

Aktualne problemy oraz nowe metody w ochronie zdrowia ryb

Prof. dr hab. med.wet. Andrzej Krzysztof Siwicki

Zakład Patologii i Immunologii Ryb Instytutu Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

Stałe doskonalenie oraz wprowadzanie nowych wysoce skutecznych metod ochrony zdrowia ryb jest jednym z podstawowych czynników decydujących o efektach ekonomicznych i postępie w chowie i hodowli ryb. Obserwowany w ostatnim dziesięcioleciu szybki rozwój nowych technologii podchowu kontrolowanego, intensyfikacja produkcji materiału zarybieniowego oraz stale postępujące skażenie środowiska ksenobiotykami są czynnikami decydującymi o nasilaniu się chorób infekcyjnych i środowiskowych. Równocześnie drobnoustroje patogenne stale doskonaliły własne zdolności adaptacyjnych i zmieniają swoją zjadliwość. W ostatnich latach pojawiły się nowe, dotychczas nie występujące choroby tła wirusowego czy bakteryjnego, które powodują coraz większe straty w chowie i hodowli ryb. Natomiast szereg niepatogennych czy warunkowo patogennych drobnoustrojów znacznie zwiększyło swoją zjadliwość doprowadzając do ostrych czy podostrych chorób, przy których tradycyjne metody leczenia są mało skuteczne. W tym miejscu należy wyraźnie podkreślić, że choroby organizmów wodnych, a szczególnie ryb, różnią się istotnie od chorób występujących u zwierząt lądowych. Patogenne drobnoustroje wykorzystują środowisko wodne do swojego rozwoju i przetrwania oraz jako drogę transportu do organizmów docelowych. Wszystkie czynniki, które wpływają na ekologię wód, oddziałują na wzrost, przeżywalność i zjadliwość drobnoustrojów chorobotwórczych oraz równocześnie na stan kondycyjny i mechanizmy obronne ryb, gwarantujące przeżycie w danym środowisku. W związku z powyższym leczenie ryb nie może być zawężone do jednego osobnika, jak to ma miejsce u zwierząt lądowych, ale musi być rozważane w aspekcie oddziaływania na cały ekosystem wodny. Niewłaściwe użycie w terapii antybiotyków lub innych chemioterapeutyków w akwakulturze może spowodować zmiany w całym ekosystemie wodnym. Dość często efektem takiego postępowania jest szybka selekcja opornego drobnoustroju, który w dalszym ciągu zakłóca dany ekosystem, przekazując oporność na inne mikroorganizmy, dość często patogenne dla zwierząt stałocieplnych czy człowieka. Najnowsze badania jednoznacznie wykazały, że stosowanie antybiotyków czy innych chemioterapeutyków do kontroli i zwalczania chorób ryb powinno być znacząco ograniczone, gdyż jest to postępowanie o krótkotrwałych efektach i powoduje zwiększoną wrażliwość ryb na wtórne infekcje poprzez osłabienie naturalnych barier obronnych. A więc

doskonalenie metod ochrony zdrowia ryb przez stosowanie nowych i wysoce skutecznych metod profilaktyki ogólnej i immunoprofilaktyki jest alternatywą dla tych zjawisk.

Ochrona zdrowia ryb winna opierać się na niskostresogennych technologiach chowu, zapewniających optymalne warunki środowiskowe dla wszystkich wiekowiec ryb, a głównie tarlaków. W nowych technologiach muszą być wprowadzane nowoczesne metody profilaktyki i terapii, wysoce skuteczne i mało toksyczne dla środowiska. Stałym problemem w zamkniętych czy pół zamkniętych systemach chowu ryb jest monitorowanie mikrobiologiczne wody z szybka eliminacją czynników patogennych.

Dotychczas stosowane metody profilaktyki oparte na odpowiednim dla gatunku i wieku żywieniu, zawierającym niezbędne składniki decydujące o prawidłowym funkcjonowaniu organizmu, wysoce skutecznych metodach dezynfekcyjnych, czy odpowiednim ustawodawstwie z precyzyjnie określonymi wymogami dotyczącymi hodowli i zwalczaniu chorób nie w pełni pozwoliło na ograniczenie strat powodowanych chorobami infekcyjnymi czy środowiskowymi w akwakulturze. Zmusza to do poszukiwania nowych, wysoce skutecznych metod profilaktyki które są ukierunkowane na następujące elementy:

1. Wczesne i szybkie diagnozowanie chorób z identyfikacją czynnika patogennego nim wystąpią objawy kliniczne choroby, co pozwoli na ukierunkowane zabiegi profilaktyczno-lecznicze. Dotyczy to między innymi tzw. „odpowiedzi ostrej fazy” czyli wczesnej reakcji organizmu na wniknięcie czynnika patogennego z wykorzystaniem stałego monitorowania białek ostrej fazy.
2. Stosowanie immunoprofilaktyki nieswoistej z wykorzystaniem naturalnych i syntetycznych immunomodulatorów aktywujących nieswoiste mechanizmy obronne i odporność przeciwwakaźną. Szczególnie biostymulatory należą do nietoksycznych dla organizmu oraz obojętnych dla środowiska preparatów, które w efektywny sposób poprawiają stan kondycyjny i zdrowotny ryb.
3. Wprowadzanie immunoprofilaktyki swoistej przez opracowanie nowej generacji wysoce skutecznych szczepionek na ryb. Pobudzanie odpowiedzi immunologicznej przeciwko określonemu patogenowi, zanim dojdzie do naturalnego ich kontaktu i wywołania choroby, wydaje się najbardziej efektywną drogą zapobiegania chorobom infekcyjnym u ryb. Równocześnie istnieje konieczność doskonalenia metod aktywowania nieswoistych i swoistych mechanizmów obronnych u ryb pochodzących z tzw. intensywnych systemów podchowu w obiegach zamkniętych, przed zarybieniem nimi zbiorników otwartych, co wyeliminuje duże straty w dalszej hodowli.

4. Dalsza intensyfikacja badań selekcyjnych opartych na najnowszych osiągnięciach w genetyce molekularnej mających na celu uzyskiwanie linii o najwyższym potencjale obronnym i adaptacyjnym, przy równoczesnym utrzymaniu ich wysokich walorów hodowlanych. Liczne badania wykazały, że odporność ryb na choroby zakaźne jest determinowana wieloma czynnikami, ale dynamiczny rozwój badań molekularnych stworzył nowe możliwości określania molekularnych podstaw wrażliwości danego osobnika czy gatunku ryb na choroby wirusowe czy bakteryjne.

Przedstawione powyżej najnowsze kierunki odnoszą się jedynie do zapobiegania chorobom. Istotnym elementem ochrony zdrowia ryb to doskonalenie metod terapii opartej na wysoce skutecznych i nisko toksycznych antybiotykach czy chemioterapeutykach. Ograniczenie stosowania antybiotyków jest już procesem już rozpoczętym, ale nie rozwiązaniem. Pierwszym krokiem w tym kierunku jest stosowanie chemioterapeutyków jedynie w nośnikach zamkniętych – granulatach interwencyjnych. Granulaty interwencyjne to element bez którego rybactwo nie będzie mogło dokonać postępu w zakresie ochrony zdrowia ryb. Wprowadzenie do praktyki granulatów interwencyjnych to znaczące ograniczenie stosowania antybiotyków z eliminacją szeregu zagrożeń ekologicznych oraz zwiększenie ich efektywności działania przez precyzyjne dawkowanie i efektywną wchłaniania z przewodu pokarmowego. Równocześnie konieczny jest dalszy rozwój badań nad genetycznymi uwarunkowaniami oporności bakterii patogennych dla ryb oraz stałe poszukiwanie nowych, wysoce skutecznych a nisko toksycznych chemioterapeutyków, przez wykorzystanie genomiki i proteomiki.

Chemioterapeutyki i szczepionki stanowią od lat uzupełniające się sposoby zwalczania chorób infekcyjnych. Jednakże istnieje konieczność intensyfikacji badań nad opracowaniem wysoce skutecznych szczepionek mono i poliwalentnych w ochronie zdrowia ryb. Aktualnie dostępnych dla ryb jest jedynie kilka szczepionek wysoce skutecznych przeciwko chorobom bakteryjnym, natomiast stale brak jest skutecznych i tanich szczepionek przeciwko chorobom wirusowym, powodującym największe straty w hodowli. Jedyną szansą są swoiste i nieswoiste szczepionki nowej generacji (szczepionki wektorowe, DNA, antyidiotypowe), które pozwolą na efektywną stymulację nieswoistej i swoistej odpowiedzi immunologicznej z wysoką i długo utrzymującą się protekcją. Równocześnie istnieje konieczność doskonalenia metod immunizacji, gdyż aktualnie stosowane podawanie szczepionek drogą immersji czy iniekcji jest wysoce stresogenne i ogranicza efektywność szczepień. Alternatywą jest rozwój badań nad szczepionkami podawanymi *per os*, które wyeliminują stres polietologiczny i

zwiększa dostępność antygeny szczepionkowego, co znacząco poprawi efektywność szczepień.

Wymogi Unii Europejskiej w zakresie zdrowia ryb jednoznacznie określone i dotyczą nadzoru sanitarno-weterynaryjnego nad rozrodem, hodowlą, obrotem i przetwórstwem ryb (Dyrektywa Rady: 91/67/EEC, 91/493/EEC, 92/48/EEC). Stan zdrowotny zwierząt pochodzących z tzw. kultur wodnych nie jest jednakowy na całym terytorium Wspólnoty, co zmusiło UE do ujednolicenia zasad kontroli i wymagań w zakresie hodowli ryb. Dotyczy to szczególnie niezbędnych działań, mających na celu uniknięcie rozprzestrzeniania się chorób zakaźnych i zaraźliwych. W tym szczegółowo zostały określone kryteria i procedury dotyczące przyznawania, utrzymywania, zawieszania, przywracania i wycofywania specjalnych statusów dla gospodarstw rybackich o dobrym stanie zdrowotnym. Równocześnie zostały sformułowane przez UE szczegółowe wymagania weterynaryjne obowiązujące przy imporcie zwierząt i produktów pochodzących z kultur wodnych, które mają zapobiegać zawlekanii chorób z krajów trzecich. Realizacja przedstawionych powyżej wymogów prawnych jest ściśle uzależniona od skutecznej współpracy państw członkowskich Unii Europejskiej, która jest nadzorowana i koordynowana przez Stały Komitet Weterynaryjny Unii Europejskiej. Polska wprowadzając w życie ustawę o zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badaniu zwierząt rzeźnych i mięsa oraz o Państwowej Inspekcji Weterynaryjnej (DZ.U. nr 60 poz. 369 z dnia 14 czerwca 1997) uwzględniła wymagania UE w zakresie wymagań weterynaryjnych, które należy spełnić przy chowie i hodowli zwierząt, w tym również ryb. Wymagania zawarte w ustawie dotyczą warunków lokalizacyjnych, technicznych, sanitarnych, technologicznych oraz organizacyjnych zabezpieczających przed zagrożeniem epizootycznym i epidemiologicznym oraz zapewniających właściwą jakość zdrowotną środków żywności pochodzenia zwierzęcego oraz jakość materiału biologicznego. Wymogi te zostały ujednolicone z wymogami stawianymi przez UE, również w zakresie ryb.

Przedstawione powyżej dane jednoznacznie sugerują, że wymagania UE w zakresie ochrony zdrowia ryb dotyczą głównie nadzoru weterynaryjnego nad hodowlą, obrotem i przetwórstwem ryb. Natomiast nie obejmują one praktycznie nowych kierunków w zakresie doskonalenia metod ochrony zdrowia ryb. Wiadomo jest, że każdy kraj członkowski posiada własne programy badawcze oraz wdrożeniowe dotyczące doskonalenia metod ochrony zdrowia ryb. Jest to ściśle uzależnione od strefy klimatycznej, profilu produkcji czy zaawansowania technologii. Istnieje znaczne zróżnicowanie w zakresie metod profilaktyki i terapii między np. Włochami i Grecją a Szwecją i Finlandią. W związku z powyższym konieczny jest ukierunkowany i indywidualnie przez każde państwo członkowskie

opracowywany własny program ochrony zdrowia ryb oraz doskonalenia metod ograniczających straty powodowane chorobami nieinfekcyjnymi i infekcyjnymi. Jednakże musi on być dopasowany do wymogów UE i równocześnie respektowany przez państwa członkowskie. Polska należy do krajów o znaczących osiągnięciach w zakresie doskonalenia metod ochrony zdrowia ryb. Wchodząc do UE rybactwo polskie ma do zaproponowania szereg nowatorskich rozwiązań, szczególnie w zakresie profilaktyki nieswoistej i swoistej czy badań selekcyjnych, które z pewnością znajdą zwolenników w innych krajach członkowskich.

Nowe zagrożenia w hodowli ryb karpiowatych

W ostatnich latach obserwuje się znaczący wzrost zachorowań ludzi i zwierząt na choroby wywoływane przez wirusy zaliczane do *Herpesviridae*. Zjawisko to jest obserwowane nie tylko u ludzi żyjących w różnych strefach klimatycznych oraz zwierząt stałocieplnych lecz również u ptaków (drób, indyki), gadów, płazów i ryb. Zwiększenie zagrożenia powodowanego herpeswirusami zmusił naukowców do rozwoju badań dotyczących patogenności tej grupy wirusów w aspekcie filogenetycznym. Szczególnie znaczenie posiadają badania dotyczące struktury genomu herpeswirusów izolowanych od ryb, płazów i gadów oraz porównanie ich z genomami herpeswirusów patogennych dla zwierząt stałocieplnych i człowieka. Identyfikacja sekwencji genetycznej pozwoliła na wyjaśnienie szeregu zjawisk dotyczących patogenności herpeswirusów oraz ich oddziaływanie na mechanizmy obronne i odporność swoistą. Pomimo podobieństwa z ludzkimi herpeswirusami dotyczącymi struktury cząsteczki wirusa i organizacji genomu, nie stwierdzono homologii pomiędzy przewidywanymi sekwencjami aminokwasowymi białek między wirusami izolowanymi od ryb i człowieka, z wyjątkiem krótkich identyfikatorów odcinków funkcjonalnych dla kinazy tymidyny.

Herpeswirusy cechują się dużą zmiennością oddziaływania na organizm z uwagi na różnorodność chorób jakie mogą wywołać u ryb, zwierząt stałocieplnych czy człowieka. Herpeswirusy indukują różne postacie chorób: od bezobjawowych infekcji do ostrych posocznic z wysoką śmiertelnością. Coraz częściej stwierdza się w badaniach eksperymentalnych onkogenne właściwości herpeswirusów izolowanych od ryb łososiowatych i karpiowatych. Cechą charakterystyczną herpeswirusów izolowanych od ryb jest ich wysoka patogenność, a choroby przez nie wywołane mają charakter posocznicowy. W jamie ciała gromadzi się płyn wysiękowy, a narządy wewnętrzne są powiększone z licznymi ogniskami martwiczymi. U ryb zmiany te dotyczą najczęściej w tkance krwiotwórczej nerek, komórkach wątroby, śledziony oraz całego przewodu pokarmowego. Szczególnie istotne są zmiany martwiczne w komórkach skórnych oraz skrzelowych, doprowadzające do masowych

śnieć ryb. Zakażone wirusem komórki wykazują charakterystyczne zmiany degeneracyjne obejmujące rozpad jądra oraz wakuolizację i rozplywność cytoplazmy.

U ryb hodowlanych wyizolowano i sklasyfikowano ponad 20 herpeswirusów, które podzielono na grupy w zależności od gatunku u którego wywołują zmiany chorobowe. Do najważniejszych zaliczamy:

- herpeswirusy ryb łososiowatych; herpeswirus pstrąga typ I (SalHV-1) oraz typ II: OMV, NeVTA, YTV i CSTV,
- herpeswirusy ryb sumowatych (IcHV-1, CCV),
- herpeswirusy karpowatych: herpeswirus karpia 1 (CyHV-1), herpeswirus karpia 2 (CyHV-2), herpeswirus karpia 3 (CyHV-3/KHV),
- herpeswirusy ryb jesiowatych (AciHV-1 i AciHV-2).

Cechą charakterystyczną budowy herpeswirusów ryb jest ikosadralny kapsyd utworzony z 162 kapsomerów, które są otoczone substancją białkową, w skład której wchodzi glikoproteiny kodowane przez wirusa. Kapsyd zawiera pojedynczą liniową cząsteczkę podwójnej nici DNA, która jest replikowana w jądrze infekowanych komórek. Bardzo istotnym zjawiskiem jest wysoka specyficzność zakresu gospodarza, co sugeruje blisko związaną koewolucję.

U karpia po raz pierwszy wyizolowano herpeswirus określany jako herpeswirus karpia 1 (CyHV-1) w 1985 roku który był wysoce patogenny dla 2 tygodniowego narybku karpia. Następnie masowe śnięcia karasia (*Carassius auratus*) w Japonii spowodował herpeswirus określany jako herpeswirus karpia 2 (CyHV-2). W USA wirus CyHV-2 spowodował na wiosnę 100 % śnięcia karasia. Koi herpes wirus (KHV) został po raz pierwszy wyizolowany od tego gatunku ryb w USA, a następnie pojawił się w różnych krajach (Izrael, Niemcy, Japonia, Korea, Holandia, Wielka Brytania, Indonezja) powodując znaczne straty w hodowli tego gatunku ryb. W ostatnich latach pojawiły się doniesienia o występowaniu masowych śnięć karpia, a czynnikiem chorobowym okazał się KHV. Zjawisko to wzbudziło duży niepokój wśród naukowców i hodowców.

Zakład Patologii i Immunologii Ryb Instytutu Rybactwa Śródlądowego od 1980 roku prowadzi systematyczne badania nad etiologią i patogenezą chorób wirusowych ryb powodowanych przez wirusy zaliczane do rodziny *Rhabdoviridae*, *Birnaviridae*, *Retroviridae*, *Iridoviridae* i *Herpesviridae*, a od 1996 roku realizuje we współpracy z Katedrą Epizootiologii z Kliniką Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej badania naukowe nad etiologią i patogenezą chorób wirusowych w aspekcie porównawczym. Szczególnie rozwijane są badania nad doskonaleniem metod szybkiej diagnostyki oraz opracowanie skutecznych

metod zapobiegania i zwalczania chorób wirusowych ryb. W ramach współpracy z ośrodkami naukowymi z USA, Japonii i Francji prowadzone są badania nad stymulowaniem odporności przeciwwirusowej u ryb. W 2001 roku podjęto w Zakładzie Patologii i Immunologii Ryb IRS we współpracy z Katedrą Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie oraz LDA-39 Francja badania nad określeniem wpływu herpeswirusów na komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u sumy i karpia. Zarówno w 2002, jak w 2003 roku z dostarczonych do Zakładu Patologii i Immunologii Ryb IRS oraz Katedry Epizootiologii UWM ryb, z gospodarstw rybackich na terenie Polski, nie stwierdzono badaniami klinicznymi, anatomo-patologicznymi jak i specjalistycznymi badaniami wirusologicznymi obecności wirusa CyHV-3 (KHV) oraz innych wirusów z rodziny *Herpesviridae*. W 2004 roku rozpoczęto badania w szerszym zakresie uwzględniając te gospodarstwa, w których wystąpiły śnięcia w poprzednich latach, a badaniami objęto nie tylko karpia, lecz również koi karpia, karasia, sandacza, szczupaka, lina, amura, tołpygę i importowane do Polski w ostatni okresie koi karpie z Chin. W ponad 20 gospodarstwach na terenie Polski stwierdzono w latach 2004 - 2005 obecność wirusa CyHV-3 (KHV), a śnięcia spowodowane tą nową jednostką chorobową określaną jako wirusowe zapalenie nerek i martwicy skrzelu karpia wywołany przez wirus CyHV-3 (potocznie KHV) dochodziły nawet do 500 % obsady. Również w latach 2006 – 2007 nasilały się śnięcia powodowane tym wirusem, szczególnie u narybku w pierwszym roku życia oraz u krocza, doprowadzając do strat sięgających nawet 80 % obsady

Aktualnie Instytut Rybactwa Śródlądowego dysponuje szybkimi testami, opartymi na metodach molekularnych (PCR), do szybkiej diagnostyki wirusów RNA u karpia (wiosennej wiremii karpia- SVC) oraz wirusów DNA (CyHV-3/KHV i ospa karpia). Równocześnie IRS rozpoczął badania wdrożeniowe, dla potrzeb hodowców karpia, nad zastosowaniem granulatów interwencyjnych mających na celu:

- stymulowanie odporności przeciwwirusowej u narybku, krocza i tarlaków karpia,
- zmniejszenie do minimum straty powodowane chorobami wirusowymi w hodowli karpia,
- ograniczenie rozprzestrzeniania się chorób wirusowych w gospodarstwach hodowli karpia.

Wstępne wyniki są bardzo zachęcające i stwarzają możliwości stałego monitorowania chorób w gospodarstwach karpowych oraz ograniczenia strat powodowanych wirusem CyHV-3 (KHV).