

Die Koi-Herpesvirus Infektion – ein Update

Dr. Henner Neuhaus

Abteilung Fischkrankheiten und Fischhaltung
Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Bünteweg 17
30559 Hannover

Tel.: 0511 / 953 88 89

Fax: 0511 / 953 85 87

eMail: Henner.Neuhaus@TiHo-Hannover.de

Gliederung

1. Grundlagen

2. Aktueller Kenntnisstand

Symptomatik

Nachweismethoden

Immunisierung



3. Aktuelle rechtliche Situation

1. Grundlagen

Grundüberlegungen

- **Fische sind poikilotherme (wechselwarme) Tiere, deren Stoffwechselaktivität in direkter Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur steht!**
- **Das Haltungswasser ist gleichzeitig Sauerstoffträger und Ausscheidungsmedium!**

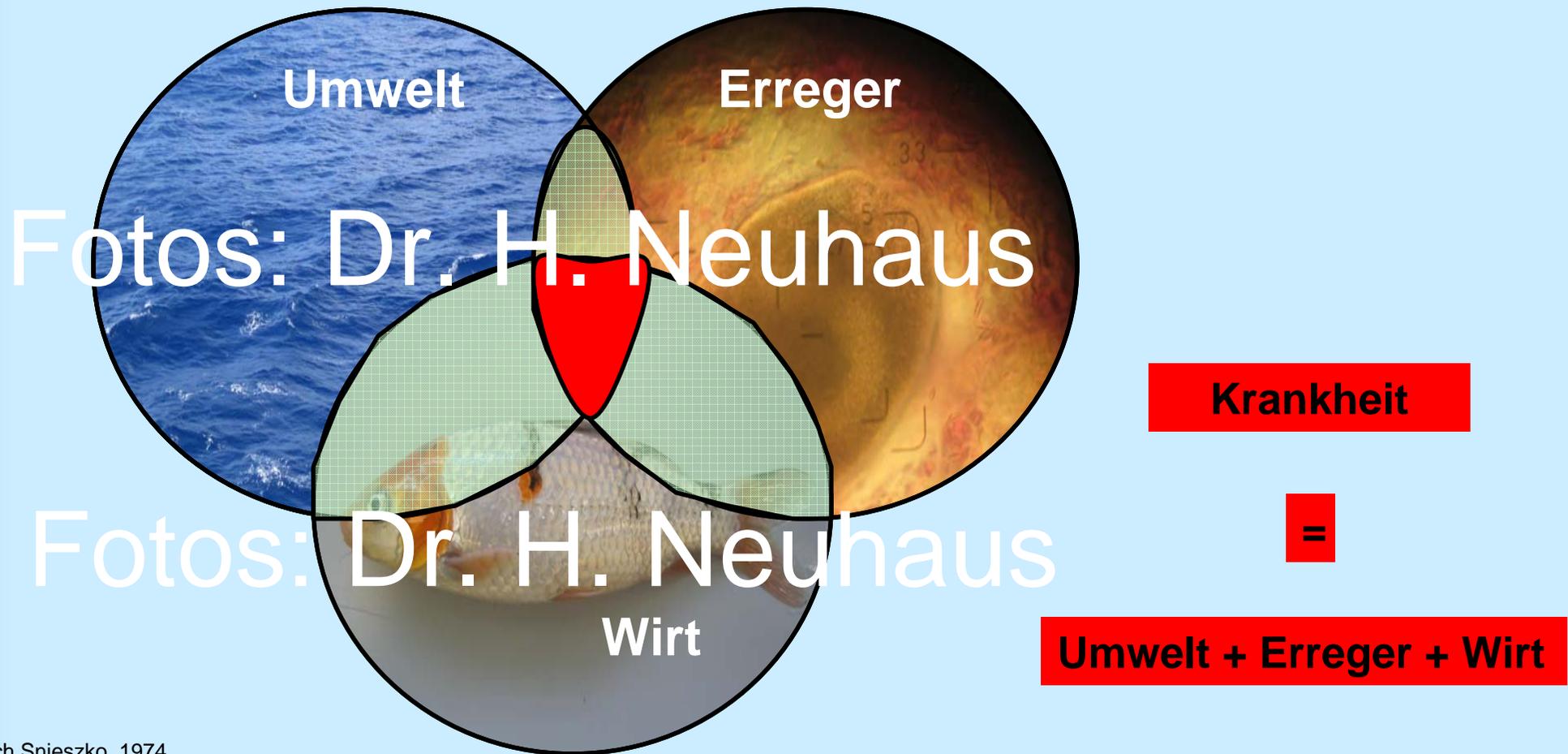


- **Die Umweltqualität / Haltungsbedingungen sind bei der Krankheitsentstehung häufig beteiligt oder gar ausschlaggebend!**

(„Stress“: Wasserqualität, Temperaturschwankungen, hoher Fischbesatz, Umsetzen/Handling, Transport etc.)

-> viele Faktorenerkrankungen

Übergeordnete Bedeutung des Faktors Umwelt !



nach Snieszko, 1974

Grundlagen - Viren

- kein eigener Stoffwechsel, leben nicht
- benötigen lebende Zellen zur Vermehrung
- nach erfolgreicher Vermehrung i. d. R. programmierter Zelltod
- i. d. R. sehr speziesspezifisch

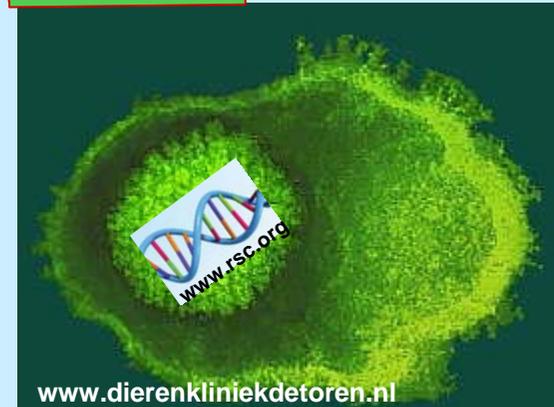
Koi-Herpesvirus („KHV“)

- von Lipidhülle umgeben
- DNA-Virus, 170-230 nm im Durchmesser
- lineares doppelsträngiges DNA-Molekül
- 80%-ige Homologie mit CyHV-1 (Karpfenpocken) und CyHV-2 (hämatopoetische Nekrose des Goldfisches)
- geringere Homologie zu Channel Catfish Virus (IcHV-1) und anderen Herpesviren von Nicht-Cypriniden und Fröschen

Grundlagen - Herpesviren

Herpesviren

- griechisch: „schleichen“, d.h. Rückzug der Viren in bestimmte Körperregionen, dadurch: Nachweis eingeschränkt
- lebenslange Persistenz im Organismus => Virusträger / Carrier!
- wiederkehrende Krankheitsausbrüche besonders nach Streßsituationen
 - simuliertes Abfischen, simulierter Transport, Temperatur-Schwankungen....



2. Aktueller Kenntnisstand

Koi-Herpesvirus - Symptomatik

- **Absonderung**
 - **Inappetenz, häufig vor weiterer Symptomatik**
 - **verstärkte Atmung, Stehen am Frischwasserzulauf**
 - **Lethargie mit sporadischer Hyperaktivität**
 - **Verlust der Koordination, zielloses Herumschwimmen**
 - **Fluchreflex vermindert**
 - **Enophthalmus (eingefallene Augen)**
 - **Reibeisenhaut („Sandpapiereffekt“)**
 - **Kiemennekrose**
-
- **Inkubationszeit temperaturabhängig, etwa 2-20 Tage**
 - **höchste Verlustraten bei ± 23 °C**
 - **in vitro vermehrungsfähig bei >13 bis (mit geringer Restinfektiösität) <30 °C**
 - **alle Altersklassen betroffen**

**Störung im
Allgemeinbefinden**

s. auch

Neuhaus u. Meyer 2006

Koi-Herpesvirus - Symptomatik



Kieme physiologisch



Kiemennekrose



Kiemennekrose



Kiemennekrose

Koi-Herpesvirus - Nachweismethoden

Nachweis mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

- Nachweis des genetischen Fingerabdruckes, eines Teils der Erbsubstanz
- Testverfahren mit höchster Empfindlichkeit für den Nachweis kleinster Mengen eines bestimmten DNA-Abschnittes
- derzeit sensitivste und zuverlässigste Nachweismethode
- bei „Carrierfischen“ häufig noch nicht sensitiv genug
- Organpool aus Kieme, Niere, Milz, Leber und Gehirn

Weitere PCR-Techniken

- Real-Time PCR
- nested-PCR



Koi-Herpesvirus - Nachweismethoden

Nachweis mittels Virusanzucht auf einer Zellkultur

- Nachweis von vermehrungsfähigem Virus
- zwei Zelllinien: **CCB** (Common Carp Brain) (Neukrich)
KF-1 (Koi Fin) (Hedrick)
- Nachweis gelingt selbst beim akuten Krankheitsfall nicht regelmäßig
- ungeeignet zur Detektion von Carriern, zeitaufwendig

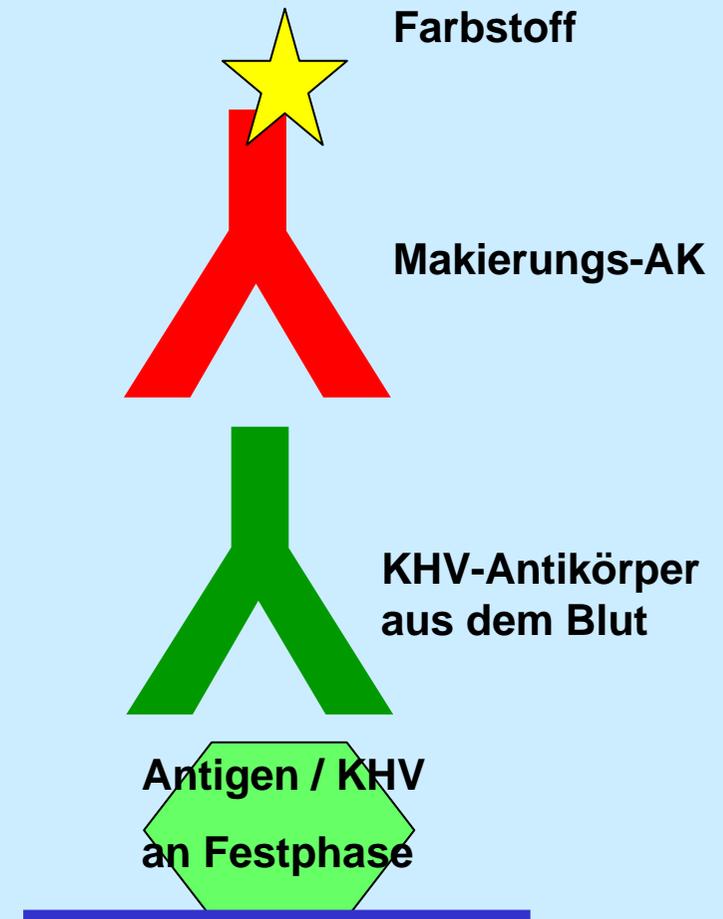
Nachweis von Viruspartikeln in Gewebeschnitten (Elektronenmikroskopie)

- hoher apparativer und zeitlicher Aufwand
- nicht für Routine geeignet
- hohe Partikeldichte im Gewebe nötig
- Anwesenheit von Viruspartikeln in Kiemenepithelzellen,
Hepathozyten und Lymphozyten

Koi-Herpesvirus - Nachweismethoden

Nachweis mittels enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

- Messung der Antikörperproduktion durch das Immunsystem
- niedrige Antikörperspiegel in einem frühen Infektionsstadium und bei latenten Infektionen
- Anti-KHV Antikörper wurden noch ein Jahr p.i. gefunden und bei geimpften Koi, aber Kreuzreaktion mit Antikörpern gegen CyHV-1



Koi-Herpesvirus - Übertragungswege

Übertragung

- Wasser
- infizierte Fische
- Vektoren, wie Kescher, Eimer, Schläuche.....
- Schuhe und nasse Hände (Personen!!!)
- Wassergeflügel als passiver Vektor zu sehen, da Körpertemperatur von Vögeln mit $>40^{\circ}\text{C}$ weit über der Temperatur liegt, bei der eine Virusvermehrung in der Zellkultur möglich ist!

-?????

Koi-Herpesvirus - Empfänglichkeit weiterer Fischarten / Wirtsspektrum

Beobachtung:

Keine Verluste bei

Goldfischen, Silberkarpfen

Grasfischen, Hechten,

Stören, Schleien

Frage der Rolle als Überträger



Fotos: Dr. H. Neuhaus

Jede Fischart sollte solange als möglicher Überträger betrachtet werden, bis das Gegenteil bewiesen ist.

Kohabitationsversuche aus der Abteilung Fischkrankheiten (Meyer 2007)

- Goldfische, Silberkarpfen, Schleien und Graskarpfen wurden mit einem Virusausseider (Karpfen) kohabitiert und anschließend wieder mit gesunden Karpfen vergesellschaftet

- Sowohl in den oben genannten Fischarten als auch in den zugesetzten gesunden Karpfen wurde das Genom des KHV gefunden. Alle Tiere zeigten jedoch keine klinische Symptomatik. Ob eine Erkrankung auslösbar ist, ist nicht bewiesen.

Koi-Herpesvirus - Immunisierung

Lebendimpfstoff

- abgeschwächtes Virus (26 Zellkulturpassagen und UV-Bestrahlung)
nach PERELBERG et al. 2005
- Möglichkeit der Rückmutation des Impfvirus? Wird Virus ausgeschieden?
- Ist der Impfschutz ausreichend? Ungefährlichkeit nicht bewiesen!

Versuche in der Abteilung Fischkrankheiten (Meyer 2007):

- hitze- und formalininaktiviertes Virus als Impfstoff (siehe auch KASAI et al. 2005)
- -> Geimpfte Tiere ohne Symptomatik, kein Versterben durch Impfstoff
- -> alle Karpfen nach Belastungsversuch KHV-positiv mittels PCR! -> kein Impfschutz!

Momentan kein zugelassener Impfstoff in der EU vorhanden!

Koi-Herpesvirus - Stabilität und Desinfektion

- Verlust der Vermehrungsfähigkeit: 15°C am 42. Tag in d. Zellkultur
20°C am 22. Tag in d. Zellkultur
25°C am 13. Tag in d. Zellkultur
30°C am 6. Tag in d. Zellkultur
35°C am 2. Tag in d. Zellkultur
30°C nach 70 Tagen (PCR)
- pH ≤ 4 oder ≥ 11 für 2 Stunden
- UV-Bestrahlung von 4000 $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$
- Temperatur $>50^\circ\text{C}$ für eine Minute
- 200 mg/l Iodophor für 30 Sekunden
- 60 mg/l Benzalkoniumchlorid für 30 Sekunden
- 3 mg/l Chlor

Weitere Details: siehe

**Neukirch 2004
Kasai et al. 2005
Dishon et al. 2007**

Koi-Herpesvirus - Wie schütze ich meine Fische vor KHV?

Schutz vor KHV

- Zukauf aus getesteten Betrieben unter lückenloser Rückverfolgbarkeit
- bei Zukauf: Quarantäne über mind. 4 Wochen bei 23° C
- In Quarantäne: Stressen der Fische durch simuliertes Abfischen

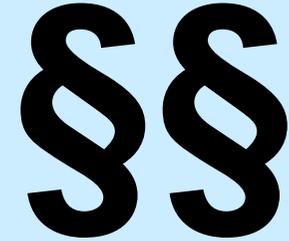
- strikte Hygiene: keine Verwendung von betriebsfremden Keschern, Pumpen etc.
- Beprobieren von Koi auf KHV nach Abschluß der Quarantäne

3. Aktuelle Rechtslage



Koi-Herpesvirus - Rechtliche Situation

Staatliche Regelung

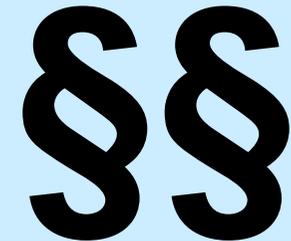


- Tierseuchengesetz und Verordnungen
- Staatliches Interesse an der Bekämpfung der Tierseuche
- Zweck des Gesetzes: Regelung der Bekämpfung von Tierseuche
- Es besteht eine **Anzeigepflicht sowohl beim Nutz- als auch beim Koi-Karpfen!**
- anzeigepflichtige und meldepflichtige Erkrankungen

- Beim Ausbruch der Erkrankung ist der zuständige Amtsveterinär zu kontaktieren. Er entscheidet über das weitere Vorgehen. Folgende Maßnahmen werden i.d.R ergriffen:
 - Bestandssperre
 - Beprobung
 - Überwachung von Reinigung und Desinfektion

Koi-Herpesvirus - Rechtliche Situation - Tierseuchengesetz

- **Bricht eine anzeigepflichtige Tierseuche aus oder zeigen sich Erscheinungen, die den Ausbruch einer solchen Tierseuche befürchten lassen,**
- **so hat der Besitzer der betroffenen Tiere unverzüglich der zuständigen Behörde oder dem beamteten Tierarzt Anzeige zu machen** und die kranken und verdächtigen Tiere von Orten, an denen die Gefahr der Ansteckung fremder Tiere besteht, fernzuhalten.
- **Die gleichen Pflichten hat,**
 - wer in Vertretung des Besitzers den Betrieb leitet,
 - wer mit der Aufsicht über Tiere an Stelle des Besitzers beauftragt ist,
 - wer Fischereiberechtigter, Fischereiausübungsberechtigter, Betreiber von Anlagen oder Einrichtungen zur Zucht, Haltung oder Hälterung von Fischen ist.
 - für Tiere auf dem Transport ihr Begleiter,



Einsendung von Fischen und Fischproben zur Untersuchung

- Einsendung von erkrankten Tieren und sinnvollen Proben!
- Einsendung von lebenden Tieren! Tierschutz!
(wenn nur als toter Fisch möglich: gekühlt und auslaufsicher!)
- Expressversand mit Vorbericht!
Was ist bei wem, wo, wann und wie lange passiert?
- Nach telefonischer Rücksprache!
- In allen (Zweifels-)Fällen und Fragen: Bitte telefonische Rücksprache halten!

Verwendete Literatur:

- NEUKIRCH M (2004): Effect of different temperatures and pH values on the infectivity of viruses isolated from koi. 11th International Conference EAAP, 21.-26. September 2003, Malta, P-80.
- NEUHAUS H, MEYER K. (2006): "Koi herpesvirus infection of carp (*Cyprinus carpio* L.)." Kleintierpraxis 51(10): 521-526.
- MEYER K (2007): Untersuchungen zur Übertragung von Koi-Herpesvirus-Infektionen durch symptomlose Carrierfische, Dissertation Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
- PERELBERG A, RONEN A, HUTORAN M, SMITH Y, KOTLER M (2005): Protection of cultured *Cyprinus carpio* against a lethal disease by attenuated virus vaccine. *Vaccine* 23: 3396-3403.
- DISHON A, PERELBERG A, BISHARA-SHIEBAN J, ILOUZE M, DAVIDOVICH M, WERKER S, KOTLER M (2005): Detection of carp interstitial nephritis and gill necrosis virus in fish droppings. *Appl Environ Microbiol* 71: 7285-91.
- DISHON, A., M. DAVIDOVICH, et al. (2007). "Persistence of cyprinid herpesvirus 3 in infected cultured carp cells." Journal of Virology 81(9): 4828-4836.
- KASAI H, MUTO Y, YOSHIMA M (2005): Virucidal effects of ultraviolet, heat treatment and disinfectants against koi herpesvirus (KHV). *Fish Pathol* 40: 137 – 138.
- GILAD O, YUN S, ANDREE KB, ADKISON MA (2002): Initial characteristics of koi herpesvirus and development of a polymerase chain reaction assay to detect the virus in koi, *Cyprinus carpio* koi. *Dis Aquat Organ* 48: 101-108.
- CEFAS: Finfish News: www.cefasc.org/publications/finfishnews/ffn3_web.pdf Seite 5-13

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

Dr. Henner Neuhaus

Abteilung Fischkrankheiten und Fischhaltung
Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Bünteweg 17
30559 Hannover

Tel.: 0511 / 953 88 89

Fax: 0511 / 953 85 87

eMail: Henner.Neuhaus@TiHo-Hannover.de