

Yersiniose i norsk akvakultur

Duncan J. Colquhoun



Veterinærinstituttet
— Norwegian Veterinary Institute

FHF Prosjekt 901119

Yersiniose i resirkuleringsanlegg for laks: smittesporing, biofilmegenskaper og sanering

2016-2017

Prosjektgruppe (alle VI)

Snorre Gulla
Lene Vestby
Karin Lagesen
Duncan Colquhoun

Styringsgruppe

Arne Guttvik (Salmar)
Berit Seljestokken (Grieg)
Lisbeth Løvmo Martinesen (MH)

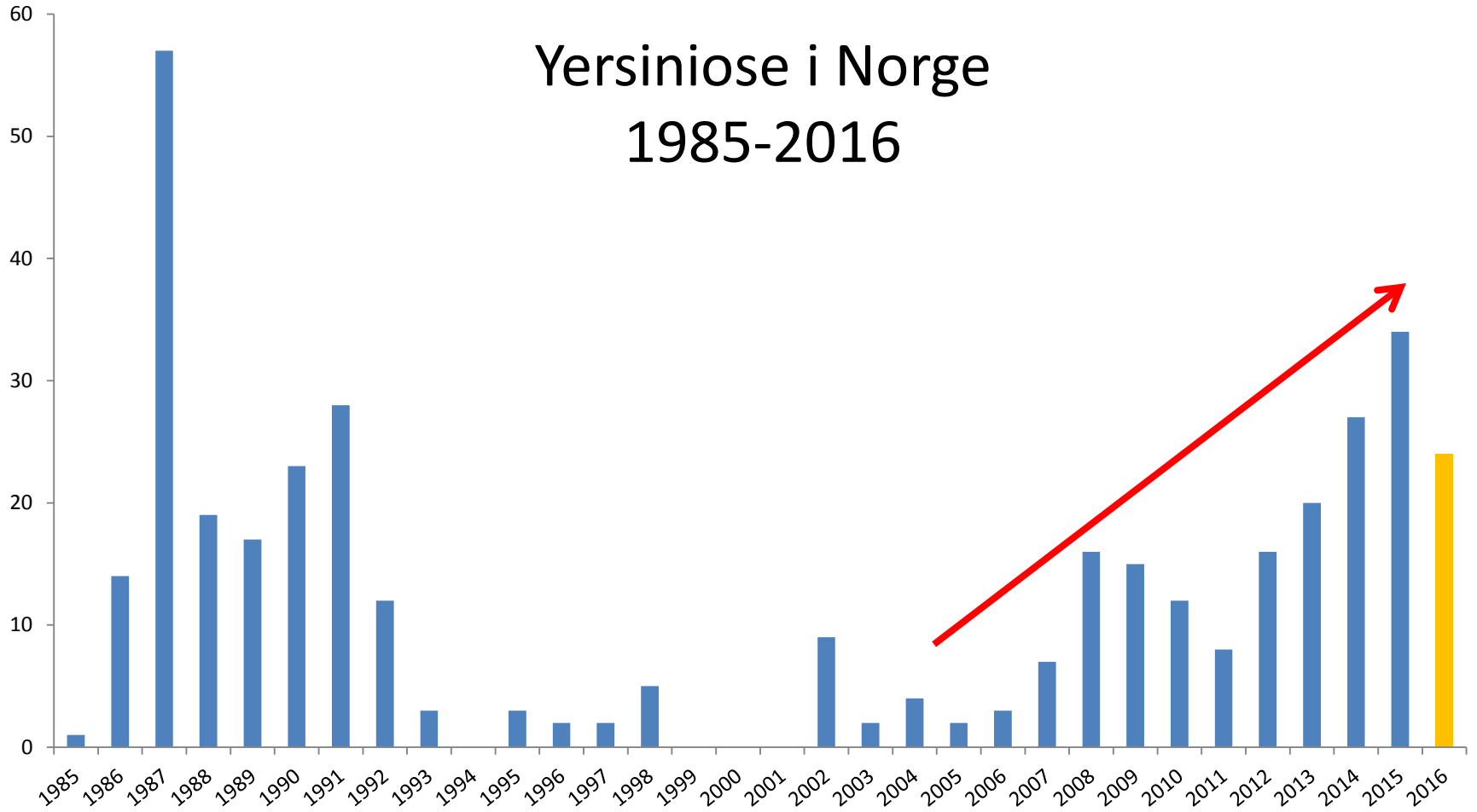
Referansegruppe

Magnus Devold (Patogen)



Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Yersiniose i Norge 1985-2016



Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Yersinia ruckeri...litt bakgrunn.....

Infeksjon/sykdom forårsaket av *Yersinia ruckeri*

Også kjent som 'rødmunnsjuka'

Ikke meldepliktig

- Først identifisert på 50-tallet i USA
- Først identifisert i Norge i 1985

Internasjonalt, hovedsakelig regnbueørret

I Norge, som 'problem' begrenset til Atlantisk laks

- Infeksjon/transmisjon/utbrudd i ferskvann
- Både gjennomstrømnings og resirkulerings (RAS) anlegg
- Utbrudd i sjø etter utsett, nå rapportert i slaktefisk

Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6 (2), 41, 1986

THE FIRST ISOLATION OF *Yersinia ruckeri* FROM FARMED NORWEGIAN SALMON

By O. SPARBOE, C. KOREN, T. HÅSTEIN, T. POPPE AND H. STENWIG

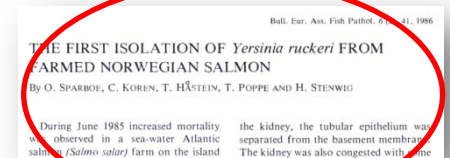
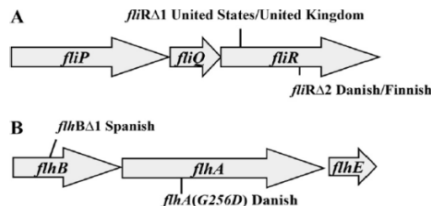
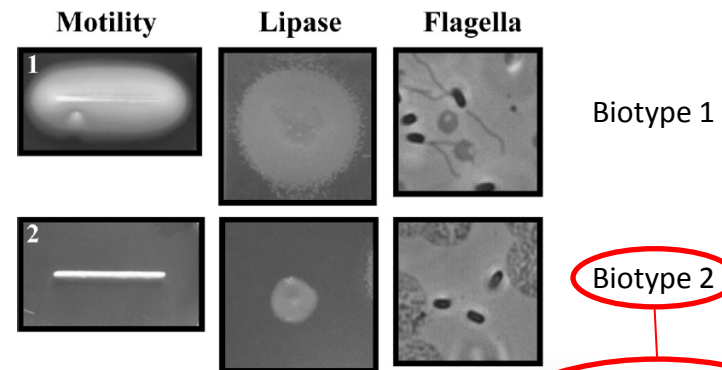
During June 1985 increased mortality was observed in a sea-water Atlantic salmon (*Salmo salar*) farm on the island the kidney, the tubular epithelium was separated from the basement membrane. The kidney was also congested with some



Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Y. ruckeri....litt mer bakgrunn....

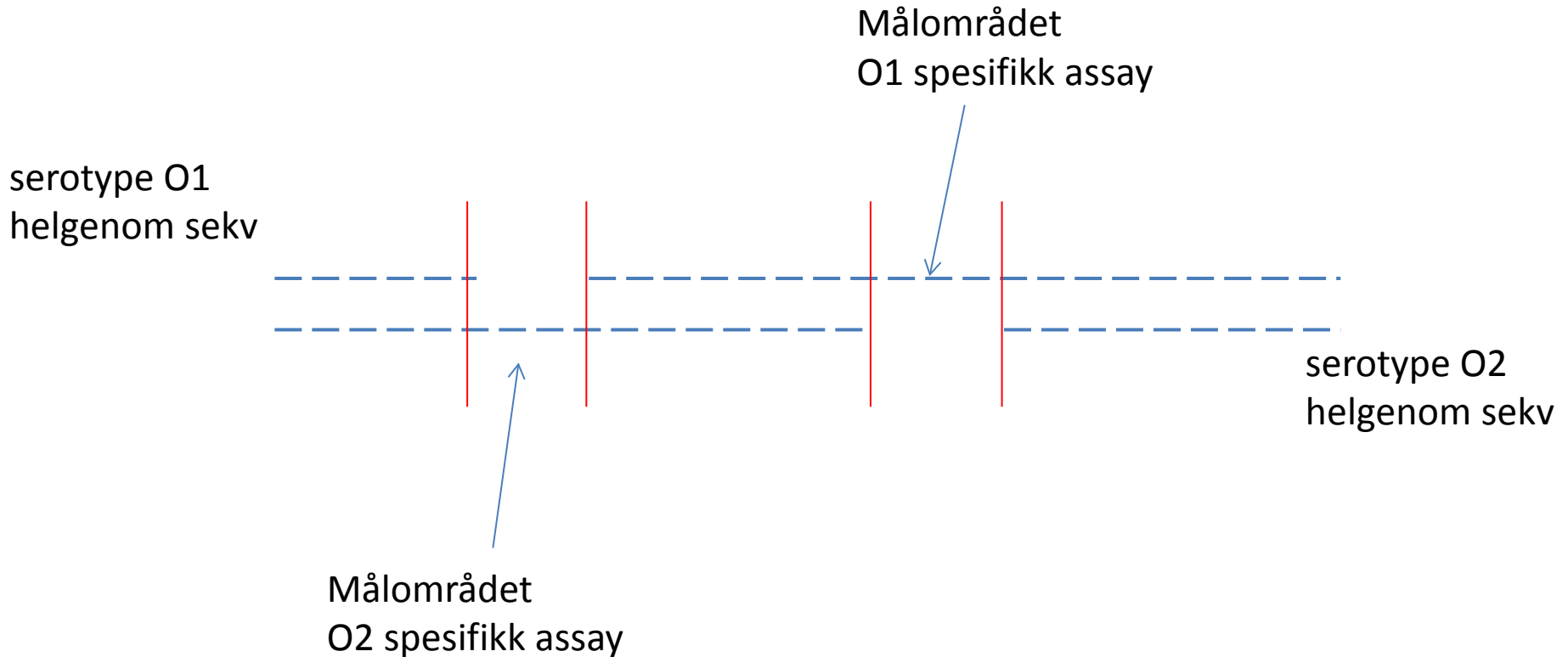
- Tilhører familie Enterobacteriaceae
- Flere serotyper
 - Komplisert situasjon med flere forskjellig publiserte systemer
 - Generelle enighet rundt serotyper O1 og O2 som er vanligst ifbm sykdom i fisk
- To biotyper
 - Biotype 1
 - Bevegelig, hydrolyserer Tween 80
 - Biotype 2
 - Ubevegelig, hydrolyserer ikke Tween 80
- Biotype 2 = Biotype 1 uten flagell
 - Oppstått uavhengig i USA og Europa
 - Biotype 2 assosiert med vaksinesvikt



Prosjektmål

- Utvikle serotype-spesifikk qPCR
 - serotype O1
 - serotype O2
- Karakterisere norske *Y. ruckeri*
 - Utvikle molekylære redskap for smittesporing
 - Avklare spredningsmønster
- Teste saneringstiltak mot *Y. ruckeri* i biofilm

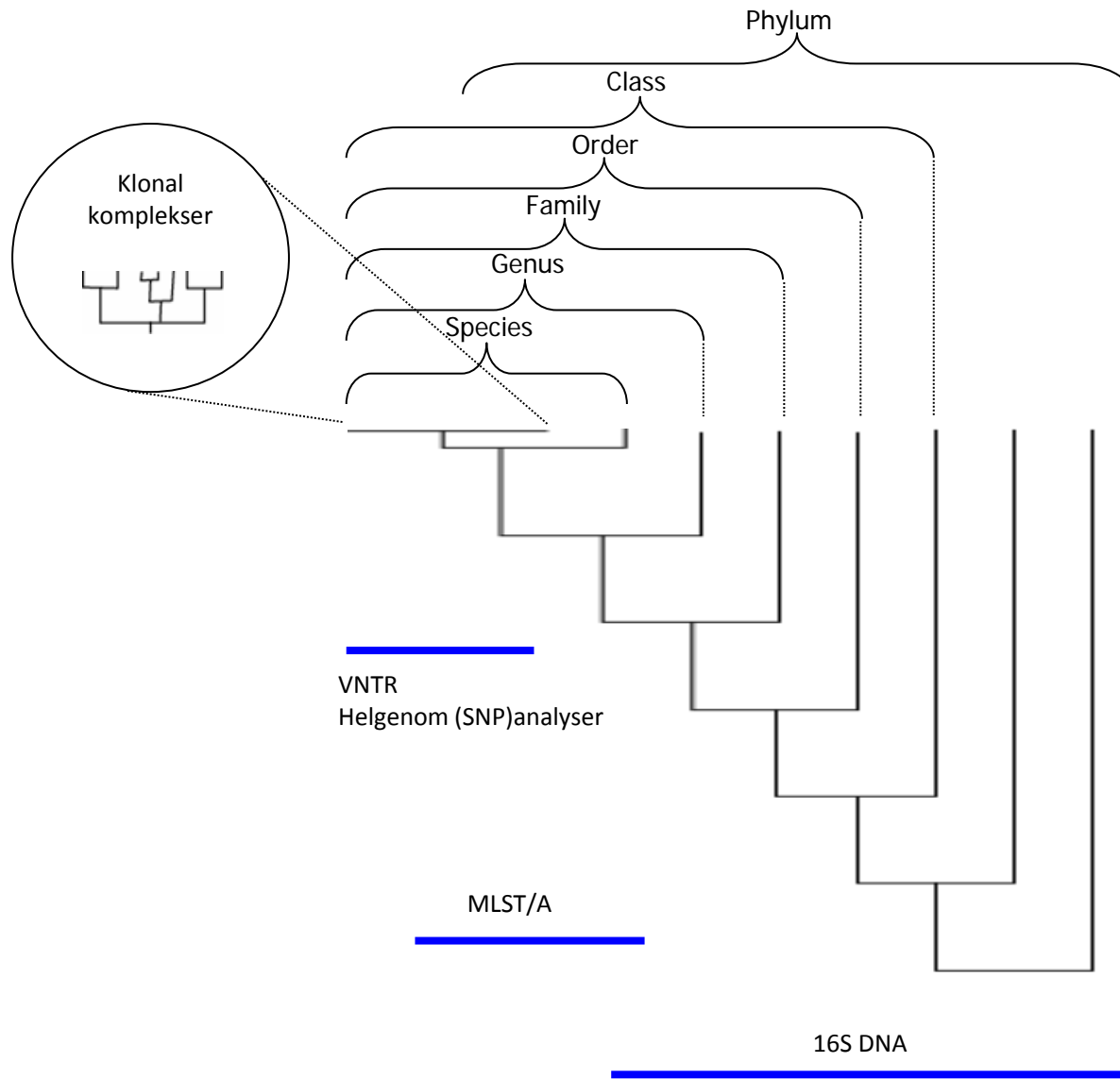
Utvikling av PCR ved bruk av helgenomsekvenser



PCR status og planer

- Begge PCRer fungerer tilsynelatende godt
 - Sensitive og spesifikke
- Beskrive smittedynamikk i affiserte anlegg
- Undersøke prevalens i forskjellige fiskepopulasjoner
 - Stamfisk
 - Smolt

Smittesporingsystemer- resolusjon



***Yersinia ruckeri* MLST Databases**

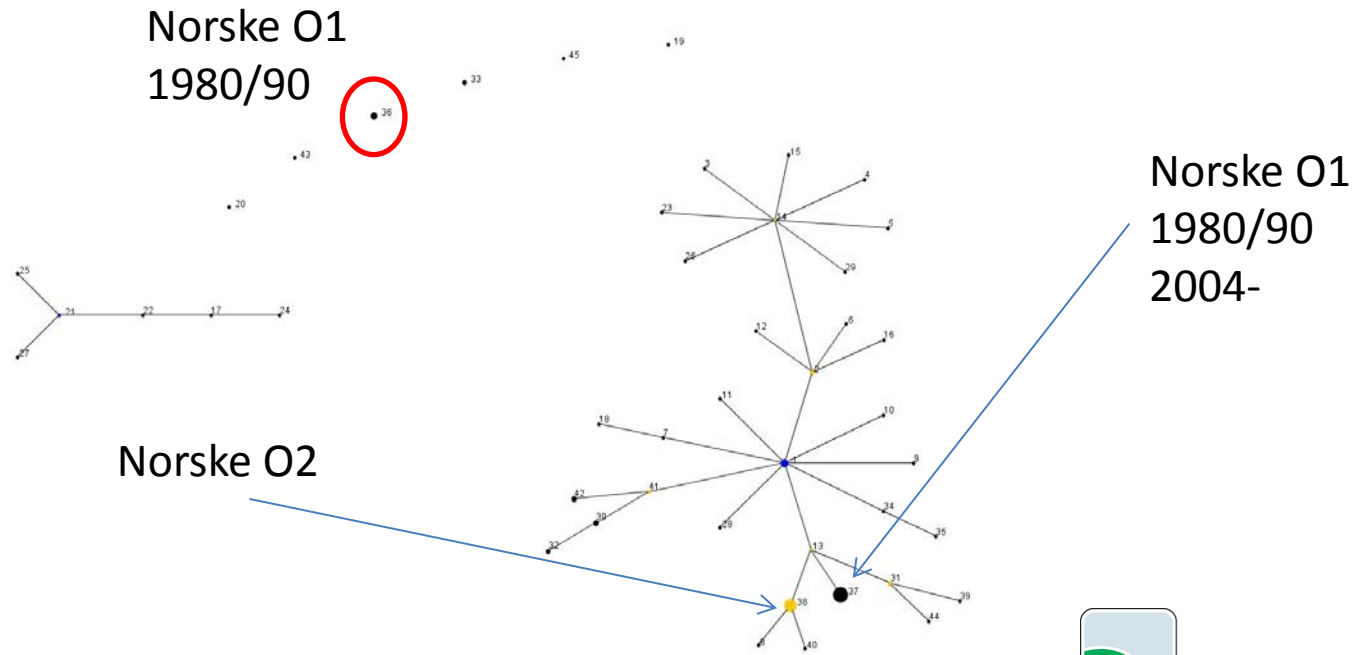
This site uses two linked databases powered by the [BIGSdb genomics platform](#). The sequence definition database contains allele sequence and MLST profile definitions whereas the isolate database contains provenance and epidemiological information. Further details about BIGSdb can be found in [Jolley & Maiden 2010](#), [BMC Bioinformatics 11:595](#).



- Information
 - [Primers used for amplification and sequencing](#)
- Access main databases
 - [Sequence/profile definitions database](#)
 - [Isolates database](#)
- [Policy document](#)
- [Submission of data](#)
- [Submission history](#)
- [BIGSdb software](#)
- [Recent publications using MLST in *Yersinia* research](#)

This MLST scheme was developed by [Asmine Bastardo](#) and [Jesús L. Romalde](#) of the Universidad de Santiago de Compostela, Spain.

Database curated by [Asmine Bastardo](#) and [Jesús L. Romalde](#).



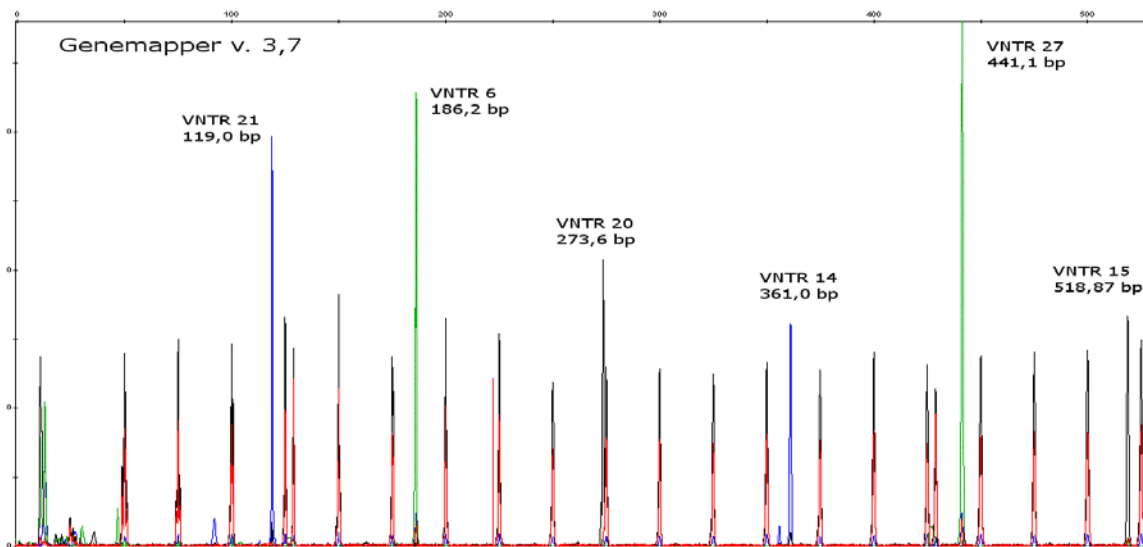
MLVA

(Multi-Locus Variable number of tandem repeat Analysis)

Primer 1 →

```
ctcagctctccttgattggtcgtgccgccaggcgtccacttcccccttgaaacatagccactaacgactc  
atcattgagtgcgcagagcatagagggtatccccctcattcccaacgccttttacgactgcgctctgcc  
tcctctggcgacccgttatcccgttatcccgttatcccgttatcccgttatcccgttatccacataatgcg  
tccaatgtgagcgcgccctgctcgaccggttttccctctggatttgggcaagtgtcttctgcgcttcaaatgg  
tgactccctctttttgtttgatggcatatatatgatttttacctc
```

← Primer 2



Foreløpig konklusjoner

MLVA/smittesporing

- Indikasjoner på at én klonal gruppe er ansvarlig for de fleste utbrudd i senere år....
- Videre bearbeide data for endelig seleksjon av MLVA loki for bruk i rutineanalyser...
- Validere MLVA 'fylogeni' med ytterligere helgenomsekvensering av utvalgt stammer.....

Y. ruckeri og biofilm

- Grunnleggende studier relatert til bekjempelse av *Y. ruckeri*
 - Karakterisere vekst/oppførsel under forskjellige forhold
 - Identifisere 'triggere' til biofilmformasjon
 - Teste effekt av forskjellige bekjempelsestiltak
- Mastersprosjekt ved UiB/Veterinærinstituttet



Medier testet og resultater

Kunstig sjøvann

Sjøvann (ILAB)

Sjøvann (Oslofjorden)

Saltvann (5% NaCl)

Ferskvann (ILAB)

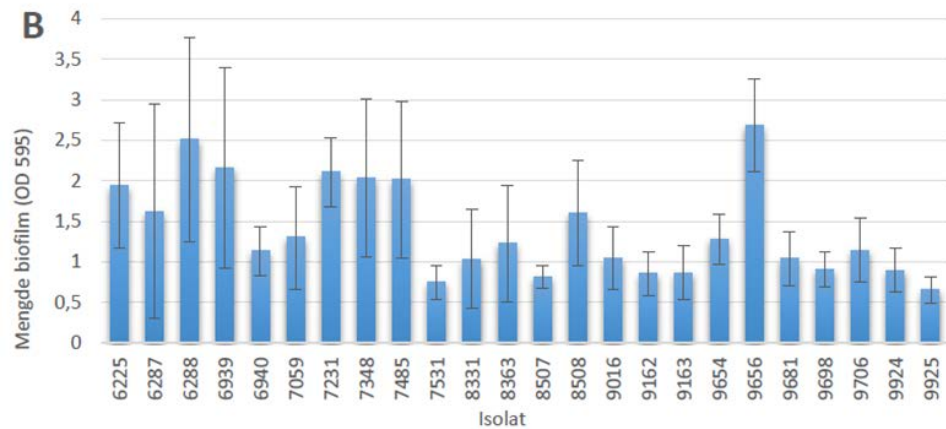
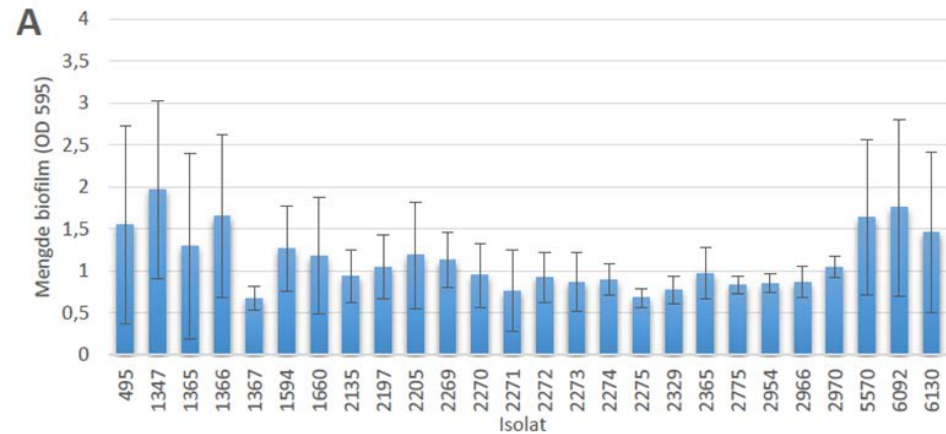
Milli-Q vann

TSB-medie

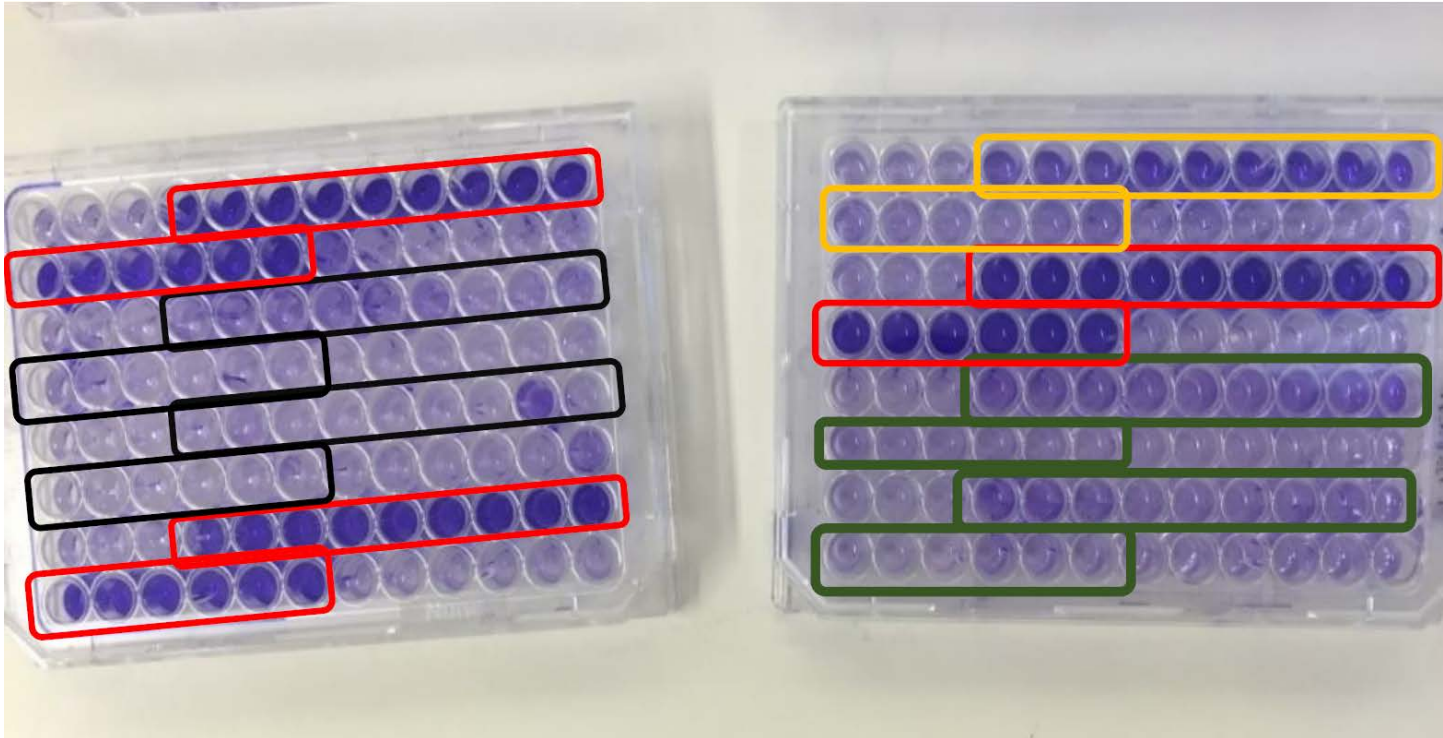
TSB m/1% NaCl og 1%
glukose

LB-medie

LB-medie m/0,5% NaCl



Viktig biofilm trigger- sjøvann/salt



Karlsen 2016



Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Konklusjoner biofilm

- 'Alle' norske isolater har evne til å danne biofilm
- Bevegelighet minker med økt saltkonsentrasjon
- Biofilmdannelse trigges av og øker med økning i saltkonsentrasjon
- Bevegelighet minker ved lav og høy temperatur
- Biofilmdannelse økes ved økt temperatur

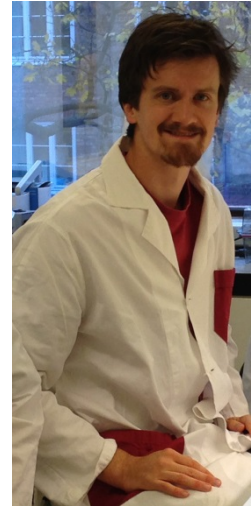
- Lav bevegelighet = biofilm dannelse

Konklusjoner så langt.....

- Serotype spesifikk PCR utviklet
- Sensitivt smittesporingsystem utviklet
 - Diverse kloner tilstede i Norge i 1980-90 tallene....
 - 1 klonal gruppe dominerer siden 2004.....
 - Hvorfor?
- Grunnlag på plass for uttesting av forskjellige saneringstiltak på *Y. ruckeri* i biofilm

Spesielt takk til:

- Snorre Gulla, VI Oslo



- Endre Karlsen, Masters student UiB/VI

