

Ewolucja rabdowirusów ryb, ze szczególnym uwzględnieniem wirusa wirusowej posocznicy krwotocznej

Jerzy Antychowicz

Rabdowirusy (ryc. 1) wywołują u ryb wiele groźnych chorób, m.in.: wirusową posocznicę krwotoczną (viral haemorrhagic septicemia – VHS), zakaźną martwicę układu krwiotwórczego (infectious hematopoietic necrosis – IHN), zakażenie wirusem hirame (Hirame rhabdovirus – HIRRV) i wiosenną wiremę karpia (spring viremia of carp – SVC). Podstawą zwalczania wirusowych chorób ryb jest działanie epizootyczne, celem którego jest niedopuszczenie do powstawania nowych ognisk chorób i likwidacja już istniejących. Do skutecznego działania tego typu niezbędna jest szeroka wiedza dotycząca mechanizmów powstawania zakażeń rabdowirusami.

Od początku ewolucyjnego pojawienia się ryb (towarzystwo im prawdopodobnie różne mikroorganizmy występujące na ich skórze, w skrzelach oraz narządach

wewnętrznych. Mikroorganizmy występujące u ryb ulegały wraz ze swoimi gospodarzami ciągłym ewolucyjnym zmianom. Równocześnie ze zmianami zachodzącymi u gospodarzy, np. w zakresie genów kodujących mechanizmy ich układu odpornościowego, u mikroorganizmów ulegały zmianie geny kodujące czynniki ich patogenności. W ciągu milionów lat u ryb rozwijały się mechanizmy ograniczające rozwój chorobotwórczych mikroorganizmów, np. wirusów, a więc przyczyniające się do zwalczania zakażeń, natomiast chorobotwórcze mikroorganizmy nabrały zdolności do unikania mechanizmów obronnych gospodarza (1). Zdolność uniczenia mechanizmów obronnych gospodarza wirusy zawdzięczają korzystnym mutacjom, które zostały u nich utrwalone. To wzajemne oddziaływanie gospodarz–mikroorganizm jest szczególnie

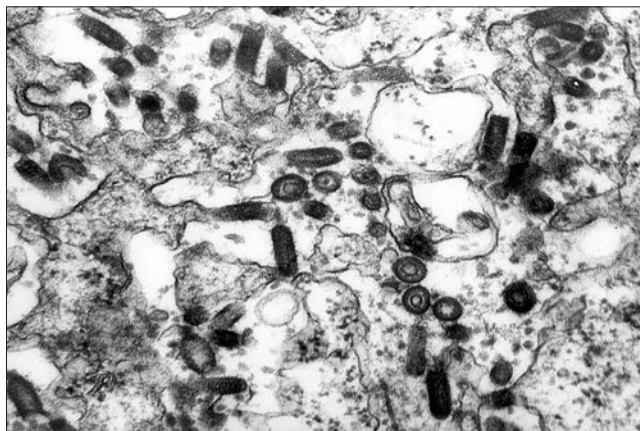
The fish rhabdoviruses evolution with special emphasis on VHS virus

Antychowicz J.

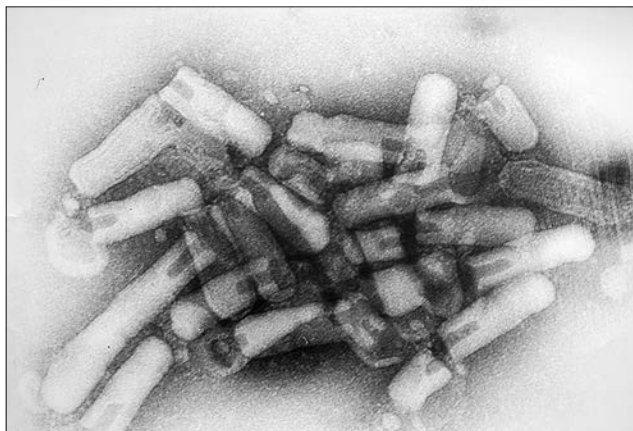
Viral haemorrhagic septicaemia (VHS) is a disease caused by viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV). VHSV is a rhabdovirus belonging to the genus Novirhabdovirus, within the family Rhabdoviridae, which also includes infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) and the Hiram rhabdovirus of the Japanese flounder. Enveloped VHS virions are bullet-shaped, with a negative-sense, single-stranded RNA genome. The aim of this paper was to present the current scientific developments in the field of fish rhabdoviruses evolution and the viruses evolution implications for pathogenesis of important fish diseases. It has been documented that some human activities in aquaculture and also natural environmental factors are essential for inducing rhabdoviruses mutations and thus the development of new fish diseases. The most important factors which contribute in epidemics of sea and inland fishes were discussed.

Keywords: fish, rhabdoviruses.

silne w przypadku wirusów, mikroorganizmów występujących wewnątrz komórek gospodarza.



Ryc. 1. Rabdowirusy w hodowli komórkowej



Ryc. 2. Rabdowirus wywołujący wirusową posocznicę krwotoczną



Ryc. 3. Duńskie gospodarstwo pstrągowe, gdzie stwierdzono wirusową posocznicę krwotoczną (ryc. 4, 5, 6 pochodzą z tego przypadku)

Powstawanie nowych genów jest pierwotną siłą sprawczą ewolucji wszystkich organizmów (2). W wyniku mutacji, a następnie naturalnej selekcji, z puli czynnych genów usuwane są mniej korzystne lub wręcz szkodliwe. Ślad ewolucji genów współcześnie można odnaleźć w nieczynnych genach, określanych niekiedy jako pseudogeny, które są przekazywane od milionów lat z pokolenia na pokolenie. Pseudogeny są to określone sekwencje DNA, które przypominają znane geny, które z biegiem czasu utraciły zdolność do kodowania (produkowania) funkcjonalnych białek, aczkolwiek przynajmniej niektóre z nich pełnią różne inne funkcje w komórce. W pseudogenach zawarte są informacje o zmianach zachodzących w DNA w trakcie ewolucji danego gatunku, a ich analiza daje możliwość badania zmienności genomu określonego osobnika. Analiza danych uzyskanych z sekwencjonowania wirusowego genomu dostarcza informacji między innymi o filogenezie i przebiegu ewolucji określonych wirusów i umożliwia również przewidywanie ich dalszej ewolucji (3). Obecnie uważa się, że tysiące

współcześnie istniejących wirusów (między innymi rabdowirusów ryb) powstało na drodze ewolucji z kilku prekursorów, czyli wirusów występujących miliony lat temu.

Od czasu wprowadzenia hodowli ryb pojawiły się nowe, dotąd nie występujące czynniki, wpływające na ewolucję zarówno ryb, jak i występujących u nich chorobotwórczych drobnoustrojów. W wyniku działalności człowieka stały się możliwe kontakty ryb różnych gatunków (żyjące w odległych rejonach świata), które nie zetknęłyby się ze sobą w warunkach naturalnych. Umożliwia to przenoszenie się wirusów z dotychczasowych naturalnych gospodarzy do nowych gospodarzy, często bardzo wrażliwych na infekcję nowych dla siebie wirusów lub znanych wirusów, ale o innym genotypie. Zetknięcie się np. wirusa VHS szczepu IVa, występującego endemicznie u ryb żyjących naturalnie w Pacyfiku, z wrażliwą na niego rybą sprowadzoną z innego rejonu świata, jakim jest łosoś atlantycki, powoduje występowanie u tej ryby groźnych epizootii. Patogenność występujących obecnie

u ryb wirusów i innych mikroorganizmów ulega nadal ewolucji. Według Keyle i wsp. (4) niewielkie różnice występujące w genomie poszczególnych izolatów wirusa VHS (dotyczące 1–2 par zasad lub większej ich ilości), pochodzących z jednego przypadku choroby, a nawet występujące u jednej ryby, wskazują na to, że w trakcie replikacji tego wirusa (podczas trwania epizootii) powstają nowe jego mutacje. Im więcej ryb choruje na VHS i czym częściej występuje ta choroba, tym większe jest prawdopodobieństwo pojawienia się mutacji. Mutacje, selekcja i utrwalanie się określonych genów wirusa może doprowadzić do zwiększania się jego patogenności. Zjawisko to opisali Einer-Jensen i wsp. (5) oraz Thompson i wsp. (6).

Wirusowa posocznica krwotoczna

Rabdowirus wywołujący wirusową krwotoczną posocznicę (viral hemorrhagic septicemia virus – VHSV; ryc. 1, 2) występuje u ryb wolno żyjących i hodowlanych, zarówno w wodach śródlądowych, jak i morskich. Szczególnie często stwierdza się go u pstrągów tęczowych hodowanych w stawach ziemnych (ryc. 3). Wirusowa krwotoczna posocznica (ryc. 4, 5, 6, 7) jest groźną chorobą ryb należących do wielu gatunków, a wirus, który ją wywołuje, ma dużą zdolność do rozprzestrzeniania się po świecie dzięki obrotom żywymi rybami na skalę globalną. Wirus VHS izolowano od ryb należących do ponad 70 gatunków, chociaż tylko niektóre warianty genetyczne tego wirusa powodują duże straty w hodowli ryb określonych gatunków (4). Badania molekularne genotypów licznych izolatów wirusa VHS pochodzących z różnych części świata (głównie półkuli północnej) wykazały, że łączy je wspólne pochodzenie. Zróżnicowanie się szczepów wirusa VHS na patogenne dla ryb morskich i śródlądowych nastąpiło przypuszczalnie na długo zanim człowiek zaczął hodować ryby (7). Panuje przy tym pogląd, że morskie szczepy wirusa VHS są protoplastami



Ryc. 4. Wirusowa posocznica krwotoczna u pstrąga tęczowego, wybroczyny na otrzewnej ścianie



Ryc. 5. Wirusowa posocznica krwotoczna u pstrąga tęczowego, wybroczyny w tłuszczu okołonarządowym



Ryc. 6. Wirusowa posocznica krwotoczna u pstrąga tęczowego, niedokrwienie obwodowej części skrzeli, wybroczyny w mięśniach



Ryc. 7. Wybroczyny w mięśniach pstrąga tęczowego chorego na wirusową posocznicę krwotoczną

szczepów śródłądowych (8). Uważa się ponadto, że ewolucja szczepów morskich prowadząca do powstania szczepów patogennych dla ryb śródłądowych mogła następować w kilku okresach. W przypadku powstawania nowych mutacji istnieje stałe zagrożenie zarażenia się ryb śródłądowych od ryb morskich. Na przykład przystosowywanie się szczepów morskich wirusa VHS do pstrągów tęczowych hodowanych w wodach śródłądowych w Danii miało niedawno miejsce kilkakrotnie, przynajmniej 3–4 razy. Podobne zjawiska zanotowano w Szwecji i Finlandii. Zdolność morskich szczepów wirusa VHS do mutacji i zakażenia ryb śródłądowych uniemożliwia uwolnienie Danii od wirusowej posocznicy krwotocznej, pomimo poświęcania na ten cel znacznych środków. W Polsce nie analizuje się problemu zakażenia się ryb śródłądowych od ryb morskich, np. od ryb wchodzących na tarło z Bałtyku do rzek. Nie przeprowadza się również prób uwolnienia kraju od VHS, pomimo wystarczającego od tego celu potencjału naukowego i laboratoryjnego.

Ryby żyjące w Bałtyku i Morzu Północnym oraz w cieśninie między Anglią

i Francją są stałym rezerwuarem morskich szczepów wirusa VHS, a więc również źródłem zakażenia ryb śródłądowych. Na podstawie badań materiału genetycznego różnych szczepów wirusa VHS wyizolowanych od ryb śródłądowych występujących w Europie oraz od ryb żyjących w opływających ją morzach Skall i wsp. (9) wyrazili pogląd, że szczepy te powstały z jednego od dawna występującego u ryb morskich „macierzystego wirusa” VHS. Pstrągi tęczowe hodowane w sadzach morskich w rejonie cieśniny Kattegat zaczęły niedawno chorować na VHS. Badania molekularne pochodzących od nich izolatów wirusa VHS wskazują, że stanowią one nową mutację szczepów występujących u wolno żyjących w Bałtyku ryb, między innymi u śledzi (10, 11).

Wirus VHS występuje w wodach śródłądowych Europy endemicznie przypuszczalnie od czasów wykształcenia się śródłądowych gatunków ryb łososiowatych, między innymi pstrągów potokowych. Długi okres wzajemnego przystosowywania się układu odpornościowego gospodarza oraz czynników patogenności wirusa jest przypuszczalnie powodem, że pstrąg ten jest dosyć

odporny na VHSV. Choroba ta wywołuje natomiast znaczne straty ekonomiczne w hodowlach pstrągów tęczowych, wprowadzonych w okresie międzywojennym z Ameryki i do dziś masowo hodowanych w Europie. Pstrąg tęczowy okazał się bardzo wrażliwy na europejski szczep wirusa VHS natomiast jest mało wrażliwy na szczepy występujące w Ameryce Północnej. Wirus VHS, wyizolowano w Europie w latach 60. ubiegłego stulecia wraz z wprowadzeniem do diagnostyki hodowli komórkowych sporządzanych z tkanek ryb. Choroba wywoływana przez ten wirus rozpoznawana była przynajmniej od 1930 r. na podstawie objawów klinicznych i zmian anatomicznych występujących u chorych pstrągów tęczowych (12, 13, 14).

W oparciu o wyniki badań sekwencji nukleotydów występujących w genie (G) albo w genie (P) licznych izolatów zebranych z całego świata, rozróżnia się obecnie cztery główne genotypy wirusa VHS (5, 7, 15). Współczesne szczepy VHS pochodzą pośrednio od wspólnego szczepu wirusa VHS występującego przypuszczalnie u ryb żyjących kiedyś w północnej części Oceanu Atlantyckiego, który przed laty dał

początek dwóm szczepom potomnym (16). Jeden z nich stał się protoplastą szczepów I, II i III, a drugi szczepu IV. Szczep I występuje głównie u europejskich ryb śródlądowych, szczep II występuje głównie u ryb bałtyckich, natomiast szczep III występuje głównie u ryb żyjących w Morzu Północnym. Szczep IV występuje w rejonie Ameryki Północnej, u północno-zachodnich wybrzeży Pacyfiku i u wybrzeży Azji (Korea, Japonia). W ramach szczepu I rozróżnia się obecnie pięć podszczepów Ia, Ib, Ic, Id i Ie (ten ostatni odkryto niedawno u ryb występujących w zlewni Morza Czarnego). W ramach szczepu IV rozróżnia się natomiast trzy podszczepy IVa, IVb i IVc. Uważa się, że zróżnicowanie się szczepów europejskich i amerykańskich nastąpiło w przybliżeniu 500 lat temu.

Podszczep IVa występuje u ryb morskich najczęściej u śledzi i sardynek pacyficznych, które stanowią, jak już wspomniano, źródło zakażenia dla łososi atlantyckich hodowanych w sadzach w Pacyfiku. W 2005 r. od ryb zasiedlających niektóre rejony Wielkich Jezior na pograniczu USA i Kanady wyizolowano po raz pierwszy szczep IVb wirusa VHS (17, 18, 19). Badania archiwalnych preparatów zawierających materiał genetyczny tego wirusa wskazują, że występował on w rejonie Wielkich Jezior przynajmniej już w 2003 r. (20). Zakażenie wirusem VHS IVb wywołuje u ryb kilkunastu różnych gatunków żyjących w tych akwenach, między innymi u szczupaków amerykańskich (zwanych muskelungami), masowe śnięcia. Na uwagę zasługuje fakt, że pierwsze śnięcia ryb żyjących w Wielkich Jeziorach w latach 2003–2006 (między innymi szczupaków amerykańskich) z powodu VHS pokrywały się z masową budową obiektów wylęgarnicznych w rejonie tych jezior oraz z realizacją planu intensywnego zarybiania tych akwenów narybkiem różnych ryb, pozyskanym w wyniku tarła sztucznego, czyli kontrolowanego. Przeprowadzone przeze mnie porównanie publikacji opracowanych przez Departament Naturalnych Zasobów w Wisconsin (21) oraz odrębnych publikacji sporządzonych przez ichtiopatologów badających przyczyny śnięć ryb w Wielkich Jeziorach (17, 18, 19) wykazało pozytywną korelację między nasileniem akcji zarybieniowej w poszczególnych latach oraz wysokością śnięć ryb z powodu VHS. Akcje tego typu przeprowadzane w celu propagacji pożądanego ze względów gospodarczych (połowy) i rekreacyjnych (wędkarstwo) gatunków spowodowały, że w środowisku tych jezior pojawiły się ryby, które w odróżnieniu od ryb pochodzących z naturalnego rozrodu miały mniej różnicowany genotyp, a więc mniejszą zdolność jako populacja do adaptacji środowiskowej oraz do

przeciwstawienia się zakażeniu. Wielkie Jeziora zarybiano nie tylko wrażliwymi na szczep IVb szczupakami amerykańskimi, ale również rybami łososiowatymi, takimi jak pstrągi i łososi, które, chociaż są mało wrażliwe na ten szczep wirusa VHS, mogą być jego nosicielami (21). Na uwagę zasługuje fakt, że w USA ponad 1200 rzek, strumieni i jezior włącznie z Wielkimi Jeziorami jest każdego roku zarybiane rybami łososiowatymi pochodzącymi z wylęgarni. Może to w przyszłości ujemnie wpływać na dalszą sytuację epizootyczną chorób ryb w USA.

Na razie nie rozstrzygnięto, czy wirus VHS IVb został wprowadzony z zewnątrz do Wielkich Jezior wraz z śledziami służącymi jako zanęta wędkarska lub za pomocą sprzętu rybackiego, czy też występował od dawna u ryb nosicieli występujących w tych akwenach, a choroba ujawniła się wówczas, gdy w środowisku pojawiła się znaczna ilość wrażliwych na wirusa VHS IVb ryb pochodzących z wylęgarni. Wiadomo jest przy tym, że niektóre ryby dzikie, chociaż same zwykle nie chorują, mogą być rezerwuarem tego wirusa. Na podstawie danych z piśmiennictwa można zaryzykować stwierdzenie, że gospodarka zasobami ryb w Wielkich Jeziorach jest sprzeczna z podstawowymi zasadami epizootycznym. Ryby różnych gatunków mogące być nosicielami wirusa VHS IVb odławiane w tych jeziorach trafiają do obiektów rybackich, w których bez kontroli weterynaryjnej hodowane są masowo, a następnie jako obsada albo przynęta dla drapieżników wracają z powrotem do jezior (20). W przypadku jeżeli to nie ryby z wylęgarni śródlądowych, ale ryby morskie miałyby być źródłem zakażenia ryb zasiedlających Wielkie Jeziora, należałoby również przyjąć, że w ostatnim okresie doszło do mutacji wirusa morskiego, połączonej ze zmianą jego patogenności. Jak już nadmieniałem, u ryb morskich (należących do ponad 40 gatunków), między innymi u morskiego pstrąga stalogłowego (wędrównej postaci pstrąga tęczowego) i łososi żyjących u morskich wybrzeży USA, występuje bowiem genotyp IVa, natomiast u ryb z słodkowodnych żyjących w Wielkich Jeziorach genotyp IV b, na który ryby morskie są mało wrażliwe. Według Kim i Feisal (18) ostatnio u coraz większej ilości ryb należących do różnych gatunków żyjących w Wielkich Jeziorach stwierdza się obecność wirusa VHS, natomiast liczba przypadków objawiających się masowymi śnięciami maleje. Na tej podstawie badacze ci uważają, że wirus VHS należący do genotypu IVb stał się co prawda endemicznym patogenem w rejonie Wielkich Jezior, ale traci stopniowo swoją pierwotną patogenność.

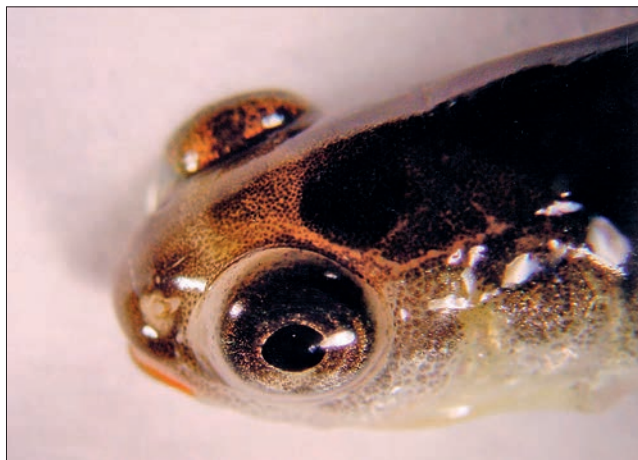
Najnowsze badania wykazały istnienie genotypu IVc u ryb żyjących w północnej

części Atlantyku, u wybrzeży Kanady (16). Na razie nie rozstrzygnięto, czy podszczep IVc z Atlantyku jest bliższy podszczepowi IVa z Pacyfiku, czy podszczepowi IVb z Wielkich Jezior. Ewolucja wirusa VHS jest nie tylko bardzo interesująca, ale również dostarcza materiału do przemyśleń nad dalszą ewolucją tego wirusa i przewidywaniem pojawienia się nowych jego podszczepów wywołujących choroby u nowych gospodarzy (u niechorujących dotychczas na VHS ryb) w nowych dla występowania tego wirusa rejonach geograficznych.

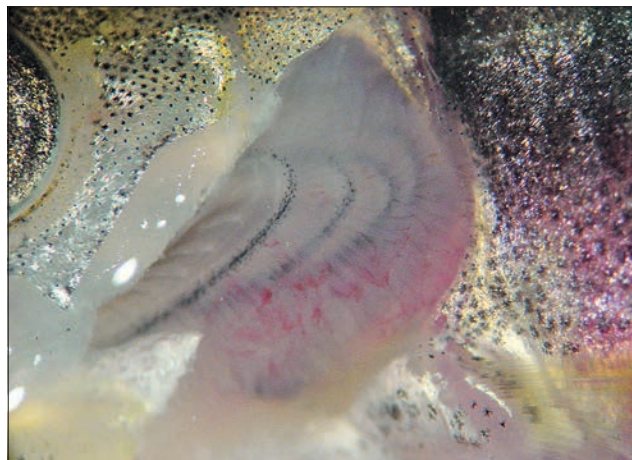
Zakaźna martwica układu krwiotwórczego

Wirusowa zakaźna martwica układu krwiotwórczego (IHN; *ryc. 8, 9, 10, 11*) występuje endemicznie u ryb dzikich zamieszkujących północny region Pacyfiku oraz u ryb hodowanych w tym regionie. Od pewnego czasu pojawiła się ona również w Europie i Azji. Follett i Burton (22) uważają, że możliwe jest zakażenie się ryb dzikich wirusem IHN od ryb hodowlanych, a ryb hodowlanych od ryb dzikich. U ryb hodowlanych w Ameryce Północnej obserwowano szybkie zmiany ewolucyjne tego wirusa. Jednogatunkowa hodowla ryb przetrzymywanych w dużym zagęszczeniu i w warunkach ciągłego stresu oraz w stosunkowo wysokiej temperaturze powodowała spadek odporności w populacjach tych zwierząt. Osłabienie odporności ryby sprzyja zwiększeniu się częstotliwości replikacji wirusa w jej komórkach, zwiększonemu prawdopodobieństwu wystąpienia mutacji i utrwalenia się zmian genetycznych powodujących wzrost patogenności wirusa (23).

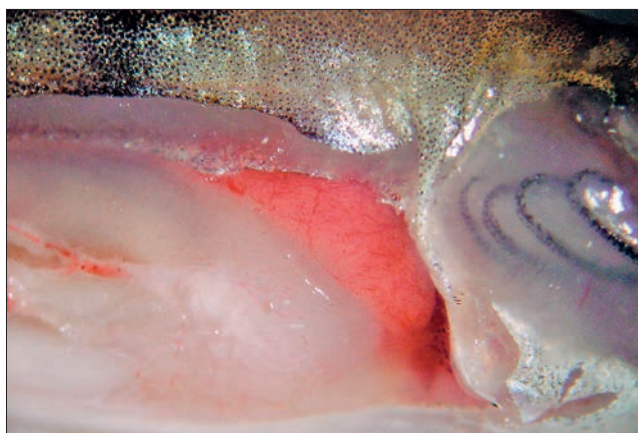
Analiza sekwencji nukleotydów różnych izolatów wirusa IHN wykazała, że większość z nich, pochodzących głównie od łososi pacyficznych, tworzy dwie genogrupy. U łososi nerka (*Oncorhynchus nerka*), żyjących w rejonie północno-wschodnim Pacyfiku występuje genogrupa U, natomiast u łososi czawycza (*Oncorhynchus tshawytscha*), żyjących u wybrzeży Kalifornii, genogrupa L. Między tymi genogrupami występują jedynie niewielkie różnice w sekwencjach nukleotydów, co wskazuje na spowolnienie ewolucji wirusa IHN u wolno żyjących ryb morskich i na długotrwały związek między określonym gospodarzem i określonym szczepem wirusa. W przeciwieństwie do tego szczepu wirusa IHN występujące u pstrągów hodowlanych w USA, należących do odrębnej genogrupy E, w Europie należących do genogrupy J i Azji należących do genogrupy M wykazują większe genetyczne zróżnicowanie spowodowane ciągle zachodzącą adaptacją do nowego gospodarza i nowych warunków środowiskowych (24, 25, 26).



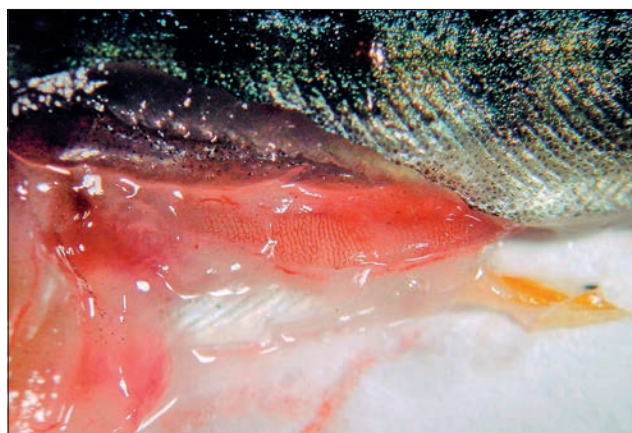
Ryc. 8. Zakaźna martwica układu krwiotwórczego u kilkucentymetrowego pstrąga tęczowego, wytrzeszcz gałek ocznych



Ryc. 9. Zakaźna martwica układu krwiotwórczego, błądź skrzeli i wybroczyny w listkach skrzelowych pstrąga tęczowego



Ryc. 10. Zakaźna martwica układu krwiotwórczego u kilkucentymetrowego pstrąga tęczowego, nastrzykanie naczyń krwionośnych wątroby i błądź skrzeli



Ryc. 11. Zakaźna martwica układu krwiotwórczego u kilkucentymetrowego pstrąga tęczowego, nastrzykanie naczyń krwionośnych w ścianie jelit

Zakaźna martwica układu krwiotwórczego jest bardzo groźną chorobą wylęgła i narybku łososi i pstrągów w warunkach intensywnej hodowli przy dużym zagęszczeniu ryb. Mało prawdopodobne jest natomiast wystąpienie masowej epizootii w naturalnym środowisku, gdzie zagęszczenie ikry i ryb jest o wiele mniejsze niż w wylęgarni.

Zakażenie wirusem hirame

Wirus hirame (HIRRV) wyizolowano po raz pierwszy w Japonii od ryb morskich, a mianowicie od narybku flądry japońskiej (*Paralichthys olivaceus*) i ryby aju (*Plecoglossus altivelis*; 27, 28). W 2007 r. zespół Antychowicz, Wejman, Sandomierska wyizolował po raz pierwszy w Europie od lipieni i od pstrągów potokowych nieznanego wirusa (29). Cztery izolaty tego wirusa pochodziły z dwóch gospodarstw rybacczych, w których wystąpiły śnięcia ryb. Izolaty te dawały ujemne wyniki badań metodą ELISA w kierunku obecności wirusów: VHS, IPN i SVC oraz metodą PCR w kierunku wirusa IHN (29). Izolaty nieznanego wirusa przesłano do Referencyjnego Laboratorium w Danii oraz do Referencyjnego

Laboratorium w Holandii, które potwierdziły, że nie należą one do żadnego z wirusów izolowanych dotąd w Europie. Badania przy pomocy mikroskopu elektronowego (TEM) oraz w kierunku obecności osłonki u wirionów zostały przerwane. Po moim przejściu na emeryturę nie miałem możliwości kontynuowania badań. Badania nad tymi izolatami, podjęte po 6 latach przez Borzym i wsp. (30), wykazały przy pomocy najnowszych metod molekularnych, że wyizolowany przez mój zespół wirus reprezentuje nieznaną dotąd w Europie wirus hirame. Sekwencjonowanie materiału genetycznego polskich szczepów wirusa hirame wykazało 99% podobieństwa do szczepów tego wirusa występujących u ryb morskich pochodzących z rejonów Chin, Japonii i Korei (30). Wirus hirame dostał się do Polski przypuszczalnie z karmą dla ryb importowaną z Chin. Dotąd nie odnotowano w Europie żadnych innych przypadków zakażenia ryb tym wirusem.

Sekwencjonowanie rabdowirusa hirame przeprowadzone przez Kim i wsp. (25) wykazało, że niektóre nukleotydy wchodzące w skład jego genotypu oraz genotypów wirusów VHS i IHN są identyczne. Okazało się, że sekwencje aminokwasów

w białkach wirusa HIRRV wykazują największą homologię, 72–92%, do sekwencji aminokwasów szczepów wirusa IHN, co może wskazywać na wspólne pochodzenie tych wirusów.

Wiosenna wiremia karpi

Wiosenna wiremia karpi (SVC; ryc. 12) stanowi problem przede wszystkim w hodowlach pospolitego karpia i karpia koi w Europie i na Bliskim Wschodzie, oprócz tego w Rosji; pojedyncze przypadki notuje się w USA. Zachodzi podejrzenie, że wirus SVC dostał się na kontynent amerykański wraz z ozdobnymi karpami koi, bowiem po raz pierwszy w USA został on wyizolowany właśnie od tej ryby w wylęgarni mieszczącej się w Północnej Karolinie. Zanim zdiagnozowano chorobę i wyizolowano wirusa, karpie koi będące jego bezobjawowymi nosicielami zostały rozwiezione do 48 innych stanów. Po pewnym czasie w USA zaczęto izolować wirus SVC nie tylko od karpia koi, lecz również z przypadków śnięcia karpia hodowlanych i dzikich karpia pospolitych (31).

Wirus SVC występuje najczęściej u karpia, ale wywołuje on niekiedy objawy



Ryc. 12. Wiosenna wiremia karpia u dwuletniego karpia, obrzęk ciała, wytrzeszcz gałek ocznych, przekrwienie skóry

chorobowe również w niektórych innych ryb karpiovatych i szczupaka (32). Analiza sekwencji nukleotydów w genie G wykazała, że wśród izolatów wirusa SVC oraz izolatów dawniej błędnie zaliczanych do wirusa PFRV (wirus wylęgu szczupaka) występują cztery genogrupy, a mianowicie: I, II, III i IV. Według innej klasyfikacji (na podstawie analizy sekwencji nukleotydów genu P i genu G) izolaty wirusa SVC dzielą się na genogrupy Ia, Ib, Ic i Id. Genogrupa Ia jest rozpowszechniona w Ameryce Północnej i występuje również w Anglii, natomiast genogrupa Id w Europie, w tym w Anglii (33). Obecność izolatów genogrupy Ib i genogrupy Ic stwierdzono w Mołdawii, na Ukrainie i w Rosji.

Na początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego stulecia populacja wirusa SVC na świecie uległa okresowemu zmniejszeniu, a następnie ponownie zaczęła się zwiększać. W tym okresie zanotowano liczne przypadki wiosennej wirerii karpia w Ameryce i w Europie oraz doszło do gwałtownego zróżnicowania się wirusa SVC na genotyp Ia i Id. W latach 1997–2006 udokumentowano 32 niezależne przypadki izolacji wirusa SVC w Wielkiej Brytanii, USA i Kanadzie. Badanie genetyczne wykazało, że przynajmniej w jednym przypadku w Ameryce wirus SVC pochodzi z chińskiej hodowli karpia koi. Stwierdzono 100% zgodności nukleotydów w genie G izolatów amerykańskich i chińskich (34). W latach 1998–2002 notowano wiele przypadków SVC u karpia koi i u różnych ryb wolno żyjących w Europie i w Ameryce, które wystąpiły po imporcie żywych ryb z Chin. Badania genetyczne przeprowadzone tym razem w Chinach (33) wykazały, że w Chinach i USA występują izolaty wirusa SVC należące do podgenogrupy IaA. Na uwagę zasługuje fakt, że dotąd nie notowano w Chinach klinicznych przypadków SVC, natomiast wirus występuje tam w postaci latentnej u ryb ozdobnych. Z tego wynika, że określanie genotypów izolatów wirusów występujących w różnych rejonach

świata pomaga w ustaleniu miejsca jego pochodzenia, a więc pozwala zapobiec w przyszłości następnym reintrodukcji tego wirusa.

Na podstawie opisów objawów chorobowych i zmian anatomopatologicznych występujących u karpia można z dużym prawdopodobieństwem twierdzić, że wirus był od dawna obecny w Europie, natomiast nasilenie przypadków chorobowych notowano po rozpoczęciu masowej hodowli karpia w okresie międzywojennym. Karp jest rybą umiarkowanie ciepłolubną i pochodzi z zlewni Morza Kaspijskiego, prawdopodobnie mógł pojawiać się w Europie kilkakrotnie w przerwach między ostatnimi zlodowaceniami. W związku z tym przez wiele lat zachodziła u niego adaptacja do nowego środowiska, która przypuszczalnie była jednym z czynników osłabienia jego odporności i wzrostu wrażliwości na wirus SVC. Europejskie endemiczne ryby zimnolubne rzadko chorują na SVC. Trudno obecnie ustalić, czy karp był od początku gospodarzem tego wirusa, czy też zakaził się od endemicznych ryb europejskich. Wiadomo jest, że od lina i szczupaka, to znaczy od ryb, które były w Europie od początku ukształtowania się tych gatunków, izolowano szczepy wirusa SVC o nieco odmiennych genotypach niż te, które występują u karpia. Wirus SVC wywołujący śnięcia karpia mógł więc powstać wskutek mutacji wirusa występującego u endemicznych ryb europejskich.

Do wywołania klinicznej postaci wiosennej wirerii karpia niezbędne są silne bodźce stresowe, osłabiające odporność ryby. Niezbyt umiejętna intensyfikacja hodowli karpia w pierwszym jej okresie, przy niewłaściwym jednostronnym żywieniu oraz niskiej kulturze i higienie stawów, przy wysokim poziomie stresu, doprowadziła do tego, że w przebiegu choroby występowały często masowe śnięcia tych ryb. Udoskonalenie metod hodowli oraz wysoka mechanizacja pozwalająca na utrzymanie dobrych warunków środowiskowych

w stawach hodowlanych w wielu krajach spowodowały, że wiosenna wiremia karpia występuje obecnie stosunkowo rzadko w gospodarstwach profesjonalnych, ale nadal jest często stwierdzana w zaniedbanych gospodarstwach rybackich i amatorskich stawkach przydomowych.

Omówienie

Gwałtowny rozwój hodowli ryb wiąże się z ich przebywaniem w sztucznych zbiornikach przy nienaturalnie dużym zagęszczeniu, ciągłej ekspozycji na stres i żywieniu karmą normalnie niewystępującą w ich naturalnym środowisku, co powoduje, że są one bardziej niż ryby dzikie wrażliwe na różne czynniki chorobotwórcze. Równocześnie bliskie sąsiedztwo obiektów hodowlanych i zbiorników naturalnych przy częstym zarybianiu naturalnego środowiska wodnego rybami pochodzącymi z wylęgarni ułatwia krążenie wirusów między rybami hodowlanymi a wolno żyjącymi. Skutkiem tego jest powstawanie nowych chorób zarówno u ryb hodowlanych, jak i u dzikich.

W naturalnym środowisku wodnym, w którym ingerencja człowieka nie występuje lub jest niewielka, bardzo rzadko dochodzi do ujawniania się czynników chorobotwórczych w postaci wystąpienia u ryb dzikich objawów chorobowych i śnięć. Koegzystencja między endemicznymi mikroorganizmami chorobotwórczymi i endemicznymi rybami trwająca miliony lat doprowadziła w wyniku ewolucji do wytworzenia się równowagi między układem odpornościowym gospodarza a czynnikami patogenności mikroorganizmów chorobotwórczych, co pozwoliło na ich długotrwałe współzycie. Prawdopodobnie ta przestaje występować wskutek nieprzemysłanej ingerencji człowieka w wodach śródlądowych i oceanach. Na przykład wprowadzenie sadzowej hodowli łososia atlantyckiego w wodach przybrzeżnych Pacyfiku umożliwiło krążenie wirusa VHS między wolno żyjącymi śledziami i szprotami a łososiami atlantyckimi. Gromadzące się masowo w rejonie sadzy śledzie i szproty (szukające ochrony przed drapieżnikami oraz zwabione pokarmem), pozostające tam przez dłuższy czas w dużym zagęszczeniu, zaczęły chorować na VHS, zarażając następnie wirusem łososie. Niedawno zaobserwowano, że po zarybieniu jezior rybami pochodzącymi z tarła kontrolowanego wykazują one większą niż ryby dzikie wrażliwość na choroby. Jedną z przyczyn tego zjawiska jest jednostronna selekcja ryb hodowlanych i w związku z tym ograniczona w skali populacji różnorodność występujących u nich genów. Uważa się, że mała różnorodność genów w populacjach ryb jest ważnym czynnikiem ryzyka

zwiększającym prawdopodobieństwo wystąpienia u nich chorób. Nie zapobiega temu nawet krzyżowanie się ryb hodowlanych z dzikimi. Powodem obniżenia się kondycji i odporności ryb pochodzących z wylęgarni, między innymi na rabdowirusy, są oczywiście nie tylko zmiany genetyczne, ale również czynniki związane z warunkami hodowli (35, 36).

Analiza przedstawionego w tej publikacji materiału pozwala na sformułowanie przyczyn powstawania nowych i rozprzestrzeniania się już istniejących chorób ryb wywołanych przez rabdowirusy:

1. Osłabienie odporności ryb wskutek różnego rodzaju stresów jako uniwersalna przyczyna usposabiająca do występowania różnych chorób jest szczególnie istotna w przypadku mikroorganizmów o stosunkowo niewielkiej patogenności, np. w przypadku wiosennej wirerii u karpia w Europie.
2. Przeniesienie ryb lub ikry wraz z występującymi u nich wirusami do nowego rejonu geograficznego, jak to miało miejsce w przypadku przewiezienia pstrąga tęczowego oraz jego ikry wraz z wirusem IHN z Ameryki do Europy.
3. Przeniesienie ryb do nowych rejonów, gdzie dotąd nie występowały, a co za tym idzie – stworzenie warunków pozwalających na zetknięcie się ich z nowymi dla nich genotypami wirusa, jak to miało miejsce w przypadku przewiezienia pstrąga tęczowego z Ameryki do Europy i łososia atlantyckiego z Morza Północnego do Ameryki celem hodowli w sadzach w Pacyfiku.
4. Zakażenie ryb śródlądowych przez karmienie ich rybami morskimi będącymi nosicielami wirusów, jak to miało miejsce na początku hodowli pstrągów tęczowych w Europie i prawdopodobnie w przypadku zakażenia wirusem hiramie u lipienia w Polsce.
5. Masowe zarybianie zbiorników naturalnych rybami pochodzącymi z wylęgarni, połączone z pojawieniem się dużej ilości ryb o mało zróżnicowanym genotypie, mało opornych w skali populacji na ekstremalne zmiany środowiska naturalnego oraz na czynniki chorobotwórcze, co prawdopodobnie było główną przyczyną śnięć ryb w Wielkich Jeziorach w Ameryce Północnej.

Z przytoczonych przykładów wynika, że wszystkie poważne przypadki śnięć występujące u ryb w różnych częściach świata można zawsze powiązać z działalnością człowieka. Nie zawsze kontrolowany w właściwy sposób obrót żywymi rybami, często nieprzemyślane akcje zarybieniowe zbiorników naturalnych i niekontrolowane introdukcje nowych gatunków ryb sprzyjają powstawaniu patogennych dla ryb mutacji wirusów, które coraz częściej wywołują

masowe śnięcia ryb śródlądowych i morskich, zarówno hodowlanych, jak i wolno żyjących. Coraz bardziej powszechne badania sekwencji nukleotydów w kwasach nukleinowych wirusów ryb pozwalają określać źródła zakażeń, a nawet śledzić wędrówki różnych szczepów wirusów i ich ewolucję. Wiedza z tego zakresu stanowi potężną broń w walce z wirusowymi chorobami ryb, między innymi wywołwanymi przez rabdowirusy.

Piśmiennictwo

1. Workenhe S.T., Rise M.L., Kibenge M.J.T., Kibenge F.S.B.: The balance between the teleost fish immune response and aquatic viruses. *Molecular Immunology*. 2010, **47**, 2525–2536.
2. Chandrasekaran C., Betran E.: Origins of new genes and pseudogenes. *Nature Education* 2008, **1**, 181–199.
3. Hoffman B., Beer M., Schutze H., Mettenleier T.C.: *Fish Rhabdoviruses: Molecular Epidemiology and Evolution*. Springer Verlag, Berlin 2005.
4. Kyle A.G., Traxler G.S., Hawley L.M., Richard H.J., Ross J.P., Lovy J.: Molecular epidemiology of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) In British Columbia, Canada, reveals transmission from wild to farmer *Fish. Dis. Aquat. Org.* 2013, **104**, 93–104.
5. Einer-Jensen K.P., Ahrens P., Forber R., Lorenzen N.: Evolution of the fish rhabdovirus viral haemorrhagic septicaemia virus. *J. Gen. Virol.* 2004, **85**, 1167–1179.
6. Thompson T.M., Batts W.N., Feisal M., Bowser P.: Emergence of Viral hemorrhagic septicaemia virus in the North America Great Lakes region is associated with low viral genetic diversity. *Dis. Aquat. Org.* 2011, **96**, 29–43.
7. Benmansour A., Basurco B., Monnier A.F., Vende P., Vinton J.R., de Kinkelin P.: Sequence variation of the glykoprotein gene identifies three distinct lineages within field isolates of viral haemorrhagic septicaemia virus, a fish rhabdovirus. *J. Gen. Virol.* 1997, **78**, 2837–2836.
8. Jensen K.E., Ahrens P., Forsberg R., Lorenzen N.: Evolution of the fish rhabdovirus viral haemorrhagic septicaemia virus. *J. Gen. Virol.* 2004, **85**, 1167–1179.
9. Skall H.F., Olesen N.J., Møllergaard O.S.: Prevalence of viral haemorrhagic septicaemia virus in Danish marine fishes and its occurrence in new host species. *Dis. Aquat. Org.* 2005, **66**, 145–151.
10. Hedrick R.P., Batts W.N., Yuen S., Traxler G.S., Kaufman J., Winton J.R.: Host and geographic range extension of the North American strain of viral hemorrhagic septicaemia virus. *Dis. Aquat. Org.* 2003, **55**, 211–220.
11. Hershberger P.K., Kocan R.M., Elder N.E., Meyers T.R., Winton J.R.: Epizootiology of viral hemorrhagic septicaemia virus in Pacific herring on the spawn on kelp fishery on Prince William Sound Alaska, USA. *Dis. Aquat. Org.* 1999, **37**, 23–39.
12. Schaperclaus W.: *Die Immunisierung vom karpfen gegen Bachwassersucht auf natürlichen und künstlichen Wege*. Fischerei, Neudamm. 1938.
13. Wolf K.: *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. Cornell University Press, Ithaca New York 1988.
14. Smail D.A.: Viral haemorrhagic septicaemia. W: Woo P.T.K., Bruno D.W.: *Fish Diseases and Disorders*. Vol. 3. CAB International, New York 1999.
15. Snow M., Bain N., Black J., Taupin V., Cunningham C.O., King J.A., Skall H.F., Raynard R.S.: Genetic population structure of marine viral haemorrhagic septicaemia virus (VHS). *Dis. Aquat. Org.* 2004, **61**, 11–21.
16. Lindsey R.P., Stepien C.A.: Evolution and biogeography of an emerging quasispecies: diversity patterns of the fish viral hemorrhagic septicaemia virus VHSV. *Mol. Phylog. Evol.* 2012, **63**, 327–341.
17. Ammayappan A., Vakharia V.N.: molecular characterisation of the Great Lakes viral hemorrhagic septicaemia virus (VHS) isolate from USA. *Virol. J.* 2009, **16**, 1–16.
18. Kim R., Feisal M.: Comparative susceptibility of representative Great Lakes fish species to the North America viral hemorrhagic septicaemia virus sublineage IVb. *Dis. Aquat. Organ.* 2010, **91**, 23–34.
19. Pore A.J.: *Studies on host-virus interaction for viral haemorrhagic septicaemia virus (VHS)*. A Thesis. The University of Toledo, 2012.
20. United States Department of Agriculture (USDA): Viral hemorrhagic septicaemia in the Great Lakes. Emerging Disease Notice. 2006.

21. Rowe D., Hoglers S.: Green Bay Great Lakes spotted management Plan 2012. Bureau of Fisheries Management Department of Natural Resources, Wisconsin 2012.
22. Follett J.E., Burton T.O.: Epizootics of infectious hematopoietic necrosis virus in an enhanced population of hockey salmon *Oncorhynchus nerka* smolts at Chenik Lake, Alaska, Alaska Department of Fisheries Research Bulletin 1995, **2**, 137–142.
23. Troyer R.M., Kurath G.: Molecular epidemiology of infectious hematopoietic necrosis virus reveals complex virus traffic and evolution within southern Idaho aquaculture. *Dis. Aquat. Org.* 2003, **55**, 175–185.
24. Ezman P.Z., Castric J., Bovo G., Thierry R., Fichtner D., Schutze H., Wahli T.: Evolution of hematopoietic necrosis virus (IHNV), a fish rhabdovirus, in Europe over 20 years: implications for control. *Dis. Aquat. Org.* 2010, **89**, 9–15.
25. Kim D.H., Oh H.K., Eou J.L., Kim S.K., Oh M.J., Nam S.W., Choi T.J.: Complete nucleotide sequence of the hiramie rhabdovirus, a pathogen of marine fish. *Virus. Res.* 2005, **107**, 1–9.
26. Nihizawa T., Kinoshita S., Kim W.S., Higashi S., Yoshimizu M.: Nucleotide diversity of Japanese isolates of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) based on the glycoprotein gene. *Dis. Aquat. Org.* 2006, **71**, 267–272.
27. Gorie S., Nakamoto K., Katashima K.: Disease of cultured hiramie (Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*) – Preliminary report on a disease of marine pen cultured hiramie may be caused by viral infection. *Bull. Hyogo Pref. Fish. Exp. Stn.* 1985, **23**, 66–68.
28. Kimura T., Yoshimizu M., Gorie S.: A new rhabdovirus isolated in Japan from cultured hiramie (Japanese flounder) *Paralichthys olivaceus* and ayu *Plecoglossus altivelis*. *Dis. Aquat. Organ.* 1986, **1**, 209–217.
29. Antychowicz J.: 70-lecie Zakładu Chorób Ryb Państwowego Instytutu Weterynaryjnego i 100 lat ichtiopatologii polskiej. *Zycie Wet.* 2009, **2**, 148–152.
30. Borzym E., Matras M., Maj-Paluch J., Stachnik M., Reichert M.: HIRRV, a new candidate for listed diseases, Report on the 17-th Annual Meeting of the National Reference Laboratories for Fish Diseases, Copenhagen, Denmark 2013, 37–38.
31. Nelson R.: Exotic spring wiremia of carp virus confirmed in common carp taken from Calumet-Sag Channel Near Chicago, Illinois. <http://news.fws.gov/newsreleases/r3/ESDE11CB-EFS1-49E8-A147A9955185C7C9.html> 2003.
32. Pahl A., Verghese B.: Molecular evolutionary and epidemiological dynamics of a highly pathogenic fish rhabdovirus, the spring wiremia of carp virus (SVC). *Vet. Microbiol.* 2012, **156**, 54–63.
33. Zhang N.Z., Zang L.F., Jang Y.N., Zhang T., Xia C.: Molecular analysis of spring viraemia of carp virus in China: a fatal aquatic viral disease that might spread in East Asia. *PLoS ONE*(4): e6337. Doi: 10.1371/journal.pone.0006337. 2009.
34. Otis M.: Molecular epidemiology of outbreaks of spring wiremia of carp virus in North America, Europe and Asia. Pro Quest Information and Learning Company. Ann Arbor. 2008.
35. Einum S., Fleming I.A.: Implications of shocking: ecological interactions between wild and released salmonids. *Nord. J. Freshwater Res.* 2001, **75**, 56–70.
36. Weber E.D., Fausch K.D.: Interactions between hatchery and wild salmonids in streams: differences in biology and evidence for competition. *Can. J. Fish. Aquatic Sci.* 2003, **11**, 1018–1036.

Prof. dr hab. Jerzy Antychowicz,
e-mail: jerzy.antychowicz@gmail.com