



Ranavirussen in het algemeen, en in het bijzonder bij amfibieën

1. Wat zijn ranavirussen?

Het zijn **virussen** die behoren tot het geslacht *Ranavirus* van de familie van de *Iridoviridae*. De virussen hebben de vorm van een regelmatig twintigvlak van 120-200 nm in diameter (1).

Het geslacht *Ranavirus* omvat meerdere virussoorten. Enkele hiervan zijn het Frog Virus 3 (FV3), *Ambystoma tigrum* virus (ATV), Bohle iridovirus (BIV), Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) en European catfish virus (ECV) (1). Hoeveel soorten er precies zijn, is nog niet duidelijk. Het onderscheid tussen soort en stam [onderverdeling van soort] is namelijk moeilijk te maken, vooral als maar een fractie van de genetische opbouw bekend is (1). Zo is het *Rana catesbeiana* virus Z (RCV-Z) mogelijk een aparte soort en niet een stam van FV3 (1, 2). Ook het in 2007 in Spanje geïsoleerde Common Midwife Toad Virus (CMTV) zou een aparte soort kunnen zijn, of slechts een stam van EHNV (3).

2. Waar komen ze voor, en in welke diersoorten?

Ranavirussen zijn aangetoond op **alle continenten behalve Antarctica en Afrika**. Ze komen voor bij amfibieën, reptielen en benige vissen (**koudbloedige vertebraten**)(1). Een factor die bijdraagt tot de affiniteit van ranavirussen voor koudbloedige vertebraten is de temperatuur; FV3 bijvoorbeeld vermenigvuldigt zich bij temperaturen tussen 12°C en 32°C (4). Ranavirussen zijn nog nooit in verband gebracht met ziekte bij de mens. Ieder ranavirus lijkt meerdere diersoorten te kunnen besmetten(5-9). Deze diersoorten vallen meestal binnen dezelfde orde of klasse, maar zijn soms ook van verschillende klassen. Zo kunnen sommige ranavirussen die bij amfibieën voorkomen bepaalde vissen infecteren(7, 9). Het lijkt er op dat ranavirussen van oorsprong in vissen voorkwamen, en 'recent' zijn overgesprongen van vissen naar kikkers, van vissen naar salamanders, van kikkers naar reptielen, en misschien zelfs weer terug van amfibieën naar vissen (10).

3. Wat zie je bij amfibieën die met ranavirus besmet zijn?

Ranavirussen kunnen **massale sterfte** veroorzaken in populaties vissen, amfibieën, of reptielen. Voorbeelden van degelijke uitbraken bij wilde amfibieën in Europa zijn uitbraken door FV3-achtige virussen in bruine kikkers (*Rana temporaria*) in Engeland sinds ca. 1985 (11, 12) en in bastaardkikkers (*Pelophylax* kl. *esculenta*) in Denemarken in 2008 (13); en uitbraken door CMTV in Alpenwatersalamanders (*Ichthyosaura alpestris*) en vroedmeesterpadden (*Alytes obstetricans*) in Noord Spanje, 'Picos de Europa' Nationaal Park(3). De uitbraken zijn meestal van korte duur en komen vooral voor rond de zomer(1, 14, 15).

Bij de met FV3-achtige virussen geïnfecteerde kikkers in Engeland komen twee **ziektebeelden** voor: bloedingen in inwendige en uitwendige organen of huidzweren en verlies van spiermassa in de poten. De dieren hebben een van deze beelden of een combinatie ervan(16). De geïnfecteerde kikkers in Denemarken zaten erbij alsof ze net weg wilden springen(13). De met

situatie in Nederland

Ranavirus is nu dus voor het eerst bij amfibieën (kikkers uit het groene kikker complex, met name bastaard kikkers en poelkikkers, *Pelophylax* spp.) in Nederland aangetoond.

Ruim duizend kikkers uit het groene kikker complex stierven in september 2010 in een vijver bij het bezoekerscentrum van Dwingelderveld.

CMTV besmette kikkervisjes hadden uitwendige bloedingen rond de ogen en in de huid, en ook in de kieuwen en de interne organen(3). Ook bij andere ranavirussen zijn uitgebreide bloedingen en huid- en gedragsveranderingen waarneembaar(1, 17).

Maar ranavirus infectie hoeft niet altijd te lijden tot ziekte en sterfte. Er zijn aanwijzingen dat dieren de ziekte soms overleven [**subletale infecties**] (16, 18). Andere dieren zouden ook geïnfecteerd kunnen worden en symptomeloos blijven [**subklinische infecties**] (5, 19). Aangeboren immuniteit en verkregen immuniteit [weerstand] spelen hierbij een rol (1, 17). Sommige diersoorten of populaties zijn minder gevoelig voor ziekte [aangeboren immuniteit]. Anderen zijn al in aanraking geweest met (lage hoeveelheden van) dit of een andere ranavirus [verkregen immuniteit] (2). Dit laatste zou kunnen verklaren waarom volwassen dieren soms niet ziek lijken te worden terwijl de larven sterven. Een deel van de overlevende dieren zou langdurig besmet kunnen zijn, bijvoorbeeld bij EHNV (5).

Stress zou de kans op ziekte en sterfte kunnen verhogen door de immuniteit van de dieren te verlagen (20). Dit kan stress zijn als gevolg van het ondergaan van de metamorfose, maar ook veranderingen in water temperatuur, water kwaliteit, hoge dichtheden, voedsel tekort en predatie (17).



Foto 1

4. Hoe wordt de diagnose bij een uitbraak gesteld?

De diagnose van ziekte en sterfte door ranavirus wordt gesteld op grond van het **ziektebeeld bij de levende en dode amfibieën gekoppeld aan de resultaten van diagnostische tests**. Deze koppeling is belangrijk, omdat ranavirus dus ook subklinisch kan voorkomen en de sterfte oorzaak anders zou kunnen zijn. Als er bij het onderzoek van de organen en weefsels van de gestorven dieren (pathologisch onderzoek) afwijkingen zijn die duiden op ranavirus infectie, dan worden weefselmonsters getest voor de aanwezigheid van ranavirus. Een veel gebruikte methode is de PCR ('Polymerase Chain Reaction'). Met deze methode wordt een voor het ranavirus karakteristiek deel van het genetisch materiaal (bij ranavirus is dat meestal een deel van het MCP gen(1)) zo vaak vermenigvuldigd dat het product groot genoeg is om waargenomen te worden. Vervolgens kan nog naar de volgorde van de DNA bouwstenen gekeken worden ('sequentie bepaling') voor een indicatie van het soort ranavirus (zie ook 1).

Sommige groene kikkers lagen dood in de vijver, maar veel waren uit het water gekomen en zaten roerloos in een wegspringhouding tot de dood. Bloedingen door de huid, mond en trommelvlies waren te zien (Foto 1).

situatie in Nederland

Er was geen specifieke stress factor te herleiden bij de Nederlandse uitbraak.

De diagnose is in Nederland gesteld door een combinatie van de gegevens over de ziekteverschijnselen (Foto 1), het postmortaal onderzoek waarbij typische afwijkingen zichtbaar waren, positieve PCR resultaten, gedeeltelijke sequentie bepaling, en elektronen microscopie.

5. Hoe worden dieren en locaties besmet met ranavirus?

Een ontvankelijk dier kan op verschillende manieren **besmet** worden. Dit kan door **direct contact** via het eten van zieke of dode individuen, of via de kapotte huid of de intacte huid (16, 21, 22, 23). Experimenteel was 1 seconde contact tussen intacte huiden al voldoende om ATV tussen salamander larven onderling over te brengen (21), en bleef EHNV in visweefsel meer dan 7 dagen infectieus bij +4°C, en meer dan 2 jaar bij -20°C en -70°C (5). De overdracht kan ook via **indirect contact** plaatsvinden, namelijk met **besmet water, sediment of materiaal** (5, 16, 21, 22). EHNV in water bleef meer dan 97 dagen infectieus, en EHNV in opgedroogde weefselkweekcellen meer dan 113 dagen bij 15°C (5).

Direct contact lijkt wel vaker tot dodelijke infecties te leiden (22) dan indirect contact. Gezonde kikkervisjes die in water geplaatst werden met door het ranavirus geïnfecteerde kikkervisjes zonder daarmee direct in contact te komen, gingen net als degenen die wel direct contact hadden bijna allemaal dood, alleen duurde het een paar dagen langer. Overdracht van kleine hoeveelheden sediment en water uit een besmette poel naar een niet besmette poel leidde tot subletale infecties in kikkervisjes in de laatstgenoemde poel (22). Dergelijke bevindingen kunnen grotendeels verklaard worden door de hoeveelheid virus waaraan blootgesteld wordt (24).

Bovenstaande punten (2, 3 en 5) geven al aan **hoe ranavirussen opeens op kunnen duiken in een nieuwe plek**: De virussen kunnen binnengebracht worden via geïnfecteerde dieren (al dan niet van de dezelfde soort, en al dan niet subklinisch geïnfecteerd) of via besmet water, sediment, en materiaal zoals visnetjes. Naast de eigen bewegingen van vissen, amfibieën en reptielen, helpen ook vogels en de mens het virus bij het overbruggen van afstanden (17, 25). In enkele situaties kan het voorkomen dat het virus al langer op de plek aanwezig was, maar pas bij stress van de dieren tot uiting in ziekte en sterfte kwam.

6. En nu? Wat is de betekenis van dit alles? Wat kan men doen?

Hoewel aan het begin van deze eeuw de relatie met de **wereldwijde afname van amfibieën** nog onduidelijk was (26), komen er steeds meer aanwijzingen dat ranavirussen langdurige gevolgen voor amfibie populaties kunnen hebben. Bijvoorbeeld uit Engeland, waar een ranavirus dat uit Amerika lijkt te komen (16) sinds ca 1985 sterfte kikkersterfte in vijvers veroorzaakt. Hoewel sommige populaties zich in tien jaar volledig herstellen, zijn er ook populaties die uitgeroeid zijn, of waar de infectie herhaaldelijk de kop op steekt. In die laatste groep zijn de aantallen amfibieën teruggebracht tot een vijfde van het oorspronkelijke aantal (15). Vaak wordt ook gevreesd dat ranavirussen bijdragen aan het **verdwijnen van zeldzame soorten**. Daarvoor was in Noord Amerika aan het begin van deze eeuw nog geen bewijs (14), maar zeldzame soorten zijn zeker ook gevoelig voor ranavirussen (27).

Het wordt nu algemeen geaccepteerd dat **menselijk handelen de verspreiding van ranavirussen over de wereld in de hand werkt** (17, 27-32). Jaarlijks worden miljoenen levende amfibieën en duizenden tonnen producten daarvan verhandeld (31). Naast de mogelijke gevolgen voor amfibie populaties en individuele dieren (welzijn), is dit ook een belangrijke reden waarom sinds kort het vinden van ranavirus infecties gemeld moeten worden bij de OIE (World Organization for Animal Health) (meldingsplicht) (31).

situatie in Nederland

Het is niet bekend wanneer en hoe de infectie in het ven bij Dwingelderveld terecht gekomen is. Door een goed ranavirus monitoring programma in het Dwingelderveld en elders in Nederland is dit misschien deels te achterhalen en wordt in elk geval duidelijker of ranavirussen op meer plekken in Nederland voorkomen.

De gevolgen voor het besmette ven en de omgeving zullen met monitoring de komende jaren duidelijk worden.



Deze uitbraak is bij de OIE gemeld.

Als de besmetting eenmaal in het wild gevonden is, is overdracht tussen wilde dieren moeilijk te voorkomen(13). Wel kunnen er maatregelen genomen worden om **verspreiding** tussen verschillende locaties door de mens te **beperken**. Zo is het niet raadzaam om dieren afkomstig uit een aquarium later nog uit te zetten in het wild, of om dieren te verplaatsen van de ene vijver naar de andere. Ook is het raadzaam om visnetten en dergelijk materiaal schoon te maken, te ontsmetten, en daarna te drogen bij gebruik tussen verschillende locaties. Het is aan te raden om voor elke locatie andere, schone materialen te gebruiken (laarzen, netten e.d.). Als dat niet mogelijk is, dan wordt aangeraden op een van de hierna genoemde methoden te desinfecteren, maar op geruime afstand van het oppervlakte water. Getracht moet worden om zo min mogelijk ontsmettingsmaterialen in het milieu te laten komen. Natrium hypochloriet (bleekwater) in voldoende hoge concentratie (3-5%) gedurende 1 minuut kon materiaal ontsmetten, even als potassium peroxymonsulfaat (Virkon S® 1%, gedurende 1minuut) en chlorhexidene (Nolvasan®, 0.75%, gedurende 1 minuut) (33).

Ziet u onverklaarbare ziekte en sterfte bij wilde amfibieën, reptielen of vissen, dan kunt u dit melden bij ravon (www.ravon.nl) en contact op nemen met het dwhc zodat de oorzaak onderzocht kan worden (030-2537925, dwhc@uu.nl, www.dwhc.nl).

Referenties

1. V. G. Chinchar, A. Hyatt, T. Miyazaki, T. Williams, Curr. Top. Microbiol. Immunol. 328, 123 (2009).
2. S. Majji et al., Dis. Aquat. Organ. 73, 1 (2006).
3. A. Balseiro et al., Dis. Aquat. Organ. 84, 95 (2009).
4. V. G. Chinchar, Arch. Virol. 147, 447 (2002).
5. J. S. Langdon, Journal of Fish Diseases 12, 295 (1989).
6. J. K. Jancovich, E. W. Davids, A. Seiler, B. L. Jacobs, J. P. Collins, Dis. Aquat. Organ. 46, 159 (2001).
7. N. J. G. Moody, L. Owens, Dis. Aquat. Organ. 18, 95 (1994).
8. A. L. Duffus, B. D. Pauli, K. Wozney, C. R. Brunetti, M. Berrill, J. Wildl. Dis. 44, 109 (2008).
9. J. Mao, D. E. Green, G. Fellers, V. G. Chinchar, Virus Res. 63, 45 (1999).
10. J. K. Jancovich, M. Bremont, J. W. Touchman, B. L. Jacobs, J. Virol. 84, 2636 (2010).
11. A. A. Cunningham et al., Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 351, 1539 (1996).
12. S. E. Drury, R. E. Gough, A. A. Cunningham, Vet. Rec. 137, 72 (1995).
13. E. Ariel et al., Dis. Aquat. Organ. 85, 7 (2009).
14. D. E. Green, K. A. Converse, A. K. Schrader, Ann. N. Y. Acad. Sci. 969, 323 (2002).
15. A. G. F. Teacher, A. A. Cunningham, T. W. J. Garner, Anim Conserv. 13, 514 (2010).
16. A. A. Cunningham, A. D. Hyatt, P. Russell, P. M. Bennett, Epidemiol. Infect. 135, 1200 (2007).
17. M. J. Gray, D. L. Miller, J. T. Hoverman, Dis. Aquat. Organ. 87, 243 (2009).
18. S. F. Fox, A. L. Greer, R. Torres-Cervantes, J. P. Collins, Dis. Aquat. Organ. 72, 87 (2006).
19. D. L. Miller et al., J. Wildl. Dis. 45, 314 (2009).
20. C. Carey, N. Cohen, L. Rollins-Smith, Dev. Comp. Immunol. 23, 459 (1999).
21. J. L. Brunner, D. M. Schock, J. P. Collins, Dis. Aquat. Organ. 77, 87 (2007).
22. E. M. Harp, J. W. Petranka, J. Wildl. Dis. 42, 307 (2006).
23. A. A. Cunningham, A. D. Hyatt, P. Russell, P. M. Bennett, Epidemiol. Infect. 135, 1213 (2007).
24. J. L. Brunner, K. Richards, J. P. Collins, Oecologia 144, 399 (2005).
25. R. J. Whittington, C. Kearns, A. D. Hyatt, S. Hengstberger, T. Rutzou, Australian Veterinary Journal 73, 112 (1996).
26. P. Daszak et al., Emerg. Infect. Dis. 5, 735 (1999).
27. A. M. Picco, J. L. Brunner, J. P. Collins, J. Wildl. Dis. 43, 286 (2007).
28. A. L. J. Duffus, A. A. Cunningham, Herpetological Journal 20, 117 (2010).
29. J. K. Jancovich et al., Mol. Ecol. 14, 213 (2005).
30. A. M. Picco, J. P. Collins, Conserv. Biol. 22, 1582 (2008).
31. L. M. Schloegel, P. Daszak, A. A. Cunningham, R. Speare, B. Hill, Dis. Aquat. Organ. 92, 101 (2010).
32. V. St-Amour, W. M. Wong, T. W. Garner, D. Lesbarreres, Emerg. Infect. Dis. 14, 1175 (2008).
33. L. K. Bryan, C. A. Baldwin, M. J. Gray, D. L. Miller, Dis. Aquat. Organ. 84, 89 (2009).

Zo kunt ook u bijdragen aan het voorkomen van de verspreiding van ranavirussen!



Tekst:

Jolianne Rijks, Marja Kik, Annemarieke Spitzen, Andrea Gröne.

Foto's

Foto 1: Kikker larve met onderhuidse bloedingen, Dwingelderveld September 2010 (foto: Dick Willems)