

Bedreigen virussen de paling populatie?

Dr.Ir. Vincent van Ginneken¹, Dr.Guido van den Thillart¹, Dr.Ir.Olga Haenen²

1: Biologie, Leiden Universiteit

2: Visziekten laboratorium, Lelystad.

Wereldwijd nemen palingpopulaties vanaf de jaren 80 van de vorige eeuw af. Sterke afnames variërend tussen de 90-99% zijn gerapporteerd voor de Europese, Japanse en Amerikaanse palingsoorten. Palingen zijn erg gevoelig voor omgevingsfactoren door hun gecompliceerde levenscyclus. Als een katadrome vissoort migreren ze enkele duizenden kilometers naar hun paaigebieden waarbij de ouderdieren blootstaan aan blokkade van hun routes door sluizen en dammen, giftige PCB's, infectie met zwemblaasparasieten en te geringe vetvoorraden om de reis te voltooien. Ook de larven kunnen problemen onderkennen met veranderende oceaanstromingen. Een factor die tot nu toe weinig aandacht kreeg is het voorkomen van virussen in palingpopulaties.

Virussen bij andere vissoorten en paling

Van virussen is bekend dat ze de bloedvormende organen in vissen kunnen aantasten en de kop opsteken tijdens stress. In zalm kan Infectious Haemopoetic Necrosis Virus (IHNV) en Viral Haemorrhagical Septicemia Virus (VHSV) (beiden rhabdovirussen), de bloedvormende organen aantasten resulterend in ernstige bloedarmoede. Bij paling zijn EVA (Eel-virus-America) en EVEX (Eel Virus European -X) de belangrijkste rhabdovirussen.

EVA werd voor het eerst ontdekt in 1974 in Japan terwijl EVEX ontdekt werd in een lading paling op weg van Frankrijk naar Tokyo in 1977. HVA (Herpesvirus anguillae) komt vooral voor op kwekerijen (zie tabel 1). In onze studie werden EVEX, HVA en EVE gevonden in wilde en gekweekte Europese

paling uit Nederland, EVEX en EVE in gekweekte paling uit Italië, en EVEX in wilde paling uit Marokko. EVEX was ook geïsoleerd in wilde paling uit Nieuw Zeeland. Daarnaast werd een onbekend picornavirus geïsoleerd uit wilde paling uit Nieuw Zeeland en Nederland (Tabel 1).

Het moge uit deze onderzoeksgegevens duidelijk zijn dat virussen wijd verspreid zijn binnen de diverse palingpopulaties. De palingen uit Noord Ierland vertoonden daarentegen klinische tekenen die duiden op een virusinfectie (rode kleur, bloedingen) maar waren allen niet geïnfecteerd (tabel 1).

Proefopzet

Palingen werden verzameld via een paling-importeur bij Schiphol. De dieren werden

na binnenkomst direct bemonsterd en de extracten van organen werden gekweekt op drie verschillende cellijnen bij CIDC-Lelystad.

Deze cellijnen waren een 'fat head minnow' cellijn, een paling-nier cellijn, en een regenboogforel-gonaden cellijn. In geval van virusinfecties werd de geïnfecteerde cellijn verder onderzocht via electronenmicroscopie gevolgd door immunofluorescentie en immunoperoxidase methoden. Dit resulteerde in de gegevens zoals weergegeven in tabel 1. Daarnaast werden dieren blootgesteld aan zwemproeven in

onze tweeëntwintig 125 liter zwemtunnels. Met virus geïnfecteerde dieren uit de Grevelingen stopten na 500-1500 km met zwemmen terwijl virusvrije dieren uit de kwekerij makkelijk een zwemreis van 5,500 km voltooiden. In deze twee groepen werd het bloedbeeld onderzocht op hematocriet (aantal rode bloedcellen), LDH (lactaatdehydrogenase) en AST (aspartate aminotransferase) een leverenzym. Beide enzymen zijn indicatoren voor weefsel en/of leverschade. Daarnaast werd de concentratie totaal eiwit gemeten wat een indicator kan zijn voor leverschade en/of bloedverdunding door bloedingen.

Country	Location	Species	Clinical signs	Virus	Infection rate (no. of eels)
NETHERLANDS	Lake Grevelingen	<i>A. anguilla</i>	-	EVEX	6 from 6
	Lake Grevelingen	<i>A. anguilla</i>	+	HVA	1 from 10
	Lake Grevelingen	<i>A. anguilla</i>	-	EVEX	1 from 2
	Lake Grevelingen	<i>A. anguilla</i>	Picorna-like
	Lake Brasemer	<i>A. anguilla</i>	-	negative	0 from 10
	Lake Brasemer	<i>A. anguilla</i>	-	negative	0 from 10
	Lake Lauwers	<i>A. anguilla</i>	-	negative	0 from 10
	Lake Lauwers	<i>A. anguilla</i>	+	HVA	10 from 10
	<u>Eel farm-1</u>	<i>A. anguilla</i>	+	HVA	Pooled glass eel
	<u>Eel farm-2</u>	<i>A. anguilla</i>	+	HVA	Pooled glass eel
ITALY	<u>Eel farm-3</u>	<i>A. anguilla</i>	+	HVA	Pooled glass eel
	<u>Eel farm-4</u>	<i>A. anguilla</i>	-	EVEX & EVE	4 from 4
	<u>Eel farm-5</u>	<i>A. anguilla</i>	+	EVEX	3 from 4
FRANCE	Loire	<i>A. anguilla</i>	-	negative	0 from 4
	Perpignan	<i>A. anguilla</i>	+	negative	0 from 3
MAROCCO	Sebou	<i>A. anguilla</i>	-	EVEX	2 from 4
USA	Virginia	<i>A. rostrata</i>	-	negative	0 from 4
CANADA	St. Lawrence	<i>A. rostrata</i>	-	negative	0 from 4
NEW ZEALAND	Tekawata	<i>A. dieffenbachi</i>	-	Picorna	1 from 4
	Tekawata	<i>A. dieffenbachi</i>	-	EVEX	1 from 4
IRELAND	River Roosky	<i>A. anguilla</i>	+	negative	0 from 4
	Lake Corrib	<i>A. anguilla</i>	+	negative	0 from 4
	Lake Ennel	<i>A. anguilla</i>	+	negative	0 from 4
	mixed origin	<i>A. anguilla</i>	+	negative	0 from 4
UNITED KINGDOM	Lake Erne (North. Ireland)	<i>A. anguilla</i>	+	negative	0 from 4

Tabel 1: Virus infectie op de verschillende plaatsen waar werd bemonsterd; EVEX: Eel-Virus European X, HVA: Herpes Virus Anguilla, EVE: Eel-Virus European

Uitkomsten zwemexperiment

In figuur 1 zien we dat het aantal rode bloedcellen in de geïnfecteerde groep significant afneemt met de afgelegde afstand. Na 1,500 km zijn er nog nauwelijks rode bloedcellen aanwezig. De gezonde dieren die 5,500 km zwommen (rechterkant figuur) vertoonden daarentegen een stijging van de hematocriet met 10% (van 32% naar 42%). Dit kan mogelijk veroorzaakt worden door een trainingseffect, te vergelijken met EPO in de wielersport. In de virusgeïnfecteerde zwemgroep zien we een significante stijging van LDH en AST en een significante daling van totaal eiwit (figuur 2). Rustende virusgeïnfecteerde dieren vertoonden deze veranderingen in het bloedbeeld niet (figuur 2). Deze resultaten zijn zeer verontrustend omdat dit een aanwijzing kan zijn dat virusgeïnfecteerde palingen hun migratie niet kunnen voltooien door bloedarmoede, een beschadigde lever en een tekort aan eiwitten.

Conclusies uit dit onderzoek

Het eerste deel van het onderzoek toont aan dat virussen wijd verspreid in de palingpopulaties voorkomen (tabel 1). Met betrekking tot het tweede deel van het onderzoek moeten we een slag om de arm houden. We hebben in palingen virussen aangetoond en we hebben daarnaast in deze dieren veranderingen in het bloedbeeld aangetoond maar we hebben nog niet direct aangetoond dat virussen de oorzaak zijn voor deze veranderingen (al is dit wel waarschijnlijk). Ondanks deze tegenwerping kunnen we toch voorzichtig concluderen dat virussen mogelijk het bloedbeeld nadelig beïnvloeden tijdens een langdurige migratie.

Alle virusgeïnfecteerde dieren hielden op met zwemmen na 5,00-1,500 km. We kunnen hieruit voorzichtig concluderen (of liever gezegd de hypothese stellen) dat virussen mogelijk bij kunnen dragen aan het wereldwijd teruglopen van de palingstand.

Aanbevelingen

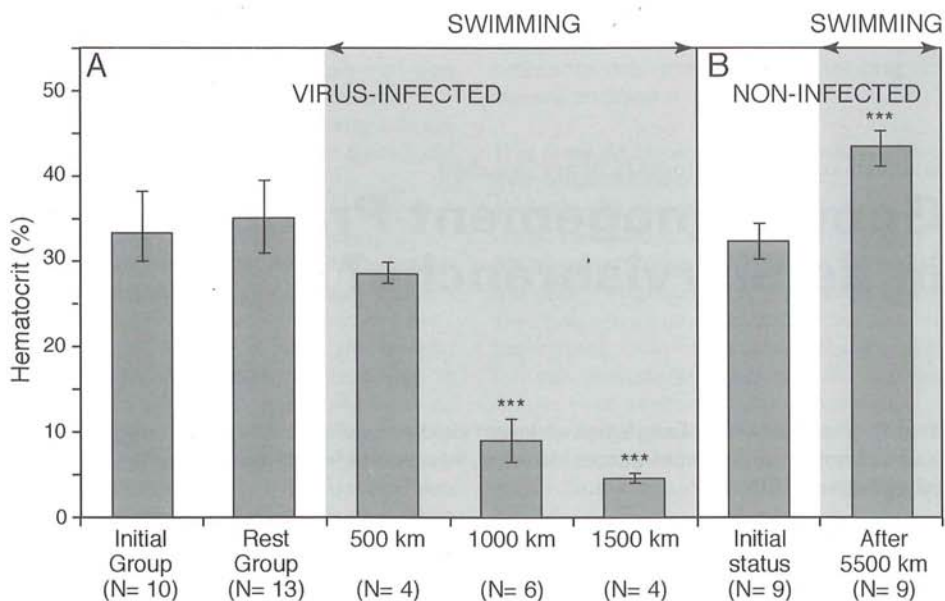
De visproductie via de aquacultuur is verdubbeld (in waarde en gewicht) tussen 1986 en 1996 en meer dan een kwart van de humane visconsumptie wordt geproduceerd in de aquacultuur. Met de toename van transport van vis geproduceerd in de aquacultuur zal de kans op transport en overdracht van ziektes toenemen. Een Franse auteur heeft gesteld dat sinds de introductie van de aquacultuur meer dan honderd ziekteverwekkers geïntroduceerd zijn in de Europese hydrosystemen. Het is onbegrijpelijk dat palingen die twee dagen geleden nog in Nieuw-Zeeland of Amerika zaten in een Nederlands binnenwater in kooien worden gehuisvest totdat ze geslacht en gerookt kunnen worden. Met betrekking tot de paling kan gesteld worden dat Nederland één van de meest toonaangevende landen is op het gebied van de palinghandel. Ik hoop dat handelaars en kwekers in de toekomst de nodige voorzichtigheid in acht zullen nemen om het verspreiden van ziekten zoals parasieten en virussen tegen te gaan.

Dankbetuiging

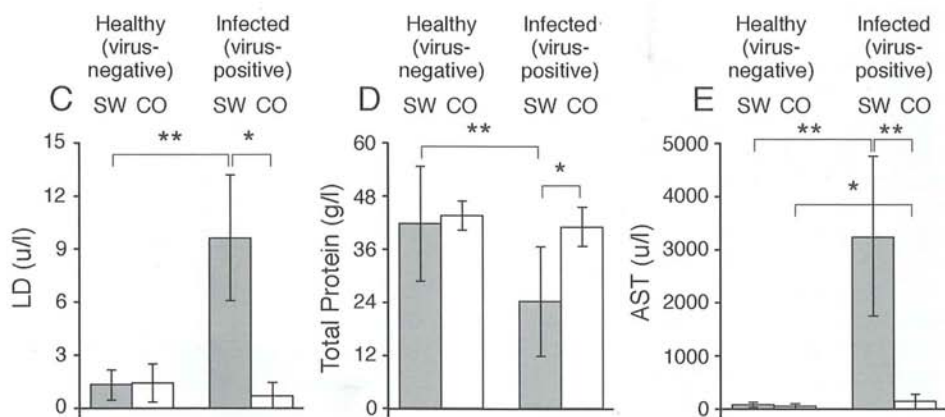
Deze studie werd gefinancierd door een subsidie van de Stichting Technische Wetenschappen (STW), project no. LBI66.4199. Ir. J. van Rijsingen (Royaal BV, Helmond) was sponsor in de gebruikerscommissie.

Literatuur

- van Ginneken, V.; Haenen, O.; Coldenhoff, K.; Willmeze, R.; Antonissen, E.I van Tulden, P.; Dijkstra, S.; Wagenaar, F.; van den Thillart, G. (2004). Presence of eel viruses in eel species from various geographic regions. *European Association for Fish Pathologist Bulletin*, accepted.
- Van Ginneken, V.; Ballieux, B.; Willemze, R.; Coldenhoff, K.; Lentjes, E.; Antonissen, E.; Haenen, O. van den Thillart, G. (2004). Hematology patterns of migrating eels and the role of EVEX virus. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, submitted.



Het effect van zwemmen en niet zwemmen op het hematocriet-gehalte van geïnfecteerde en niet-geïnfecteerde dieren.



Het effect van virusinfectie op diverse bloedparameters.