

## بیماری کوی هرپس ویروس (KHV) در ماهیان زینتی Koi

لاله یزدانپناه گوهرریزی<sup>۱</sup>، سید جلیل ذریه زهرا<sup>۲\*</sup>

۱- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی کرمان، ایران، صندوق پستی: ۷۶۱۷۹۱۳۷۳۹

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران

\* zorrieh@yahoo.com

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۶

### چکیده

بیماری کوی هرپس ویروس توسط ویروسی از خانواده هرپس ویروس‌ها<sup>۱</sup> در ماهیان زینتی خصوصاً ماهی Koi ایجاد می‌گردد. بیماری در میان ماهیان Koi و کپور معمولی تشخیص داده شده است ولی به نظر می‌رسد سایر گونه‌های کپورماهیان از جمله Gold fish به این بیماری مبتلا نمی‌شوند. دیگر اعتقاد بر این است که این ویروس در ماهیان مبتلا می‌تواند تا مدت‌ها زنده و پایدار بماند. موارد متعددی در آمریکا، اروپا و نیز آسیا از این بیماری گزارش شده است. در ایران با مراقبت‌های هدفمند، مراکز پرورشی دارای علائم بیماری و تلفات تحت بررسی و مراقبت قرار گرفته‌اند تا از شیوع این بیماری جلوگیری بعمل آید. بیماری کوی هرپس ویروس برای اولین بار توسط رحمتی هولاسو و همکاران در سال ۱۳۹۵ در کشور گزارش شد و توسط روش‌های مولکولی و آسیب شناسی مورد تایید قرار گرفت. از آنجایی که ویروس توانایی مخفی شدن و زنده ماندن تا مدت زمان طولانی را دارد لذا ماهیان در معرض و بهبود یافته از بیماری، بایستی به‌عنوان ناقلین بالقوه این ویروس در نظر گرفته شوند. بررسی راه‌های تشخیص سریع، کنترل و پیشگیری از این بیماری دارای نقش و اهمیت فراوانی در توسعه آبزی‌پروری می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** بیماری ویروسی، هرپس ویروس، ماهی Koi

<sup>1</sup> Herpes viruses cyprinid

## مقدمه

ویروس هرپس دارای ساختار بسیار پیچیده‌ای است. ژنوم آن DNA دو رشته‌ای و دارای شکل مارپیچی است که حول یک هسته‌ی پروتئینی قرار می‌گیرد و به وسیله یک نوکلئوکسپید چندین وجهی به قطر ۱۰ نانومتر احاطه می‌شود. بیرون کپسول یک پوشش پروتئینی وجود دارد که B شکل است. در خارج از ذره پوشش لیپیدی دو لایه وجود دارد که حاوی مقدار زیادی گلیکوپروتئین می‌باشد (Waltzek *et al.*, 2009). عفونت کوی هرپس ویروس می‌تواند به اشکال مختلف بروز کند و حتی به مرگ ماهی نیز منجر شود. این بیماری ممکن است موجب ایجاد مرگ و میری معادل ۸۰ تا ۱۰۰ درصد شود و به‌نظر می‌رسد ماهیان در دمای آب ۶۰ تا ۷۷ درجه فارنهایت و یا ۱۶ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر به این بیماری حساس باشند (Eide *et al.*, 2011). این بیماری ویروسی ماهیان را در سنین مختلف مبتلا می‌نماید ولی تحقیقات نشان داده است که بچه ماهیان درمقایسه با ماهیان بالغ حساسیت بیشتری نسبت به این بیماری دارند (Hedrick *et al.*, 2000). ماهیان پس از آلوده شدن به این بیماری علائمی را از خود نشان می‌دهند که چندان اختصاصی نمی‌باشد و می‌تواند در سایر بیماری‌های ویروسی دیگر نیز مشاهده شود. شیوع مرگ و میر در ماهیان مبتلا ممکن است بسیار سریع و در ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از ظهور علائم بیماری شروع شود. همچنین عفونت‌های هرپس ویروسی در ماهیان Koi ممکن است موجب بروز جراحات شدید در آبشش‌ها گردد. با توجه به ضعیف شدن سیستم ایمنی ماهی، در برخی موارد عفونت‌های باکتریایی و انگلی ثانویه نیز ممکن است ضایعات اولیه ناشی از ویروس را پوشش دهند و موجب بروز مشکلات آشکارتری گردند. علائم ایجاد شده توسط این ویروس به این صورت است که ماهیان مبتلا اغلب بی‌حال و در سطح آب باقی مانده و معمولاً نامتعادل شنا می‌کنند که بدلیل آسیب آبشش‌ها و مشکلات تنفسی ایجاد شده در ماهی می‌باشد. بروز لکه‌های سفید و قرمز بر روی آبشش‌ها از علائم شاخص این بیماری می‌باشد. از دیگر علائم، خونریزی در آبشش‌ها، چشم‌های فرو رفته، لکه‌های رنگ پریده یا تاول مانند بر روی سطح پوست می‌باشد. همچنین بر روی بدن ماهی ترشحات فراوان مخاطی دیده می‌شود (شکل ۱). مرگ و میرهای مرتبط با این بیماری به شکل واضح در دمای آب ۱۸-۲۷ درجه رخ می‌دهد و

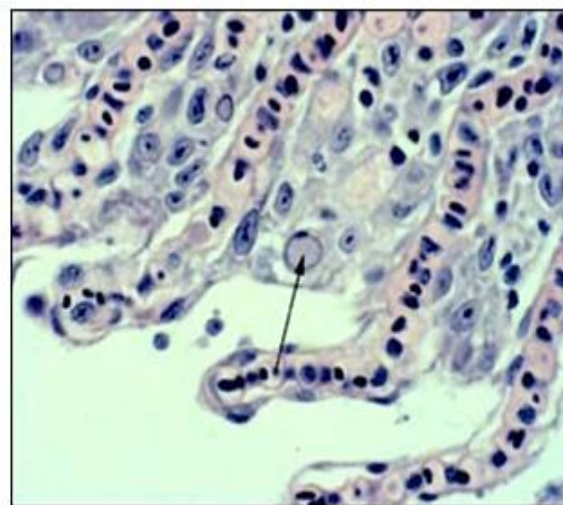
تقریباً هیچ مرگ و میری در دمای کمتر از ۱۸ درجه رخ نخواهد داد. از جمله راه‌های انتقال و انتشار عامل ویروس از آنجایی که ویروس حداقل ۴ ساعت در آب فعال و زنده است (Shimizu *et al.*, 2006) می‌تواند از طریق آبشش صدمه دیده وارد بدن سایر آبزیان شده و سپس به گلبول‌های سفید و از آن طریق خودش را به کلیه میزبان برساند. از دیگر راه‌های انتشار بیماری ارتباط مستقیم با ماهی آلوده، در تماس بودن با مایعات دفعی ماهی آلوده، قرار گرفتن در آب یا لجن محیط‌های آلوده می‌باشند. ورود ویروس به بدن ماهی سالم از طریق روده می‌باشد (Dishon *et al.*, 2005) جدا کردن ویروس از ماهی بهبود یافته بسیار مشکل است زیرا ماهی که سلامتی را بدست آورده قادر است که ویروس را در غلظت بین ۵ تا ۱۰ ذره در هر ۲۵-۳۰ میکروگرم مواد بافتی سرکوب نماید (Bergmann *et al.*, 2010) از جمله روش‌های مولکولی برای تشخیص ژنوم ویروس روش Nested-PCR و یا روش همدمای به واسطه حلقه می‌باشد (Bergmann *et al.*, 2006). این بیماری در کشور برای اولین بار توسط رحمتی هولاسو و همکاران در سال ۱۳۹۵ از ایران گزارش شده و به‌وسیله روش‌های مولکولی و آسیب شناسی مورد تایید قرار گرفته است. برخی محققین دیگر نیز در بررسی‌های خود ردپای این بیماری را در کشور در سال‌های قبل گزارش نموده بودند لیکن گزارش این محقق را شاید بتوان اولین گزارش رسمی این بیماری در کشور تلقی نمود (Rahmati-Holasoo *et al.*, 2016). شایان ذکر است هم‌چون سایر بیماری‌های ویروسی آبزیان، در حال حاضر هیچ درمان موثری برای این بیماری شناخته نشده است. گروهی از محققان اسرائیلی تجویز واکسن را یکی از راه‌های جلوگیری و کاهش آلوده شدن ماهیان کپور و کوی به ویروس KHV اعلام نمودند (Ronen *et al.*, 2003). البته در سال‌های اخیر محققان بر روی استفاده از واکسن‌های DNA بر روی ماهی *Cyprinus carpio* نیز تحقیقات جدیدی را انجام داده‌اند (Asep *et al.*, 2016). سیاست مقابله با این بیماری بصورت رعایت اصول کامل قرنطینه و حذف ماهیان آلوده به ویروس می‌باشد. در جلسه مشورتی سازمان جهانی بهداشت دام (OIE, 2005) این بیماری ویروسی مهلک، به عنوان بیماری قابل اخطار معرفی شده است (Office International des Epizooties, 2012).



شکل ۱: علائم بالینی بیماری در آبشش ماهیان مبتلا به کوی هرپس ویروس (KHV)

## بحث

بیماری اگزوتیک کوی هرپس ویروس از منظر آسیب شناسی با ایجاد پرولیفراسیون (افزایش) توده‌های اپیتلیوم آبششی، تشکیل نکروز در بافت آبشش، وجود گنجیدگی‌های انفرادی در سلول‌های آبششی (Bretzinger *et al.*, 1999)، نکروز سلول‌های پارانشیمی کبد، طحال، کلیه و لوله گوارشی، حضور ماکروفاژهای فراوان با ذرات هضم نشده در داخل آن، وجود گنجیدگی‌هایی در بافت‌های عصبی همراه می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۲: آسیب شناسی بیماری کوی هرپس ویروس (KHV)

افزایش تعداد سلول‌های آبششی (هیپرپلازی) و همجوشی تیغه‌های آبششی و وجود گنجیدگی‌های تکی در سلول‌های بافت پوششی آبشش (اپی تلیوم) (پیکان)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین (H&E)

اندام هدف ویروس KHV هنوز بطور دقیق مشخص نشده است اما تحقیقات نشان داده است که گلبول‌های سفید خون، گرانولوماتوزها و سلول‌های تک هسته‌ای بزرگ در بین سلول‌های بافت کلیه می‌تواند حاوی ویروس KHV باشد

(Bergmann *et al.*, 2009) علائم و مرگ و میر ناشی از دما، ضعف سیستم ایمنی، جوان بودن ماهی، عوامل ثانویه، غلظت ویروس در محیط که بیشتر در دمای ۲۳-۲۸ درجه بروز می‌کند و سن‌های مختلف درگیر می‌شوند، دمای بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد باعث مقاومت طبیعی ماهی می‌شود، در دمای پایین‌تر از ۱۳ درجه و بالاتر از ۳۰ درجه سانتی‌گراد هیچ‌گونه بیماری مشاهده نشده است، دما باعث افزایش تزیاد و تکثیر ویروس (مستقیم) و کاهش توانایی سیستم ایمنی (غیر مستقیم) خواهد شد، نقش دما بیش از نقش غلظت ویروس است، در دماهای ۱۳، ۱۸، ۲۲، ۲۸، DNA ویروس قابل ردیابی است (در بافت کلیه و طحال)، با تغییر ناگهانی دما بیماری بروز می‌کند (بروز ناگهانی)، هم‌چنین با تغییر تدریجی نوعی مقاومت در ماهی بوجود می‌آید (ایجاد ایمنی)، دریک مطالعه آزمایشی ۸۲٪ ماهی‌ها در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد در مواجهه با ویروس تلف شدند (افزایش ناگهانی) دما در کوتاه یا طولانی کردن دوره آنکوباسیون ویروس موثر است (۱۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ روز)، دریک آزمایش و در دمای ۲۸ درجه، یک روز پس از حمام دادن در محلول حاوی ویروس حاد، ویروس در بافت کلیه و طحال ردیابی شد (Gilad *et al.*, 2003). در دیگر تحقیقات انجام شده بر روی استرس و حضور DNA در کپور ماهیان نشان داده شد که استرس باعث کاهش قابل توجهی در غلظت ژنومی KHV پس از ۴ روز گردید. DNA ویروس KHV در نمونه‌های مورد آزمایش از کپور که بصورت مداوم آلوده شده بود در روز دهم پس از القا استرس جداسازی نگردید (Bergmann *et al.*, 2011). در سال ۲۰۱۲ نیز اولین گزارش از کانادا در زمینه جداسازی ویروس KHV از ماهیان کپور از طریق PCR گزارش گردید (Garver *et al.*, 2012).

## پیشنهادات

- با رعایت دقیق و کامل اصول قرنطینه و اجرای کامل اصول امنیت زیستی همچون همیشه می توان از میتلا شدن ماهیان Koi به این بیماری و هر بیماری ویروسی دیگر تا حدودی جلوگیری نمود. در برخی از منابع توصیه شده جهت کنترل بیماری و کاهش مرگ و میر دما را تا ۳۰ درجه و به مدت یک ماه افزایش داده و هوادهی مخزن را نیز برای تنفس بهتر ماهی ها در این دما بهبود بخشیدند. البته نباید فراموش کرد که این درجه حرارت می تواند سایر بیماری های خفته باکتریایی را نیز شایع سازد، لذا باید برای کنترل آن ها نیز چاره ای اندیشید.

- برای ضد عفونی استخرها می توان از کلر به میزان ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و به مدت یک ساعت استفاده نمود.

- همچنین برای پیشگیری از شیوع بیماری، واکسیناسیون ماهی ها بر علیه این بیماری، قرنطینه ی ماهیان تازه خریداری شده حداقل به مدت یک ماه، رعایت جمعیت ماهی ها و میزان مناسب تراکم، همچنین افزایش کیفیت آب، غذا و کاهش عوامل استرس زا همگی می تواند در کاهش رخداد این بیماری ویروسی موثر باشد.

## منابع

- Bergmann, S.M., and Kempster, J., 2011.** Detection of koi herpesvirus (KHV) after re-activation in persistently infected common carp (*Cyprinus carpio* L.) using non-lethal sampling methods. Bulletin European Associated of Fish Pathologists, 31(3): 92.
- Bretzinger, A., Fischer-Scherl, T., Oumouna, M., Hoffmann, R. and Tru Yen, U. 1999.** Mass mortalities in koi carp, *Cyprinus carpio*, associated with gill and skin disease. Bulletin European Associated. Fish Pathologists, 19: 182–185.
- Costes, B., Stalin Raj, V., Michel, B., Fournier, G., Thirion, M., Gillet, L., Mast, J., Lieffrig, F., Bremont, M. and Vanderplasschen, A., 2009.** The major portal of entry of koi herpesvirus in *Cyprinus carpio* is the skin. Journal of Virology, 83: 2819–2830.
- Dishon, A., Perelberg, A., Bishara- Shieban, J., Houze, M., Davidovi, Ch M., Werker, S. and Kotler, M., 2005.** Detection of carp interstitial nephritis and gill necrosis virus in fish droppings. Applied Environment Microbiology, 71: 7285-7291.
- Eide, K., Miller-Morgan, T., Heidel, J., Bildfell, R. and Jin, L., 2011.** Results of total DNA measurement in koi by tissue koi herpesvirus real-time PCR. Journal of Virological Methods. 172: 81–84.
- Garver, K.A., Al-Hussinee, L., Hawley, L.M., Schroeder, T., Edes, S., Lepage, V., Contador, E., Russell, S., Lord, S., Stevenson, R.M.W., Souter, B., Wright, E. and Lu Msden, J.S., 2010.** Mass mortality associated with koi herpesvirus in wild common carp in Canada. Journal of Wild life Diseases., 46, 1242-1251.
- Gilad, O., Yun, S., Adkison M.A., Way, K., Willits N.H., Bercovier, H. and Hedrick, R.P., 2003.** Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus and the effect of
- Asep, A., Nuryati, A. and Alimuddin, M., 2016.** Efficacy of koi herpesvirus DNA vaccine administration by immersion method on *Cyprinus carpio* field scale culture. Journal of Aquaculture Research. DOI: 10.1111/are.13097.
- Bergmann, S.M., Kempster, J., Sadowski, J. and Fichtner, D., 2006.** First detection, confirmation and isolation of koi herpesvirus (KHV) in cultured common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Poland. Bulletin European Associated of Fish Pathologists. 26: 97–104.
- Bergmann, S.M., Sadowski, J., Kielpinski, M., Bartlomiejczyk, M., Fichtner, D., Riebe, R., Lenk, M. and Kempster, J., 2010.** Susceptibility of koi x crucian carp and koi x goldfish hybrids to koi herpesvirus (KHV) and the development of KHV disease (KHVD). Journal of Fish Diseases., 33: 267-272.

water temperature on mortality of experimentally infected koi. *Journal of Genetic Virology*, 84: 2661-2667.

**Hedrick, R.P., Gilad, O., Yun, S., Spangenberg, J.V., Marty, G.D., Nordhausen, R.W., Kebus, M.J., Bercovier, H. and Eldar, A., 2000.** A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *Journal of Aquatic Animal Health*, 12:44–57.

**Office International des Epizooties. 2012.** Diseases listed by the OIE. *Aquatic Animal Health Code*, 15th Edition, OIE Aquatic Animal Health Standards Commission (Aquatic Animals Commission), Office International des Epizooties. Available: [www.oie.int/eng/normes/fcode/en\\_sommaire.htm](http://www.oie.int/eng/normes/fcode/en_sommaire.htm).

**Pikarsky, E., Ronen, A., Abramowitz, J., Levavi-Sivan, B., Hutoran, M., Shapira, Y., Steintz, M., Perelberg, A., Soffer, D. and Kotler, M., 2004.** Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *Journal of Virology*, 78: 9544–9551.

**Rahmati-Holasoo, H., Ashkan Zargar, S., Ahmadvand, S., Shokrpour, S., Ezhari, and Ebrahimzadeh mousavi, H., 2016.** First detection of koi herpesvirus from koi, *Cyprinus carpio* L. experiencing mass mortalities in Iran: clinical, histopathological and molecular study. *Journal Of Fish Diseases* n/a, no. n/a: n/a-n/a.

**Ronen, A, Perelberg, A., Abramovitz, J., Hutoran, M., Tinman, S., Bejerano, I., Steinitz, M. and Kotler, M., 2003.** Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine*, 21(32): 4625–4743.

**Shimizu, T., Yoshida, N., Kasai, H. and Yoshimizu, M., 2006.** Survival of koi herpesvirus (KHV) in environmental water, *Journal of Fish Pathology*, 41: 153–157.

**Waltzek, T.B., Kelley, G.O., Alfaro, M.E., Kurobe, T., Davison, A.J. and Hedrick, R.P., 2009.** Phylogenetic relationships in the family Alloherpesviridae. *Diseases Aquatic Organism*. 84: 179–194.