Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Zakład Chorób Ryb



**mgr inż. Joanna Maj-Paluch**

**Charakterystyka molekularna krajowych izolatów wirusa zakaźnej martwicy trzustki ryb łososiowatych oraz wpływ koinfekcji z wybranymi wirusami na patogenezę zakażenia**

Molecular characteristics of infectious pancreatic necrosis virus in salmonids national/domestic/local isolates and the impact of co-infection with selected viruses on the pathogenesis of infection

**Streszczenie rozprawy doktorskiej**

Promotor:

**Prof. dr hab. Michał Reichert**

Zakład Chorób Ryb, Zakład Anatomii Patologicznej

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Promotor pomocniczy:

**Dr Marek Matras**

Zakład Chorób Ryb

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Recenzenci:

**Prof. dr hab. Antonina Sopińska**

Zakład Chorób Ryb i Biologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**Dr hab. Hanna Lutnicka, prof. UR**

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Puławy, 2023 r.

**Streszczenie**

Należący do rodzaju *Aquabirnavirus* i rodziny *Birnaviridae* wirus zakaźnej martwicy trzustki (IPNV) często występuje w środowisku wodnym w koinfekcji z innymi wirusami. Genom IPNV składa się z dwóch segmentów dsRNA, nazwanych A i B. Segment A zawiera dwie otwarte ramki odczytu, a segment B zawiera tylko jedną ORF. Genom wirusowy koduje pięć białek wirusowych: VP1, VP2, VP3, VP4 i VP5. Trzy z nich to białka strukturalne, a dwa to białka niestrukturalne. Szczegółowy opis wirusa, jego budowy, występowania i metod diagnostycznych zawiera pierwszy artykuł przeglądowy.

Wiadomym jest, że białko VP2 jest odpowiedzialne za antygenowość wirusa. Ze względu na podobieństwa i różnice w budowie genu VP2 omawiany birnawirus dzieli się na siedem genogrup: Genogrupa 1 składa się z izolatów ze Stanów Zjednoczonych (serotyp A1) i szczepów Jasper. Genogrupa 2 obejmuje wirusy z Europy i Azji, wszystkie izolaty należące do serotypu A3. Genogrupa 3 jest reprezentowana przez kanadyjskie izolaty serotypu A6 (C1 i ASV) oraz szczep Tellina europejskiego serotypu 5. Typowe szczepy kanadyjskich serotypów A7 (C2) i A8 (C3) obejmują genogrupę 4. Wszyscy członkowie serotypu A2, w tym izolaty europejskie i azjatyckie, tworzą genogrupę 5. Genogrupę 6 charakteryzuje szczep Hecht (serotyp A4). Genogrupa 7 składa się z japońskich izolatów, nazywanych również „morskim aquabirnawirusem”.

Pierwszym zadaniem była analiza genetyczna wirusów IPN występujących w polskich gospodarstwach rybackich.

W pierwszym oryginalnym artykule próbki pochodzące od ryb słodkowodnych, głównie z lat 2002–2017, badano pod kątem obecności wirusa IPN za pomocą izolacji na hodowlach komórkowych, RT-PCR w czasie rzeczywistym i RT-PCR. Fragmenty 1377 i 1079 pz odpowiednio genów VP2 i VP5 zsekwencjonowano, a wyniki zebrano w jeden konsensus i przeanalizowano za pomocą oprogramowania Geneious. Porównano ten sam region genów VP2 i VP5 i wygenerowano drzewa filogenetyczne metodą łączenia sąsiadów oraz przy użyciu oprogramowania MEGA 6.06.

Wszystkie badane polskie izolaty należały do ​​genogrupy 5, podobnie jak inne europejskie izolaty Spjarup. Polskie izolaty wykazują bliskie relacje ze sobą. Istnieje ścisły związek między izolatami polskimi a izolatami z Turcji, Hiszpanii, czy Iranu. Izolat 57 tworzy osobną gałąź, spokrewniony jest z izolatami z USA i Tajwanu. Wskazuje to na prawdopodobieństwo wprowadzenia wirusa w przeszłości poprzez import wraz z materiałem zarybieniowym z tych krajów.

Analiza piśmiennictwa uwzględnionego w drugim artykule przeglądowym dostarczyła licznych przykładów występowania koinfekcji wirusem zakaźnej martwicy trzustki, co przybliżyło specyfikę tego rodzaju zakażeń.

W drugim oryginalnym artykule omówiono przeprowadzony eksperyment i przeanalizowano wpływ wirusa IPN na przebieg koinfekcji z innymi wirusami u pstrąga tęczowego. Do koinfekcji użyto szczepów terenowych wirusa krwotocznej posocznicy (VHSV), wirusa zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego (IHNV) i alfawirusa ryb łososiowatych (SAV), zakażano pstrągi tęczowe podzielone na osiem grup; I grupa: IPNV, II grupa: IHNV,

III grupa: VHSV, VI grupa: SAV, V grupa: IPNV+IHNV, VI grupa: IPNV+VHSV, VII grupa: IPNV+SAV i grupa kontrolna. W ramach eksperymentu oceniano apoptozę w białych krwinkach i wykorzystano RT-PCR w czasie rzeczywistym do analizy RNA uzyskanego z narządów wewnętrznych ryb. Podczas pojedynczej infekcji i koinfekcji analizowano poziom ekspresji genów odpornościowych, takich jak interferon i receptor Toll-like 3 (TLR-3). Największą śmiertelność podczas doświadczenia zaobserwowano w grupie III, zakażonej VHSV. Średni odsetek komórek apoptotycznych był wyższy w grupach bez koinfekcji, zwłaszcza w grupach II i III. Ekspresja interferonu była wyższa w grupach pojedynczo zakażonych, najwyższa w sercu w grupie III, podczas gdy ekspresja genu TLR-3 była ogólnie podwyższona we wszystkich badanych narządach we wszystkich grupach. Stwierdzono, że koinfekcja IPNV miała pozytywny wpływ na przebieg infekcji wymienionymi wirusami, ponieważ obniżała śmiertelność, zmniejszała apoptozę koinfekowanych komórek i pozytywnie wpływała na zdrowie ryb.