

# Rabdovirusna infekcija jegulja prouzročena europskim virusom jegulje X (EVEX)



## Eel virus European X (EVEX) - the cause of rhabdovirus infection in European eel

Gjurčević, E.\* , H. Meško, M. Lukač, K. Drašner, K. Kuri, K. Matanović

### Sažetak

**D**anas je prirodna populacija jegulje (*Anguilla anguilla*) smanjena i ugrožena. Prema kriterijima i kategorijama Međunarodnog saveza za očuvanje prirode (IUCN) jegulja je uvrštena u kategoriju kritično ugrožene vrste. Prema mišljenju Međunarodnog vijeća za istraživanje mora (ICES) stanje populacije kritično je. Brojni su i raznovrsni čimbenici doveli do smanjenja prirodne populacije. Među njima svakako treba spomenuti bolesti (van Ginnen i sur., 2005.b; Hilge, 2006.; Haenen i sur., 2012.; Bellec i sur., 2014.; Jacoby i Gollock, 2014.; ICES, 2017.b). Možemo zaključiti da je radi očuvanja prirodne populacije nužno provoditi mjere za sprečavanje određenih bolesti, među kojima i rabdovirusne infekcije prouzročene europskim virusom jegulje X.

44

**Ključne riječi:** europski virus jegulje X (EVEX), jegulja (*Anguilla anguilla*), rabdovirusna infekcija

### Abstract

In recent decades there has been a continuous decline in the wild European eel (*Anguilla anguilla*) population. European eel is currently on the IUCN (International Union for Conservation of Nature) Red List of Threatened Species, designated as "Critically Endangered". According to the International Council for the Exploration of the Sea (ICES) the status of the European eel stock is critical. There are a number of causes of the decline of population. Among them, diseases are worthy of mention (van Ginneken et al., 2005.b; Hilge, 2006.; Haenen et al., 2012.; Bellec et al., 2014.; Jacoby i Gollock, 2014.; Ices, 2017.b). It may be concluded that in order to preserve the wild European eel population it is essential to implement specific control measures for rhabdovirus infection caused by Eel virus European X (EVEX).

**Key words:** Eel virus European X (EVEX), European eel (*Anguilla anguilla*), rhabdovirus infection

dr. sc. Emil GJURČEVIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Krešimir MATANOVIĆ, dr. med. vet., docent, Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hana MEŠKO, studentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, dr. sc. Maja LUKAČ, dr. med. vet., Zavod za bolesti peradi s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Krešimir DRAŠNER, dr. med. vet., student doktorskog studija, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Krešimir KURI, dr. med. vet., student doktorskog studija, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

\*Dopisni autor: egjurcevic@vef.hr

## Uvod

Rabdovirusnu infekciju jegulja može prouzročiti nekoliko širom svijeta proširenih rabdovirusa, među kojima i europski virus jegulje X (Eel virus European X) ili skraćeno EVEX (Plumb, 1999.; Bootland i Leong, 2011.; Plumb i Hanson, 2011.; Haenen i sur., 2012.; Smail i Munro, 2012.; van Beurden sur., 2012.). Ova rabdovirusna infekcija nije na popisu bolesti Svjetske organizacije za zdravlje životinja (OIE) koje se obvezno prijavljuje, niti je podložna mjerama Europske unije za sprječavanje i suzbijanje određenih bolesti akvatičnih životinja. No unatoč tomu u novije joj se vrijeme posvećuje sve veća pozornost.

## Etiologija

EVEX, kao i druga dva važna virusa jegulja, europski virus jegulje (EVE – porodica *Birnaviridae*) i herpesvirus jegulja 1 (AngHV1 – porodica *Alloherpesviridae*), uzrokuje nespecifičnu hemoragijsku bolest s povećanom smrtnošću (van Beurden i sur., 2011.; van Beurden i sur., 2012.; van Beurden i sur., 2016.). Sinonim za virus EVEX i blisko srodni američki virus jegulje (EVA) jest *Anguillid perhabdovirus* (Anonymous, 2019.). Svrstan je u rod *Perhabdovirus*, porodica *Rhabdoviridae* (Stone i sur., 2013.; Anonymous, 2019.). Dužine je 170 do 175 nm, a promjera 90 do 95 nm (Sano i sur., 1977.).

## Proširenost

Ovaj rabdovirus prvi je put izdvojen 1976. iz staklastih jegulja uvezenih u Japan iz Francuske (Sano

i sur., 1977.). Otada je izdvojen iz slobodnoživućih i uzgajanih jegulja, s klinički vidljivim znakovima bolesti ili bez njih, u brojnim europskim državama, Rusiji i Maroku (Haenen i sur., 2009.). Utvrđen je i u Novom Zelandu, u slobodnoživućih novozelandskih jegulja (*Anguilla dieffenbachi*) bez vidljivih znakova bolesti (van Ginneken i sur., 2004.).

## Prijemljive vrste

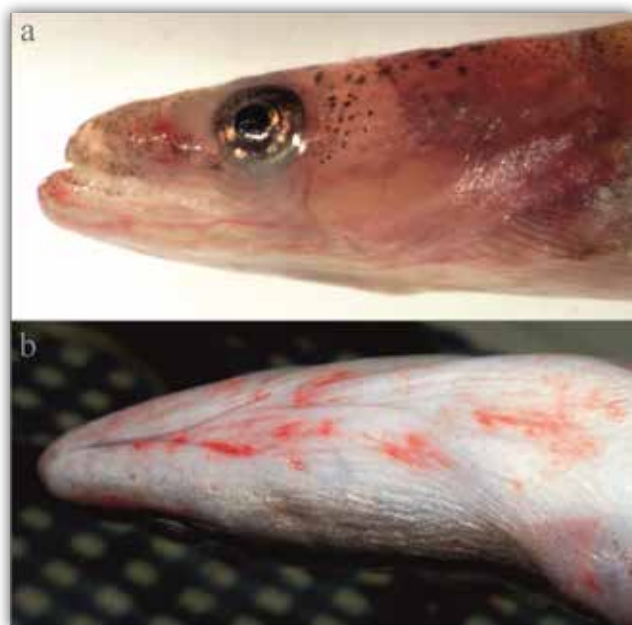
Prirodni slučajevi bolesti opisani su samo u jegulje (*Anguilla anguilla*). Na osnovi istraživanja provedenog u kontroliranim uvjetima utvrđeno je da osim jegulje može oboljeti i mlađa dužičaste pastrve (*Onchorhynchus mykiss*). Tijek pokusne infekcije u mlađa dužičaste pastrve uvelike ovisi o temperaturi vode. Inkubacija može trajati nekoliko dana. Pobol i smrtnost povećani su pri višim temperaturama vode. Pri temperaturi vode od 20 °C smrtnost u mlađa dužičaste pastrve može iznositi do 100 % (Nishimura i sur., 1981.).

## Znakovi bolesti

U jegulja u intenzivnoj proizvodnji (slika 1) bolest se najčešće razvija pri temperaturi vode između 15 i 20 °C (Haenen i sur., 2012.; van Beurden i sur., 2012.). Oboljeti mogu sve dobne kategorije. Stres (npr. zbog pogoršanja kakvoće vode ili premještanja ribe) pogoduje izbijanju bolesti (van Beurden i sur., 2012.). Oboljele su jegulje bezvoljne, prestaju uzimati hranu i mršave. Krvarenja u koži i perajama izražena su (slika 2). Koža je oštećena (Haenen i sur., 2009.).



Uzgoj jegulje (*Anguilla anguilla*) u recirkulacijskom sustavu (izvor: Ribnjačarstvo Poljana d.d.).



Slika 2. Punokrvnost kože i petehijalna krvarenja u jegulja uginulih od rbdovirusne infekcije prouzročene europskim virusom jegulje X (EVEX). Treba uočiti krvne žile u koži koje su prepunjene krvlju i petehije po glavi i trbuhu. a) Staklasta jegulja. b) Konzumna jegulja.

Česte su mješovite infekcije virusima AngHV1 i EVE, kao i sekundarne bakterijske infekcije (van Beurden i sur., 2012.). Smrtnost može iznositi do 20 %. Kod riba u stresu EVEX može prouzročiti i veća uginuća (Haenen i sur., 2009.). U jegulje je izbijanje ove hemoragijske bolesti, s nakupljanjem tekućine u tjelesnoj šupljini, edematoznim organima, anemijom i visokom smrtnošću (do 37,5 %), opisano i nakon intraperitonealne infekcije u laboratorijskim uvjetima (Shchelkunov i sur., 1989.).

EVEX je čest nalaz i u slobodnoživućih jegulja u otvorenim vodama i moru. Utvrđen je u različitim razvojnim stadijima; u staklastoj, žutoj i srebrnoj jegulji (Shchelkunov i sur., 1989.; van Ginneken i sur., 2005.b; Haenen i sur., 2009.; van Beurden i sur., 2012.; McConville i sur., 2018.; Hanel i sur., 2019.). Infekcija uglavnom protječe bez vidljivih znakova bolesti. Pojavi bolesti pogoduje stres. U srebrne jegulje jedan je od uzroka stresa migracija na mriješćenje u Sargaško more (Haenen i sur., 2009.) tijekom koje riba prelazi i do 6000 kilometara (van Ginneken sur., 2005.a). U simulaciji migracije istražen je utjecaj dugotrajnog plivanja na pojavu znakova bolesti. Istraživanje je pokazalo da se znakovi bolesti u prirodno inficiranih jegulja pojavljuju uslijed dugotrajnijeg plivanja. To izbijanje bolesti s opsežnim krvarenjima i anemijom ima za posljedicu daljnju smanjenu spo-

sobnost plivanja i uginuće nakon 1000 do 1500 kilometara. Nadalje, pretpostavlja se da zbog smanjenih plivačkih sposobnosti oboljele jegulje ne mogu doplivati u Sargaško more na mriješćenje. To rezultira smanjenjem prirodne populacije i ugrožava njezin opstanak (van Ginneken i sur., 2005.b).

### Dijagnostika

Od staklastih jegulja za laboratorijsku pretragu treba uzeti unutarnje organe, a od većih jegulja bubreg, slezenu, jetru, škrge i mozak (Wolf, 1988.; Plumb i Hanson, 2011.). Postavljanje dijagnoze zahtijeva izdvajanje virusa u kulturi stanica i npr. molekularnu identifikaciju metodom RT-PCR u stvarnom vremenu (van Beurden i sur., 2011.; McConcille i sur., 2018.). EVEX se može identificirati i neizravnom imunofluorescencijom (van Beurden i sur., 2011.), ali i imunoenzimnim testom (Dixon i Hill, 1984.). Elektronska mikroskopija također je u primjeni (van Ginneken i sur., 2004.; van Ginneken i sur., 2005.b). Za izdvajanje virusa prikladne su kulture stanica EPC, BF-2, EK-1, EO-2, FHM i RTG-2 pri temperaturama od 15 i 20 °C (Wolf, 1988.). Citopatski učinak (CPU) u RTG-2 staničnoj kulturi očituje se piknozom, granulacijom citoplazme i lizom stanica (Sano i sur., 1977.).

### Liječenje i profilaksa

Nema liječenja i ne postoji komercijalno cjepivo (van Beurden i sur., 2012.). U intenzivnom uzgoju podizanje temperature vode iznad optimalne za razvoj bolesti može smanjiti pobol i smrtnost (Plumb i Hanson, 2011.; van Beurden i sur., 2012.). Sprečavanje unošenja virusa u novu sredinu preporučena je mjera za zaštitu zdravlja uzgajanih i slobodnoživućih jegulja (Plumb i Hanson, 2011.; Anonymous, 2014.). Stoga novonabavljene jegulje treba staviti u karantenu i pregledati na prisutnost virusa (van Beurden i sur., 2012.). Kada je riječ o stanju i zdravlju prirodne populacije, prije poribljavanja treba provesti procjenu rizika uzimajući u obzir različite čimbenike, među kojima i prijenos bolesti (ICES, 2012.). Nadalje, za poribljavanje otvorenih voda i mora preporučuje se koristiti samo ribu koja je slobodna od bolesti (Hilge, 2006.). U Švedskoj se staklaste jegulje za poribljavanje obvezno stavlja u karantenu kako bi se spriječilo unošenje bolesti u otvorene vode (Anonymous, 2014.). Tako je za vrijeme trajanja karantene u 2017. zabilježeno povećano uginuće staklastih jegulja uvezenih u Švedsku iz Francuske. Budući da je iz oboljelih primjeraka izdvojen EVEX, sve su jegulje usmrćene i neškodljivo uklonjene (ICES, 2017.a).

## Literatura

- ANONYMOUS (2014): Prilozi izvješću Komisije Vijeću i Europskom parlamentu o ishodu provedbe planova gospodarenja stokom jegulje, uključujući procjenu mjera poribljavanja i kretanja tržišnih cijena jegulja duljine manje od 12 cm. Europska komisija, ANNEXES 1-2.
- ANONYMOUS (2019): ICTV Virus Taxonomy. Genus: Perhabdovirus. [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/negative-sense-rna-viruses/mononegavirales/w/rhabdoviridae/798/genusperhabdovirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/mononegavirales/w/rhabdoviridae/798/genusperhabdovirus) (8. travnja 2019.)
- BELLEC, L., J. CABON, S. BERGMANN, C. de BOIS-SÉSON, M. ENGELSMA, O. HAENEN, T. MORIN, N. J. OLESEN, H. SCHUETZE, A. TOFFAN, K. WAY, L. BIGARRÉ (2014): Evolutionary dynamics and genetic diversity from three genes of *Anguillid rhabdovirus*. *J. Gen. Virol.* 95, 2390-2401.
- BOOTLAND, L., J. C. LEONG (2011): Infectious Haematopoietic Necrosis Virus. U: *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, 2nd Edition. (Woo, P. T. K., D. W. Bruno, ur.). CAB International. Wallingford. 66-109.
- DIXON, P. F., B. J. HILL (1984): Rapid detection of fish rhabdoviruses by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Aquaculture* 42, 1-12.
- HAENEN, O., V. van GINNEKEN, M. ENGELSMA, G. van den THILLART (2009): Impact of Eel Viruses on Recruitment of European Eel. U: *Spawning Migration of the European Eel. Reproduction Index, a Useful Tool for Conservation Management* (van den Thillart, G., S. Dufour, J. C. Rankin, ur.). Springer. Dordrecht. 387-400.
- HAENEN, O. L. M., I. MLADINEO, R. KONECNY, M. YOSHIMIZU, D. GROMAN, P. MUÑOZ, A. SARAIVA, S. M. BERGMANN, S. J. van BEURDEN (2012): Diseases of eels in an international perspective: Workshop on Eel Diseases at the 15th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Split, Croatia, 2011. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 32, 109-115.
- HANEL, R., C. BRIAND, E. DIAZ, R. DÖRING, A. SAPOUNIDIS, W. WARMERDAM, M. ANDRÉS, M. FREESE, A. MARCELIS, L. MAROHN, J. D. POHLMANN, M. van SCHARRENBURG, N. WAIMANN, J. WALSTRA, M. WERKMAN, J. de WILDE, K. WYSUJACK (2019): Research for PECH Committee – Environmental, social and economic sustainability of European eel management. European Parliament, Policy Department for Structural and Cohesion Policies. Brussels.
- HILGE, V. (2006): Recovery of the stocks of the European eel (*Anguilla anguilla*) by spawner enhancement. *Inf. Fischereiforsch.* 53, 6-8.
- ICES (2012): Report of the Workshop on Eel and Salmon DCF Data (WKESDCF). (Copenhagen, 3. – 6. srpnja 2012.). Copenhagen, Denmark (67).
- ICES (2017a.): Report of the Joint EIFAAC/ICES/GFCM Working Group on Eels (WGEEEL). (Kavala, 3. – 10. listopada 2017.). Kavala, Greece (99).
- ICES (2017b.): ICES advice for 2017 on European eel (*Anguilla anguilla*). Sixty-ninth meeting of the Standing Committee, (Geneva, 27. studenoga – 1. prosinca 2017.). Geneva, Switzerland (1-6).
- -JACOBY, D., M. GOLLOCK (2014): *Anguilla anguilla*. The IUCN Red List of Threatened Species. [https://www.iucnredlist.org/species/60344/45833138%20\(24](https://www.iucnredlist.org/species/60344/45833138%20(24) (24. ožujka 2019.)
- McCONVILLE, J., E. FRINGUELLI, D. EVANS, P. SAVAGE (2018): First examination of the Lough Neagh European eel (*Anguilla anguilla*) population for eel virus European, eel virus European X and Anguillid Herpesvirus-1 infection by employing novel molecular techniques. *J. Fish Dis.* 41, 1783-1791.
- NISHIMURA, T., M. TOBA, F. BAN, N. OKAMOTO, T. SANO (1981): Eel Rhabdovirus, EVA, EVEX and their infectivity to fishes. *Fish Pathol.* 15, 173-184.
- PLUMB, J. A. (1999): Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. Iowa State University Press. Ames.
- PLUMB, J. A., L. A. HANSON (2011): Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. Third edition. Blackwell Publishing. Ames.
- SANO T., T. NISHIMURA, N. OKAMOTO, H. FUKUDA (1977): Studies on viral diseases of Japanese fishes-VII A rhabdovirus isolated from European eel, *Anguilla anguilla*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fisher.* 43, 491-495.
- SHCHELKUNOV, I. S., E. K. SKURAT, V. A. SIVOLOTSKAIA, K. V. SAPOT KO, V. V. SHIMKO, Y. LINNIK (1989): *Rhabdovirus anguilla* in eel in the USSR and its pathogenicity for fish. *Vopr. Virusol.* 34, 81-84.
- SMAIL, D. A., E. S. MUNRO (2012): The Virology of Teleosts. U: *Fish Pathology*, Fourth Edition. (Roberts, R. J., ur.). Blackwell Publishing Ltd. Chichester. 186-291.
- STONE, D. M., R. C. KERR, M. HUGHES, A. D. RADFORD, A. C. DARBY (2013): Characterisation of the genomes of four putative vesiculoviruses: tench rhabdovirus, grass carp rhabdovirus, perch rhab-

- dovirus and eel rhabdovirus European X. Arch. Virol. 158, 2371-2377.
- van BEURDEN, S. J., M. A. VOORBERGEN-LAARMAN, I. ROOZENBURG, A. S. BOERLAGE, O. L. M. HAENEN, M. Y. ENGELSMA (2011): Development and validation of a two-step real-time RT-PCR for the detection of eel virus European X in European eel, *Anguilla anguilla*. J. Virol. Methods 171, 352-359.
  - van BEURDEN, S. J., M. Y. ENGELSMA, I. ROOZENBURG, M. A. VOORBERGEN-LAARMAN, P. W. van TULDEN, S. KERKHOFF, A. P. van NIEUWSTADT, A. DAVIDSE, O. L. M. HAENEN (2012): Viral diseases of wild and farmed European eel *Anguilla anguilla* with particular reference to the Netherlands. Dis. Aquat. Org. 101, 69-86.
  - van BEURDEN, S. J., M. A. VOORBERGEN-LAARMAN, I. ROOZENBURG, J. van TELLINGEN, O. L. M. HAENEN, M. Y. ENGELSMA (2016): Development and validation of a real-time PCR assay for the detection of anguillid herpesvirus 1. J. Fish Dis. 39, 95-104.
  - van GINNEKEN, V., O. HAENEN, K. COLDENHOFF, R. WILLEMZE, E. ANTONISSEN, P. van TULDEN, S. DIJKSTRA, F. WAGENAAR, G. van den THILLART (2004): Presence of eel viruses in eel species from various geographic regions. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 24, 268-271.
  - van GINNEKEN, V., E. ANTONISSEN, U. K. MÜLLER, R. BOOMS, E. EDING, J. VERRETH, G. van den THILLART (2005a): Eel migration to the Sargasso: remarkably high swimming efficiency and low energy costs. J. Exp. Biol. 208, 1329-1335.
  - van GINNEKEN, V., B. BALLIEUX, R. WILLEMZE, K. COLDENHOFF, E. LENTJES, E. ANTONISSEN, O. HAENEN, G. van den THILLART (2005b): Hematology patterns of migrating European eels and the role of EVEX virus. Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 140, 97-102.
  - WOLF, K. (1988): Fish viruses and fish viral diseases. Cornell University Press. Ithaca.



CENTAR ZA UMJETNO OSJEMENJIVANJE  
GOVEDA d.o.o. VARAŽDIN

www.cuo.hr, www.cuovz.hr tel/fax: 042 204 363

42000 VARAŽDIN, Trg Ivana Perkovca 24



WOWERO