



DIE HVA-PROBLEMATIK IN VERBINDUNG MIT AALBESATZMAßNAHMEN AUS WISSENSCHAFTLICHER SICHT

VERENA JUNG-SCHROERS, DIETER STEINHAGEN
ABTEILUNG FISCHKRANKHEITEN UND FISCHHALTUNG

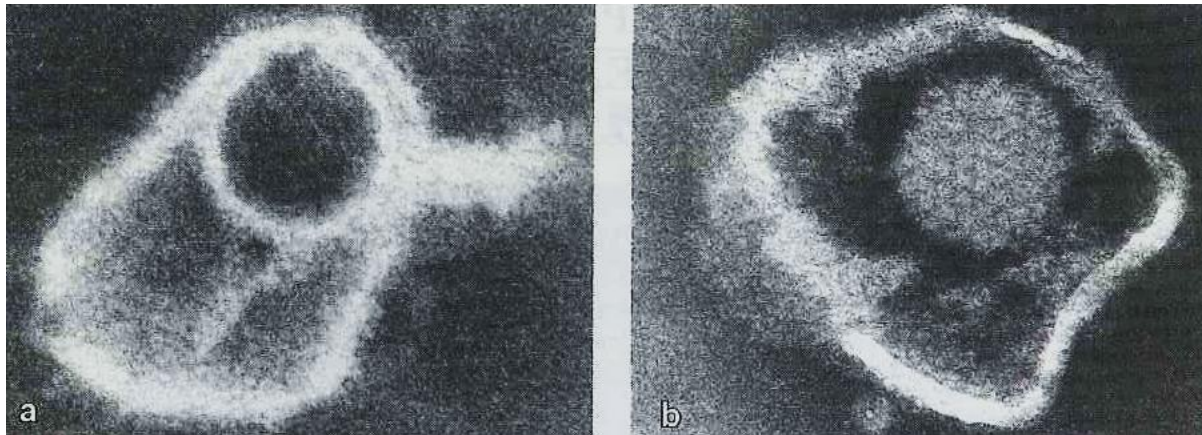


BESONDERHEITEN DER HERPESVIREN

- Behüllte Viren mit einer doppelsträngigen, linearen DNA
- Größe von 120 bis 200nm im Durchmesser: gehören damit zu den größten und komplexesten Viren
- Derzeit etwa 170 Virusspezies bekannt
- Vorkommen bei Säugetiere, Vögel, Reptilien, Fische, Wirbellosen
- In der Regel streng **wirtsspezifisch**
- Vermehrung der Viren meist in Lymphozyten, Nervenzellen oder epidermalen Zellen
- Fähigkeit zur **Persistenz**:
 - **Verbleiben nach Erstinfektion lebenslang im Wirt**
 - Wirt muss keine Anzeichen einer Erkrankung zeigen
- **Reaktivierung** möglich

AALHERPESVIRUS

- Aalherpesvirus (*Herpesvirus anguillae*, HVA; Anguillid Herpesvirus, AngHV-1)
- Erstnachweis 1985 aus kranken japanischen und europäischen Aalen (*Anguilla japonica* und *Anguilla anguilla*) in einer Aalfarm in Japan (Sano et al., 1990)
- 1985 auch erster Nachweis in Europa: Aale mit Hautläsionen in Ungarn (Békési et al. 1986)
- Danach Nachweise in vielen europäischen Ländern sowohl in Aalfarmen als auch in Wildgewässern
- Nachweise bei kranken aber auch bei klinisch unauffälligen Aalen



Aus: Davidse, A. et al.: First isolation of herpesvirus of eel (*Herpesvirus anguillae*) in diseased European eel (*Anguilla anguilla* L.) in Europe. Bull. Euro. Ass. Fish Pathol. 19, 1999.

KLINISCHE KRANKHEITSANZEICHEN BEI AALHERPESVIRUSINFEKTIONEN

- „Rotkopfkrankheit“
- **Äußere Anzeichen:**
 - Apathie
 - Hautrötungen (Blutungen)
 - Kopf und Flossensäume
 - Gesamte Körper kann gerötet sein
 - Teils Erhabenheiten in der Haut
 - Vermehrte Schleimproduktion
 - Kiemennekrosen
- **Sektion:**
 - Nekrosen in inneren Organen
 - Milz- und Nierenschwellung
- In Aalfarmen Mortalitäten bis zu 60% beschrieben (Scheinert & Baath 2006)



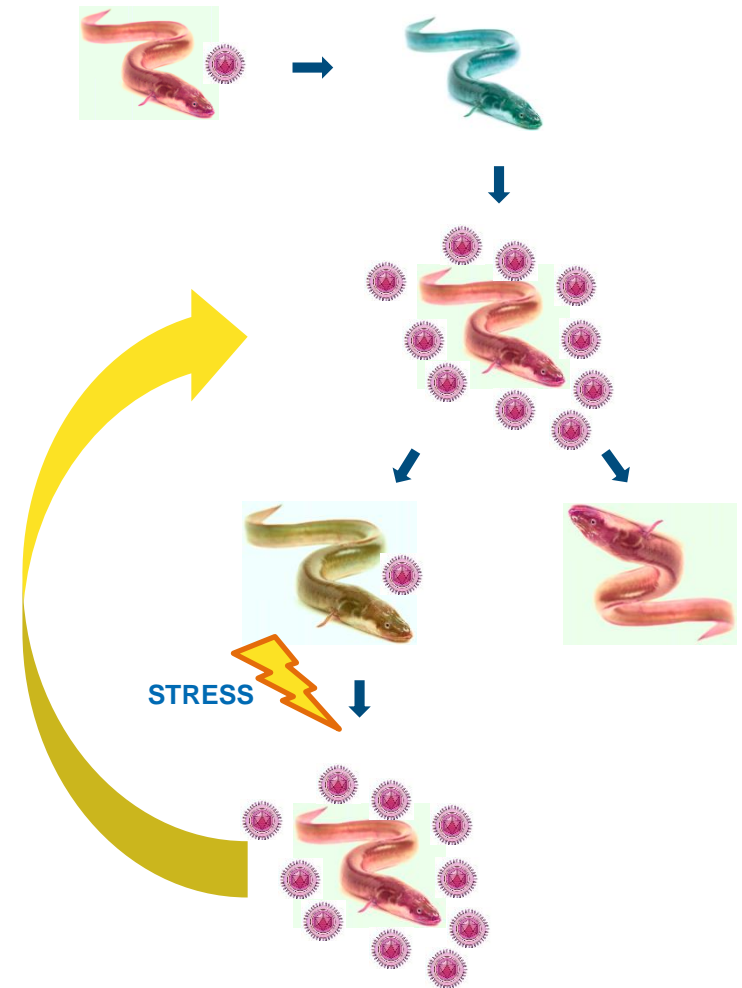


WIE STECKEN SICH DIE AALE AN?

- Übertragung des Virus vermutlich nur **horizontal**, d.h. von Aal zu Aal über das Wasser
- Ob vertikale Übertragung vom Elterntier auf das Ei stattfindet, konnte bisher nicht geklärt werden
- Ungeklärt, ob eine **Infektion der Aale schon im Salzwasser oder erst im Süßwasser** erfolgt
 - Hinweise, dass bereits Glasaale im Salzwasser mit verschiedenen Viren, u.a. HVA infiziert sein können, keine Prävalenzen bekannt

KRANKHEITSVERLAUF

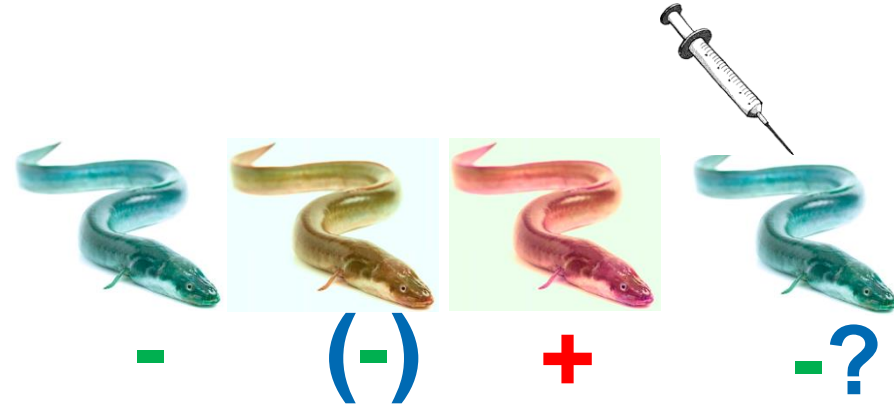
- Aufnahme des Virus wahrscheinlich über **Kiemen oder Verdauungstrakt**
- **Vermehrung des Virus** im Fisch: Virus wird von kranken Fischen in hohem Maße ausgeschieden
- Aale mit guter Kondition und Konstitution können diese Phase ohne erkennbare Krankheitsanzeichen überstehen
- Aale mit geschwächter Immunabwehr (Stress, andere Erkrankung (z.B. *Anguillicoloides crassus*)) erkranken und können an der Infektion sterben (ca. 10% in Aquakultur)
- Bei überlebenden Aalen tritt das Virus im Körper in eine Ruhephase ein; der Aal bleibt **latent infiziert** ohne Anzeichen einer Erkrankung zu zeigen
- Bei **Stress** kann das Virus reaktiviert werden und es kommt **erneut zur Virusvermehrung**, Virusausscheidung und der Ausbildung von Krankheitssymptomen



DIAGNOSTISCHE METHODEN ZUM NACHWEIS VON HVA

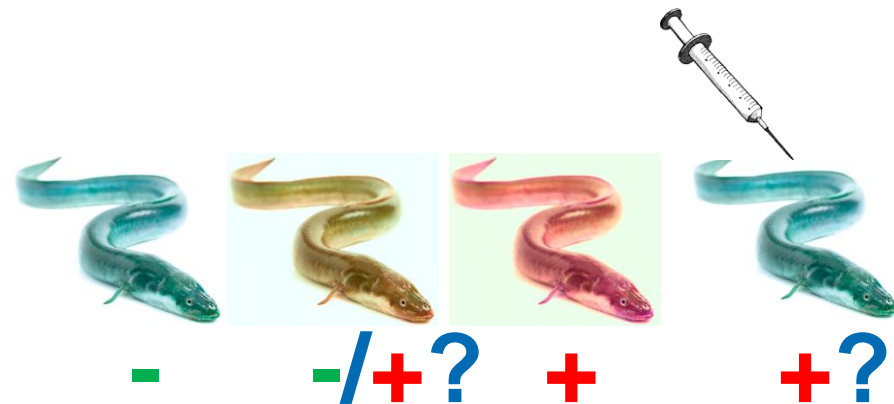
• Zellkultur:

- **Vermehrung des Virus** wird nachgewiesen
- Dauert mehrere Tage bis Wochen
- Bei latenter Infektion idR. kein Nachweis
- Geimpfte Aale idR. negativ getestet



• PCR:

- **Fragment eines Gens des Virus** wird nachgewiesen
 - Virus muss für Nachweis nicht vermehrungsfähig sein
- Sensitiver als Zellkultur
 - Unterschiede in der Sensitivität zwischen Endpunkt-PCRs, nested PCRs und Real-Time PCRs
- Nachweis bei latent infizierten Fischen trotzdem sehr schwierig
- Geimpfte Fische werden häufig positiv getestet: Impfvirus? Feldvirus?



HVA-NACHWEISE IN EUROPA

- 1985 Nachweis in **Ungarn**
- 1994 Nachweis uncharakterisierter Herpesviren bei klinisch unauffälligen Wild- und Farmaalen in **Frankreich** (Jørgensen et al. 1994)
- 1998 Nachweis eines Herpesvirus aus klinisch kranken Farmaalen (*Anguilla anguilla*) in den **Niederlanden**; identifiziert als AngHV1 (Davidse et al. 1999)
- AngHV1 wurde im Folgenden auch aus **Wildaalen** und Farmaalen (*A. anguilla*) aus den **Niederlanden** isoliert (van Ginneken et al. 2004, Haenen et al. 2002, Haenen et al. 2010)
- Nachweis bei Farmaalen aus **Griechenland** 2011 (Varvarigos et al. 2011)
- 2014 Nachweis bei Wildaalen in **Polen** (Kempster et al., 2014)
- Verluste vermehrt in den Sommermonaten: Temperaturstress?, Sauerstoffmangel?, niedriger Wasserstand?)



HVA-NACHWEISE IN DEUTSCHLAND

Monitoringprogramm zum Vorkommen des Aal-Herpesvirus in den **bayerischen** Gewässern (Scheinert & Baath, 2004):

- 444 Aale aus 75 Fließ- und Stillgewässern wurden regelmäßig verteilt über das Jahr entnommen
- Die Fische wurden einzeln virologisch mittels PCR und Zellkultur untersucht
- **HVA** konnte in Aalen aus allen Gewässertypen (**Naturseen, Baggerseen, Fließgewässer**) gefunden werden
- Insgesamt wurden in **48% der bayerischen Gewässer** wurde **HVA** bei Aalen diagnostiziert gefunden
- Höchste Infektionsrate wurde 2004 im **Starnberger See** gefunden (**90%**)



HVA-NACHWEISE IN DEUTSCHLAND

Lehmann, J. et al. (2005): *Untersuchungen auf virale Infektionen bei Aalen in Nordrhein-Westfalen*. Fischer und Teichwirt 6/05, 205-206

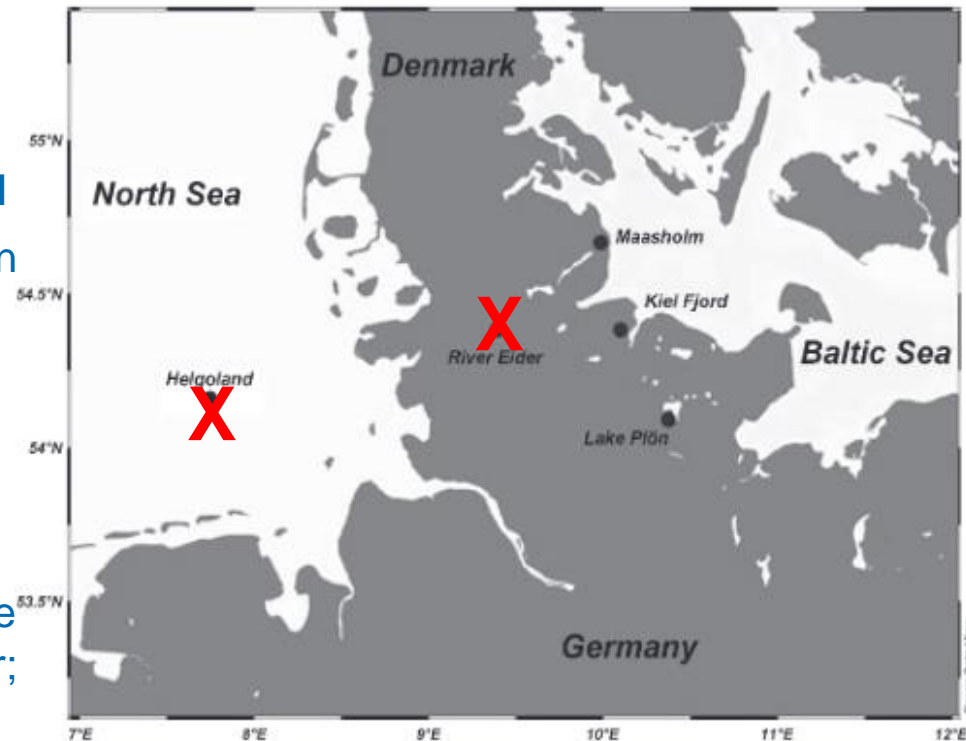
- Massensterben in **Baggersee** bei Düsseldorf **2004**: HVA nachgewiesen
- 16 abwandernde, klinisch kranke Aale **2004** aus der **Mosel** gefangen: bei 3 Tieren HVA nachgewiesen
- **2005**: Einer von 10 Aalen, die aus dem **Rhein bei Emmerich** gefangen worden waren und keine eindeutigen Krankheitssymptome zeigten, wurde positiv auf HVA getestet



HVA-NACHWEISE IN DEUTSCHLAND

Jakob, E. et al (2009): *Monitoring of Herpesvirus anguillae (HVA) infections in European eel, *Anguilla anguilla* (L.), in northern Germany.* Journal of Fish Diseases 32, 557-561

- Untersuchung in Wildgewässern in Norddeutschland (Süßwasser, Brackwasser, Meerwasser)
- Alle untersuchten **Aale klinisch gesund**
- HVA Nachweise bei **2%** der untersuchten Aale
- HVA Nachweise nur mittels **PCR**
- In Gewebepools nur Nachweise bei Aalen, die um Helgoland gefangen wurden (**Meerwasser!**)
- In separat untersuchtem **Kiemengewebe** auch Nachweise bei Aalen aus der Eider; nicht in Gewebepools!
- Keine Nachweise bei Maasholm (Schlei)





HVA-NACHWEISE IN DEUTSCHLAND

Kullmann, B. et al. (2017): Anthropogenic spreading of anguillid herpesvirus 1 by stocking of infected farmed European eels, *Anguilla anguilla* (L.), in the **Schlei fjord in northern Germany. *Journal of Fish Diseases* 40: 1695-1706**

- Alle Farmaale, die 2015 und 2016 zum Besatz der Schlei verwendet wurde, waren HVA positiv
- Untersuchungen in der **Schlei** an vier Beprobungspunkten in 2016: in Proben von **68%** der untersuchten Aale wurden **HVA Genomfragmente** gefunden
- **Hohe Viruslasten** ($> 1 \times 10^4$ Kopien) bei **12% der infizierten Aale**
- *Jakob 2009*: keine Nachweise in der Schlei

ZUSAMMENFASSUNG HVA-NACHWEISE IN DEUTSCHLAND

- **Nachweise** des Aal-Herpesvirus in **Wildgewässern** in verschiedenen Regionen Deutschlands seit **2004**
- **Negativer PCR-Befund nicht eindeutig aussagekräftig**
 - Bei **latent infizierten** Aalen Nachweis sehr schwierig
 - Tiere müssten vor der Probennahme idealerweise gestresst und erst nach 1-3 Tagen beprobt werden
 - **Unterschiedlich sensitive PCRs** verwendet und nicht immer Angaben zur **Virusmenge**
 - Zum Teil **Poolproben** mehrere Aale untersucht
 - Negatives Ergebnis, wenn die Virusmenge nicht ausreichend hoch ist, weil z.B. nur ein Aal des Pools infiziert war
 - Zum Teil **Gewebepools** untersucht
 - Negatives Ergebnis, wenn die Virusmenge nicht ausreichend hoch ist, weil z.B. nur Kiemengewebe infiziert war
- **➔ Möglicherweise viele falsch negative Befunde**
- **Bedeutung einer Infektion** nicht eindeutig geklärt
 - Wie viele Aale sind tatsächlich infiziert und wie viele Aale werden in ihrem Leben krank und sterben an der HVA-Infektion?
 - Bedeutung anderer Pathogene (weitere Viren, Schwimmblasenwürmer usw.) und Umweltverhältnisse?



MAßNAHMEN ZUM SCHUTZ DER AALE VOR EINER KLINISCHEN INFEKTION

- Verabreichung einer Virussuspension im Wasserbad (**Infektion!**) bei Farmaalen
 - EFSA, 2008 (The EFSA Journal (2008) 809, 1-17, Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed European Eel):
 - *“In the absence of a vaccine, **exposure of juveniles to herpesvirus is the most effective method of controlling disease (if not infection).** Nevertheless, this practice was **a highly ranked hazard for juveniles.** Again, **research is required to develop a vaccine and other control methods.**”*
 - In Deutschland ist das absichtliche Infizieren der Aale mit einem Virus aus Tierschutzgründen **nicht zulässig** und aus wirtschaftlicher Sicht für den Betreiber nicht sinnvoll
- Inzwischen **bestandsspezifische Impfstoffe** erhältlich (inaktivierte Viren)
 - Sinnvoll, um Krankheitsausbrüche durch Infektionen mit Feldviren zu vermeiden / zu reduzieren
 - Geimpfte Aale können dennoch mit Feldviren infiziert sein bzw. infiziert werden
 - Geimpfte Aale oft positiv getestet in der PCR: Impfvirus? Feldvirus?



BESATZMAßNAHMEN

- **Beispiel Schlei:** keine Nachweise in 2009, aber positive Nachweise in 2016, nachdem nachweislich zwei Jahre lang HVA-positive Aale eingesetzt worden waren
 - Virus zwischen 2009 und 2016 durch Besatzmaßnahmen eingeschleppt?
 - Methodische Ursachen für die Ergebnisse (Zeitpunkt der Probennahme, PCR, Poolgröße usw.)?

- Wenn **Aale in einer Aquakulturanlage HVA positiv** getestet werden, können sie
 - Die **Infektion mitgebracht** haben (Nachweise im Meerwasser liegen vor)
 - **Sich in der Anlage infiziert** haben



BESATZMAßNAHMEN

Empfehlungen aus wissenschaftlicher Sicht:

- **Klinisch kranke Aale dürfen nicht besetzt** werden
- Aale, die besetzt werden sollen, **vor dem Besatz stichprobenartig auf HVA untersuchen** lassen und erst nach Vorliegen des (negativen) Untersuchungsergebnisses besetzen
- Problem des möglichen Nachweises von HVA mittels PCR bei geimpften Aalen
 - Zellkultur? Geringere Sensitivität
- **Auswahl der Region**, in die besetzt wird:
 - Optimal: vorherige Untersuchung von Wildaalen in der Region

ABER:

- **HVA ist in Wildgewässern in Deutschland vorhanden** und möglicherweise **weiter verbreitet als zur Zeit bekannt**
- **Untersuchungsergebnisse z.T. schwierig zu bewerten**
- **Bedeutung einer Infektion nicht eindeutig geklärt**
- Immunisierte Aale besetzen, um Ausbruch einer Erkrankung zu vermeiden? Infektion mit Feldvirus dadurch nicht ausgeschlossen
- Fraglich, ob die HVA Problematik gelöst werden würde, wenn nur negativ getestete Chargen besetzt werden würden