	0	0	50
17	خراسان شمالی	0	0	1
18	زنجان	0	0	3

11	0	0	سمنان	19
3	0	0	قزوین	20
3	0	0	قم	21
6	0	0	کردستان	22
22	0	0	کرمان	23
2	0	0	کرمانشاه	24
15	0	0	لرستان	25
1	0	0	مرکزی	26
1	0	0	هرمزگان	27
5	0	0	همدان	28
2	0	0	یزد	29
29	0	0	ارдبل	30
2788	12	7	تعداد 30 استان	جمع کل

(منبع: سامانه الکترونیک پایش و مراقبت بیماری های آبزیان GIS سال 1400)

جدول شماره (2): لیست استان ها و تعداد مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی کشور

ردیف	استان	پرورش ماهیان زینتی	تکثیر و پرورش ماهیان زینتی	تکثیر ماهیان زینتی
1	آذربایجان شرقی	3	6	2
2	آذربایجان غربی	1	5	0
3	اردبیل	0	1	0
4	اصفهان	9	216	0
5	البرز	1	29	4
6	ایلام	0	0	0
7	بوشهر	0	0	0
8	تهران	11	56	1
9	چهارمحال و بختیاری	0	0	0
10	خراسان شمالی	1	3	0
11	خراسان رضوی	24	6	9
12	خراسان جنوبی	2	0	0
13	خوزستان	1	1	0
14	زنجان	0	1	3
15	سمنان	1	0	0
16	سیستان و بلوچستان	0	0	0
17	فارس	2	3	0
18	قزوین	8	12	2
19	قم	1	1	0
20	کردستان	0	0	3
21	کرمان	0	1	0
22	کرمانشاه	0	0	0
23	کهگیلویه و بویراحمد	0	0	1
25	گلستان	0	2	0
26	گیلان	0	44	0
27	لرستان	3	1	0
28	مازندران	5	17	2
29	مرکزی	2	6	0
30	هرمزگان	2	0	1
31	همدان	6	1	0
32	یزد	0	0	4

(منبع: سامانه الکترونیک پایش و مراقبت بیماری های آبزیان GIS سال 1400)

نکته: با توجه به عدم تفکیک مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی بر اساس گونه های پرورشی در سامانه پایش بیماریهای آبزیان، لیست اختصاصی مربوط به مراکز تکثیر و پرورش ماهی کوی از سامانه پایش بیماریهای آبزیان قابل استخراج نیست.

ب : تعداد نمونه و زمان بازدید و نمونه برداری در مراقبت فعال مراکز تکثیر

در مراقبت فعال، تمامی مراکز تکثیر ماهی گرمابی و ماهی کوی دو بار در سال بازدید و مورد ارزیابی خطر (با توجه به جدول شماره 2 برنامه زمانی بازدید، ارزیابی خطر و نمونه برداری هدفمند)، ارزیابی بهداشتی و تکمیل پرسشنامه وضعیت بهداشتی (پیوست شماره 2) قرار گرفته و با احتمال شیوع 2٪ یکبار نمونه برداری (بر اساس جدول OIE Aquatic -Free Calc 1.4 آزمایشگاهی در می آید) انجام می شود.

در خصوص کپور پرورشی، تعداد 7 مرکز تکثیر فعال که در خوزستان (1 مرکز)، مازندران (1 مرکز)، گلستان (4 مرکز)، سیستان و بلوچستان (1 مرکز) و تعداد 12 مرکز تکثیر و پرورش فعال که در خوزستان (4 مرکز)، گیلان (5 مرکز)، آذربایجان غربی (1 مرکز)، خراسان رضوی (1 مرکز)، کرمان جنوب (1 مرکز) می باشند، بصورت دو بار بازدید و یک بار نمونه برداری در سال و در محدوده زمانی مناسب دمایی هر استان (یک بار فقط از لارو و بچه ماهیان 1-3 گرمی) تعیین می گردد.

در خصوص مراکز تکثیر ماهی کوی، هدف کلیه مراکز تکثیر عمدہ ای است که توزیع ماهی کوی به سایر استانهای کشور انجام می دهدن. (قبل از نمونه برداری هماهنگی با دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان صورت پذیرد).

در خصوص مراکز تکثیر ماهی قرمز، هدف 10 درصد مراکز تکثیر عمدہ ماهی قرمز در دو استان گیلان و مازندران است. اولویت انتخاب این مراکز، بر اساس احتمال ارتباط با مراکز پرورش ماهی کوی و کپور و علاوه بر آن توزیع عمدہ بچه ماهی به خارج از استان می باشد. در خصوص بقیه مراکز، مراقبت تشیدی بالینی و بازدید صورت می گیرد. (قبل از نمونه برداری هماهنگی با دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان صورت پذیرد).

نکته مهم: در صورت مثبت بودن نتایج آزمایشگاهی اولیه از نمونه های اخذ شده در مراکز تکثیر، مرکز مذکور بلافضله قرنطینه شده و اقدام به نمونه برداری بافتی از مولدین و انجام آزمایشات تکمیلی می گردد.

زمان بازدید: بازدید اول در زمانی که دمای آب به بالای 17 درجه سانتی گراد رسیده باشد و سه هفته از آن گذشته باشد و بازدید دوم با فاصله زمانی حداقل 3 ماه از بازدید اول و زمانی که لارو و بچه ماهیان، به وزن یک تا سه گرم رسیده باشند، انجام می شود.

در مزارع پرورش ماهی گرمابی بر اساس اولویت بندی و ارزیابی خطر توسط استان مربوطه یک بار در سال بازدید (مطابق با جدول شماره 1) به همراه یک بار نمونه برداری (تعداد 10 عدد نمونه مشکوک و یا مرضی اخذ شده و هر 5 عدد پول شده و 2 نمونه آزمایشگاهی تهیه می شود) و ارسال به آزمایشگاه انجام می شود.

نکته: اگر نمونه ماهی با علایم تیپیک بیماری مشاهده شود، باید بصورت مستقل اخذ و به آزمایشگاه ارسال می گردد.
استانهای ذیل الاشاره که در مجموع 2431 مزرعه پرورشی از تعداد 2788 کل را دارا می باشند بصورت زیر عمل خواهند نمود:

1- خوزستان (401 مزرعه پرورشی فعال)

2- گیلان (667 مزرعه پرورشی فعال)

3- مازندران (1055 مزرعه پرورشی فعال)

4- گلستان (145 مزرعه پرورشی فعال)

5- سیستان و بلوچستان (163 مزرعه پرورشی فعال)

نکته مهم:

انتخاب و تعیین این 5٪ مزارع بصورت هدفمند بر اساس اولویت بندی موارد زیر انجام می گردد:

1- آب بندانها و مزارعی که سابقه بروز و رخداد بیماری داشته و شرایط بهداشتی مورد نیاز برای آماده سازی اولیه را نیز مهیا نکرده باشند.

2- مراکزی که اقدام به عملیات حد واسط (تحویل لارو از مرکز تکثیر، نگهداری، پرورش و توزیع بچه ماهی به سایر مزارع پرورش ماهیان گرمابی) می کنند.

3- مزارعی که در مجتمع های پرورشی واقع شده اند.

4- مزارعی که ارتباط آبی با سایر منابع آبی داشته باشند.

5- مزارعی که دارای تراکم بالا و ریسک بالای انتقال عوامل بیماریزا باشند.

نکته: انتخاب مزارع بر اساس شرایط فوق و با صلاحیت کارشناسی هر استان صورت می گیرد.

در سایر استان ها، برنامه مراقبت بصورت باليني و پايش تشديدي و تكميل چك ليست هاي لازم انجام خواهد شد. در صورت مشاهده علائم و تلفات مشکوك به بيماري، نمونه برداری مرضی (اخذ 10 عدد نمونه و تهیه 2 نمونه آزمایشگاهی) انجام شده و به آزمایشگاه ارسال می گردد.

جدول شماره (3): برنامه زمانی بازديد و ارزیابی بهداشتی مراقبت فعال

ردیف	نوع مرکز	تعداد دفعات بازديد (سالیانه)	زمان نمونه برداری
1	<ul style="list-style-type: none"> ● مرکز تکثیر ماهیان گرمابی (کپور پرورشی و دربایی) 	دو	<p>يكبار نمونه برداری بر اساس شیوع 2% و ترجیحاً دمای آب 17 درجه به بالا باشد و 3 هفته از رسیدن به این دما گذشته باشد.</p>
2	<ul style="list-style-type: none"> ● مرکز تکثیر ماهیان کوی ● 10٪ مراکز تکثیر ماهی قرمز (استان های گیلان و مازندران) 	دو	
	<ul style="list-style-type: none"> ● مزارع پرورش ماهی گرمابی 	یک	<p>يكبار نمونه برداری از 5٪ مزارع در 5 استان مشخص شده و ترجیحاً دمای آب 17 درجه به بالا باشد و 3 هفته از رسیدن به این دما گذشته باشد</p>

عملیات اجرایی در طول دوره پرورش بر اساس جدول شماره 4 صورت پذیرد.

جدول شماره (4): عملیات اجرایی، بازدید، نمونه برداری و محدوده عملیات

تعداد مزارع پرورشی در 5 استان مشخص شده / نمونه برداری شده %5	تعداد مزارع پرورشی استان بازدید شده %100	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده %100	تعداد مراکز تکثیر و پرورش بازدید شده %100	تعداد مراکز تکثیر و پرورش نمونه برداری شده %100	تعداد مراکز تکثیر بازدید شده %100	کلیه استانها

به منظور انجام عملیات نمونه برداری و آزمایش بایستی موارد زیر رعایت گردد:

- 1- کلیه نمونه های مثبت آزمایشات تشخیصی و تأییدی، بایستی کدگذاری شده و تازمان تصمیم گیری اجرایی نگهداری گردد.
- 2- اندام های هدف برای نمونه برداری کلیه، طحال، مغز و آبشش می باشد. اندام های هر 10 قطعه ماهی در مراکز تکثیر و حد وسط و تعداد 10 نمونه ماهی بصورت نمونه های مرضی در مزارع پرورشی که بصورت 2 تایی پول شده باشند، می توانند با یکدیگر در اtanول 70% فیکس و با حفظ زنجیره سرد ارسال شوند.

3.2. مراقبت غیرفعال:

مراقبت غیرفعال، در طول سال برقرار بوده و بر اساس گزارش دهی اشخاص حقیقی مانند مسئولین فنی بهداشتی، دامپزشکان بخش خصوصی، پرورش دهندها، ... و یا حقوقی مانند: اتحادیه ها، شیلات، به صورت گزارش غیرفعال (Passive Report) می باشد. به منظور ارتقاء سیستم گزارش دهی و به منظور ساماندهی گزارش گیری بیماری اخطار کدنی KHV در دوره زمانی پرخطر وقوع بیماری (دما و فصل مربوطه)، هر 15 روز یکبار بایستی مسئولین فنی بهداشتی مطابق فرم ارزیابی عالیم تیپیک بالینی اقدام به بازدید میدانی و ثبت عالیم مربوطه بیماری نموده و در صورت وجود موارد مشکوک به بیماری با همکاری اداره کل دامپزشکی استان، نسبت به ثبت در سامانه GIS اقدام لازم را نمایند.

نظامت بر اجرایی شدن و نیز حسن اجرا در بخش مراقبت غیر فعال بر عهده اداره کل دامپزشکی استان می باشد.

به دنبال گزارش وجود تلفات و یا علائم بالینی (علائم ناشی از بیماری های مورد نظر برنامه)، به منظور تشخیص بیماری، بلا فاصله توسط کارشناسان ادارات کل دامپزشکی استانها، پس از برقراری قرنطینه موقت نمونه برداری جهت انجام آزمایشات تشخیصی (Diagnostic tests) صورت می گیرد. این برنامه، در طول سال و برای تمامی مراکز تکثیر و مزارع پرورش ماهی کشور و آبهای داخلی، برقرار می باشد.

3.2.2 : نحوه جمع آوری و ارسال نمونه به منظور تشخیص بیماری در مراقبت غیر فعال بر اساس علایم بالینی:

از بافت های مناسب (کلیه، طحال، آبشش و مغز) 10 قطعه ماهی بیمار در شرایط استریل نمونه برداری جهت آزمایشات مولکولی ارسال می شود. نمونه ها در اatanول 70٪ فیکس شده و به آزمایشگاه ارسال می شوند. همچنین از تعداد 10 قطعه ماهی جهت انجام آزمایشات پاتولوژی نمونه برداری و در ماده فیکساتیو (فرمالین 10٪) به مرکز ملی تشخیص ارسال گردد.

4. تشخیص

روش تشخیص، بر اساس انجام آزمایش های ملکولی PCR و با کیت تشخیصی (مورد تأیید سازمان) بوده که در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایشات نمونه های اولیه، انجام آزمایشات تکمیلی و تأییدی (آزمایش های ملکولی PCR) توسط مرکز ملی تشخیص صورت خواهد گرفت. در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایش بچه ماهیان، نمونه برداری مجدد از مولدین بصورت اخذ نمونه بافتی مولدین انجام می شود.

تشخیص به روش پاتولوژی با روشهای استاندارد موجود انجام خواهد شد.

توجه : آزمایشگاه های مورد تأیید سازمان جهت انجام آزمایشات مربوطه، آزمایشگاه های مرکزی ادارات کل دامپزشکی استان های گیلان، خوزستان و مرکز ملی تشخیص می باشند. پیش از ارسال نمونه بایستی هماهنگی لازم با آزمایشگاه صورت پذیرد.

5. اقدامات بعد از تشخیص بیماری:

5.1 در صورت تأیید اولیه رخداد بیماری و یا ردیابی عامل بیماریزا در مراکز تکثیر، بایستی مطابق برنامه اضطراری کنترل KHV یا Contingency Plan اقدامات ذیل به اجرا در آید :

1. برقراری قرنطینه موقت و جلوگیری از توزیع و پخش بچه ماهی های آلوده
2. انجام آزمایشات تأییدی در محل مرکز ملی تشخیص
3. حذف / معذوم سازی بچه ماهی های آلوده برابر دستورالعمل های سازمان
4. پاکسازی و ضد عفونی کردن کامل استخرها و وسائل موجود در مرکز برابر دستورالعمل های سازمان
5. قرنطینه کامل مولدین مرکز و نمونه برداری جهت انجام آزمایشات تأییدی و تکمیلی
6. حذف مولدین در صورت نتیجه مثبت آزمایشات برابر دستورالعمل های سازمان
7. کنترل و پایش سایر مراکز مرتبط با مرکز آلوده و در صورت لزوم نمونه برداری و انجام آزمایش
8. ذخیره سازی مجدد مزارع و مراکز تکثیر آلوده پس از سپری شدن دوره آیش و آماده سازی بهداشتی، صرفاً با مجوز دامپزشکی امکان پذیر است.

5.2 در صورت تأیید وقوع بیماری در مزارع پرورشی، بایستی مطابق برنامه اجرایی کنترل بهداشتی بیماری KHV ابلاغی سازمان و دستورالعمل آماده سازی بهداشتی مزارع پرورش ماهیان گرمابی، اقدامات لازم به اجرا در آید.

6. تعریف مورد مشکوک (Suspect Case) به بیماری KHV

طبق تعریف OIE Definition of suspect داشتن یک مورد از موارد زیر تأیید کننده "مورد مشکوک بیماری" خواهد بود:

مشاهده هر یک از موارد ذیل به عنوان مورد مشکوک در نظر گرفته می شود.

1. مشاهده علایم بالینی مشخص بیماری در جمعیت ماهیان گونه های حساس
2. مشاهده علایم هیستوپاتولوژی مشخص در مقاطع بافتی
3. مشاهده ضایعات سیتوپاتیک CPE مشخص در محیط کشت حساس بدون تشخیص عامل مسبب

4. یک نتیجه مثبت از یکی از روش‌های تشخیصی، که به عنوان a یا b در جدول شماره 4 اشاره شده است.

5. جابجایی ماهی زنده از محلی که وجود بیماری KHV در آنجا تأیید شده است و یا دارای علایم بالینی مشکوک است به محلی که فاقد علایم مشکوک به بیماری می‌باشد.

6. ارتباط مزارع پاک با سایر مزارعی که بیماری KHV در آن وجود دارد. (مانند انتقال ماهی از یک زون آلووده به یک منطقه پاک و عاری از بیماری)

7. تشخیص و تعیین آنتی بادی اختصاصی بیماری KHV

نکته: در موارد 5 و 6 چنانچه دمای آب به سطحی برسد که برای رخداد بیماری مناسب باشد (بیشتر از 17 درجه)، آزمایش KHV انجام می‌شود. اگر دمای آب پایین تر باشد، نمونه های زنده بایستی در دمای بالاتر از 20 تا 24 درجه نگهداری شوند و 14 الی 21 روز بعد آزمایش شوند.

در موارد وجود علایم بالینی مشخص بیماری در جمعیت حساس و یا وجود علایم هیستوپاتولوژی مشخص در مقاطع بافتی یا مشاهده اثرات سایتوپاتیک در کشت سلول بدون تعیین عامل و یا حصول یک نتیجه مثبت از یکی از روش‌های جدول ذیل، (شماره 5) به وجود بیماری مشکوک می‌شویم.

جدول شماره (5) : روش های تشخیصی بیماری KHV مطابق با دستورالعمل OIE

تشخیص قطعی	تشخیص اولیه	مراقبت هدفمند		روش
		بالغ	بچه ماهی	
d	b	d	d	علایم بالینی
c	b	d	d	هیستوپاتولوژی
d	d	d	d	میکروسکوپ الکترونی
d	d	d	d	جداسازی در کشت سلولی
c	a	d	d	تست برای آنتی ژن ویروس
d	c	c	c	تست برای آنتی بادی های علیه ویروس
a	a	c	c	PCR
a	a	NA	NA	سکانس ژنی

a : روش آزمایش به دلیل قابلیت استفاده، در دسترس بودن و اختصاصیت و حساسیت تشخیصی توصیه می شود.

b : روش آزمایشی استاندارد با اختصاصیت و حساسیت تشخیصی مناسب می باشد.

c : این روش قابل انجام است ولی هزینه بر بودن و صحت آن و یا برخی عوامل دیگر، استفاده از آن را محدود می سازد.

d : این روش در حال حاضر توصیه نمی شود.

NA : غیر قابل انجام

PCR :(Conventional PCR)

Q-PCR:Real time PCR

7. تعریف مورد قطعی بیماری: اولین مورد رخداد بیماری در یک منطقه جدید و یا در منطقه ای که بیماری KHV قبلاً اتفاق افتاده است اما طی دو سال اخیر در برنامه مراقبت ردیابی نشده باشد، به عنوان **Index Case** در نظر گرفته می شود.

PCR :(Conventional PCR)

Q-PCR:Real time PCR

با توجه به این که روش تشخیصی مورد استفاده در برنامه، روش PCR و یا Q-PCR می باشد، به منظور تشخیص قطعی index case، محصول بایستی سکانس ژنی شود.

بعد از تأیید مورد اول بیماری در منطقه، سایر موارد با روش PCR و یا Q-PCR همراه با مشاهده علائم بالینی به عنوان موارد قطعی در نظر گرفته می شود.

معیارهای ذیل بایستی جهت تأیید مورد قطعی بیماری لحاظ شوند:

1- مرگ و میر، علایم بالینی و تغییرات پاتولوژی مرتبط با بیماری KHV و شناسایی ویروس با یکی

از روش های ذیل:

1.1. شناسایی ویروس با روش PCR و یا (ریل تایم)

1.2. شناسایی ویروس در آماده سازی بافت با روش های آنتی بادی اختصاصی بر علیه ویروس

(IFA) (به عنوان مثال)

2. در زمان عدم وجود علایم بالینی و تلفات با یک یا هر یک از روشهای ذیل:

2.1. شناسایی و تأیید بیماری با روش PCR (مطابق با روش ارایه شده در OIE)

2.2. حصول نتیجه مثبت از دو روش مختلف تشخیصی سطوح a و b در جدول شماره 5