

Vibriose in aquacultuur:

Een internationale workshop van de European Association of Fish Pathologists (EAFP)

Olga Haenen, hoofd Vis-, schaal- en schelpdierziektelaboratorium,
Central Veterinary Institute, onderdeel van Wageningen UR (CVI)

Vibriose is een groep van ziekten die door enkele soorten van het bacteriegenus *Vibrio* worden veroorzaakt bij o.a. aquacultuurdieren. Tijdens de European Association of Fish Pathologists (EAFP) conferentie in Tampere, Finland, september 2014 werd een workshop “vibriosis in aquaculture” gehouden, waaraan 65 experts uit tal van Europese en andere landen meededen. De status van vibriose in aquacultuur, risico's, diagnostiek, therapie en preventie, inclusief vaccins werden besproken. Op basis daarvan is onlangs een artikel verschenen in het EAFP Bulletin (Haenen, Fouz, Amaro, Isern, Mikkelsen, Zrnčić, Travers, Renault, Wardle, Hellström, en Dalsgaard, 2014a). Onderstaand een samenvatting daarvan.

Aquacultuur in brak- en zoutwater groeit op wereldschaal (FAO, 2014), inclusief nieuwe gekweekte diersoorten. In deze vorm van kweek komen diverse *Vibrio* infecties voor, die grote problemen kunnen veroorzaken in vissen, schaal- en schelpdieren, met name door bepaalde stammen van *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida*, *V. ordalii* en *V. vulnificus* (Austin & Austin, 2007).

Vibrio species zijn Gramnegatieve bacteriën. Ze komen algemeen voor in brakke en zoute aquatische ecosystemen, zijn warmteafhankelijk en kunnen overleven in zeewater. Sommige *Vibrio* soorten zijn potentieel zoönotisch, dat wil zeggen, ze kunnen niet alleen het dier, maar ook de mens ziek maken: Via contact met bepaalde *Vibrio* species besmette aquacultuurdieren kan ziekte ontstaan bij met name de aquacultuur beroepsgroep, en via het consumeren van met bepaalde *Vibrio* species besmette visproducten, bijvoorbeeld oesters in warme

gebieden, kunnen consumenten ziek worden (Amaro & Biosca, 1996; Austin, 2010).

Vibriose in Spanje

In Spanje worden zeebrasem (*Sparus aurata*), zeebaars (*Dicentrarchus labrax*), en ombervis (*Argyrosomus regius*) offshore in kooicultures gekweekt. *Vibrio anguillarum* serotype O1 veroorzaakt daar sinds 2005 ziekte in voornamelijk zeebaars en sinds jaren daarna ook in ombervis bij watertemperaturen van 13°C tot 24°C. De hierbij optredende maandelijkse vissterfte varieerde tussen 1% in grote vis (1 kg) tot 30% in medium grote vis (150 g), indien niet met antibiotica werd behandeld. Vibriose komt in Spanje ook voor in hatcheries en afmestsystemen. Een vroege detectie van *Vibrio* species en snelle toepassing van antibiotica via het voer zijn cruciaal. Vaccinatie blijkt er het beste te werken: zowel qua verlagen van vissterfte als qua



Vibrio anguillarum infectie in zeebaars in Kroatië: huidzweren (foto met dank, S. Zrnčić©).

uiteindelijk kosten.

Vibriose in Kroatië

Op dit moment zijn er aan de kust van Kroatië ongeveer 50 zeebaars bedrijven van variabele grootte (Katavić, 1994). *Vibrio anguillarum* serotype O1 is ook in dit land een van de meest schadelijke bacteriën voor de zeebaarsbedrijven, met vissterfte van 20%-50% in de afmestfase. Acute vibriose treedt met name op bij een snelle stijging van de zeewatertemperatuur van 17 naar 19°C in het voorjaar. De laatste paar jaar komt Vibriose echter ook voor in de zomer, terwijl in de winter, chronische Vibriose en menginfecties van *V. anguillarum* en *Tenacibaculum maritimum* optreden. Men behandelt met antibiotica in het visvoer, maar antibioticumresistentie treedt hierbij op. Daarom wordt meer en meer preventie toegepast, o.a. door aspecifieke immunisatie en door vaccinatie.

***Vibrio vulnificus* in paling, in Spanje en Nederland**

Vibrio vulnificus (Vv) kan schadelijk zijn voor zowel vis als de mens, en ook voor

garnalen (Farmer, 1979; Tison et al., 1982). Er zijn 3 biotypes (Oliver, 2006) en meer dan 9 serovars (Ser). Biotype 2 (Vv BT2), komt over de hele wereld voor en is het enige biotype dat gerelateerd is aan visziekte (van voornamelijk paling) (Fouz et al., 2010). Deze bacteriegroep wordt regelmatig geïsoleerd uit vis in gematigde en tropische regio's. Vv BT 2 komt oorspronkelijk uit Azië, is sinds 1989 in Spanje, en heeft zich sinds de negentiger jaren naar andere Europese landen verspreid. De bacterie veroorzaakt voornamelijk Vibriose in warmwatervis, vooral bij paling (*Anguilla anguilla*), tilapia (*Oreochromis niloticus*), gaffelmakreel (*Trachinotus ovatus*) en zeebaars (*Dicentrarchus labrax*).

Binnen Vv BT2 werd Vv serovar (Ser) E voor het eerst geïsoleerd uit paling (Tison et al., 1982), en dit serovar kan de mens ook ziek maken (septicemie) (Amaro & Biosca, 1996). Sinds 2004 zijn verder Vv Ser A & I bekend, die zich over Europa hebben verspreid (Fouz et al. 2010).

Bij uitbraken van Vv bij paling in warmwater systemen komen minimaal 2 verschijningsvormen voor: in brakwater veroorzaakt

serovar E huidzweren, en in zoetwater veroorzaken serovars A of I agressieve kaakontstekingen van de paling (Fouz et al., 2006). In Spanje worden verlaagde zoutgehalten (0.1-0.2 %) in het water toegepast, om Vibriose door Vv te voorkomen.

In Nederland werden in de periode 1996-2009 23 uitbraken van Vv gediagnosticeerd bij 8 palingteelt bedrijven (Haenen et al., 2014b). Een van de palingkwekers werd ziek van zijn met Vv besmette, zieke palingen en ontwikkelde een necrotische fasciitis. De patiënt genas hier gelukkig van (Dijkstra et al., 2009). Het bleek, dat de Vv stammen geïsoleerd uit de patiënt en uit zijn zieke palingen identiek waren en tot de zoönotische groep van Vv BT2 behoorden (Haenen et al., 2014b).

Vibriose in koudwatervis in Noorwegen

Noorwegen heeft een grote productie van Atlantische zalm, en een kleinere productie van regenboogforel, kabeljauw (*Gadus morhua*), heilbot (*Hippoglossus hippoglossus*) en beekridder (*Salvelinus alpinus*), poetslipvis (*Labroides dimidiatus*) en snotlof (*Cyclopterus lumpus*) (Fisheries Do, 2013). Vibriose in Noorse viskweek wordt met name door *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii*, *Aliivibrio* (*Vibrio*) *salmonicida*, *V. splendidus*, *V. logei* en *V. tapetis* veroorzaakt (Johansen, 2013). Vibriose uitbraken in kabeljauw kweek worden door o.a. een hoge watertemperatuur (>14 °C), het hanteren van vis en vaccineren getriggerd.

In 2012 kwamen er in Noord-Noorwegen na een flink aantal jaren opeens weer nieuwe uitbraken van “coldwater vibriosis” door *Aliivibrio salmonicida* voor in zalm. De ziekte had men in de tussentijd onder controle gekregen door een vaccinatie regime sinds 1987. Men vermoedt, dat dit heroptreden van de ziekte komt door verhoogde infectiedruk of ineffectieve vaccinaties (*Colquhoun et al.*, 2013). De nieuwe bacterie isolaten leken genetisch en qua effecten sterk op

de oude isolaten, zoals aangetoond met typering en vaccinstudies. *Aliivibrio salmonicida* is overigens ook gevonden in zieke kabeljauwlarven (Mikkelsen et al., 2011).

Vibriose in marine schelpdieren

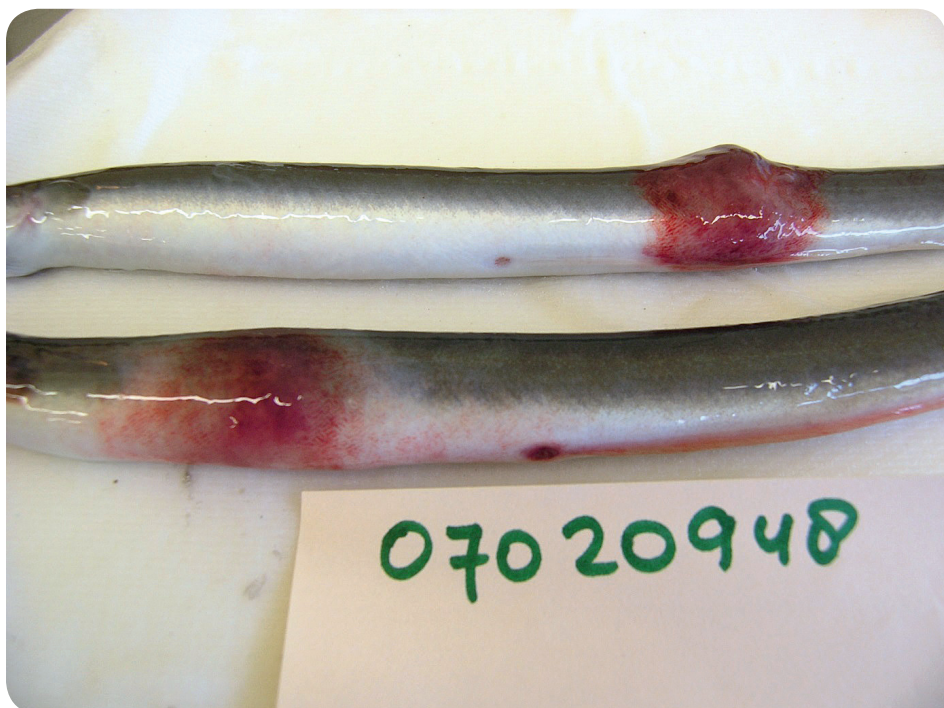
In de schelpdiersector van Europa komen allerlei ziekten voor met hoge sterfte. Diverse *Vibrio* soorten worden in schelpdieren aangetroffen, en sommige daarvan kunnen schelpdieren ook ziek maken. Het workshop artikel (Haenen et al., 2014a) bevat een tabel, die een overzicht geeft van de schelpdier-soorten en de daarbij aangetoonde ziekmakende *Vibrio* soorten. Enkele voorbeelden: *Vibrio aestuarianus*, *V. splendidus* en *V. harveyi* worden in verband gebracht met massale sterfte in Japanse oesters (*Crassostrea gigas*) die in getijdewateren wordt gekweekt (Gay et al., 2004; Garnier et al., 2008). Veel van de stammen van *V. splendidus*- en de *V. harveyi*-groepen zijn echter ook aanwezig in gezonde oesters. De *Vibrio splendidus*-soort blijkt een genetische zeer variabele groep van bacteriestammen te zijn (Le Roux et al., 2002).

Diagnostische methoden

In de workshop werden de oude en nieuwste methoden voor het isoleren en identificeren van *Vibrio* soorten besproken. Het gaat te ver, hier in deze samenvatting op in te gaan. Ik verwijs voor details naar het artikel (Haenen et al., 2014a).

Therapie

In Spanje bleken antibioticum gevoeligheden van *Vibrio anguillarum* in zeebrasem en zeebaars stabiel binnen uitbraken, en tussen seizoenen. *Flumequine*, *oxytetracycline*, *sulfonamide* (+*trimethoprim*) en *florfenicol* werden afhankelijk van een antibiogram effectief toegepast, via het voer. In de winter waren daarbij hogere doseringen per kilo voer nodig, omdat de vissen minder eten in de winter.



Paling van een Nederlandse viskwekerij met ernstige vibriose door een zoönotische stam van *Vibrio vulnificus* Biotype (BT) 2. CVI©.

In Kroatië is het aantal antibioticum resistente stammen van *V. anguillarum* de laatste tijd toegenomen. Daarom loopt daar nu een screenings programma ten aanzien van antibioticumresistentie op zeewater visteelt bedrijven ten aanzien van de genoemde antibiotica.

In Denemarken trad bij *V. anguillarum* isolaten uit zieke vis tot nu toe nog geen resistentie op tegen *sulphonamide + trimethoprim*, noch tegen oxolinezuur.

Preventie

In Spanje is vaccinatie van zeebaars tegen *V. anguillarum* serotype O1 effectief. Dit is een bad vaccinatie in de hatchery, gevolgd door een hervaccinatie door middel van een

bad of per injectie, hetgeen 99% relatieve overleving gaf in infectieproeven (Fouz et al., 2001). Een oraal vaccin (in het voer), Aquavac Vibrio Oral® for Vibriose is in de EU geregistreerd voor gebruik voor forel, en wordt in Kroatië onder de zgn. cascade-regeling ook voor zeebaars toegepast, met variabele resultaten. In Spanje is gebruik ervan niet toegestaan. In praktijk worden bijna alle zeebaars fingerlings ingespoten met vaccins van MSD, Novartis, Pharmaq, Hipra of Fatro, voor ze naar de afmestunits gaan. Hierdoor worden nauwelijks antibiotica gebruikt. Injectie van vaccins lukt niet offshore, en moet dus in de fase daarvoor gebeuren. Vibriose kan zich zeer snel verspreiden tussen offshore kooien. Daarom

is goede communicatie tussen vistelers daar extra belangrijk, om tijdig de juiste maatregelen te kunnen nemen, speciaal als het om niet gevaccineerde vis gaat.

Palingen worden in Spanje sinds 2000 via een bad langdurig blootgesteld aan drie doses van een vaccin tegen *V. vulnificus* Biotype 2 (Vv Bt 2), met meer dan 90% overleving van de palingen (Fouz et al., 2001; Esteve-Gassent et al., 2003).

In Denemarken veroorzaakt *V. anguillarum* ziekte in regenboogforel, als vissen niet worden gevaccineerd. Een triple vaccin (met 2 serotypes van *V. anguillarum* en *Aeromonas salmonicida*) dat wordt ingespoten lijkt effectief tegen vibriose.

In Noorse kabeljauw teelt ziet men, sinds het toevoegen van *V. anguillarum* O2a-bio-type II in het vibriose vaccin een hoge bescherming tegen de drie sero-subgroepen van *V. anguillarum* (Mikkelsen et al. 2007, 2011). Multicomponent vaccins worden gebruik voor zalm en kabeljauw, en dit deed het gebruik van antibiotica in met name de zalmsector sterk verminderen. Toch is vibriose in kabeljauwteelt nog steeds een groot probleem, omdat een commercieel vibriose vaccin voor kabeljauw nog mist. Goede hygiëne en optimale voederregimes worden toegepast ter preventie van vibriose in deze sector.

In schelpdierkweek in Frankrijk wordt tijdens schelpdiersterfte een vervoersverbod gehanteerd, verder past men een optimale houderij toe en selecteert men genetische oesterlijnen die minder vatbaar zijn voor *Vibrio* species, ter preventie van vibriose.

In de garnalensector van penaeïd garnalen (zoals Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* and Black tiger shrimp *Penaeus monodon*) in ZO-Azië, is het vaccin, AquaVac Vibromax® (MSD Animal Health) geregistreerd voor gebruik. Laboratorium en veldtesten zijn verricht met een micro-encapsuleerd vaccin gedurende 2 tot 4 uren in vers uitgekomen *Artemia* spp. (Wongta-

vachai et al., 2010, Powell et al., 2011). Dit bracht aan het licht, dat 1) AquaVac Vibromax® het eerste geteste product was dat geschikt is voor penaeïd garnalen, waarbij het in garnalen de respons aanzette tegen *V. parahaemolyticus*; 2) Garnaalextracten een natuurlijke antibacteriële activiteit vertonen tegen *V. anguillarum*; 3) Vibromax® de antibacteriële activiteit tegen een aantal ziekmakende bacteriën verhoogde; en 4) AquaVac Vibromax® uiteindelijk aan een hogere garnaalproductie bijdroeg, doordat vibriose werd voorkomen.

Discussie

Bij de workshop discussie kwamen nog enkele zaken aan de orde.

Vibrio anguillarum is makkelijk tot de soort te typeren, maar identificatie tot de soort van een aantal andere *Vibrio* species is moeilijk, doordat er continu nieuwe soorten worden beschreven in de literatuur. Verder werd aangegeven, dat antibioticumresistentie ontwikkeling een gevaar vormt voor de visteler en de consument.

Soms spelen secundaire *Vibrio* soorten een rol in visteelt: In Spanje werden secundaire infecties van zeebaars met *V. harveyi* gezien, in niet gevaccineerde zeebaars fingerlings, die vaak een primaire infectie hadden door *V. anguillarum* of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*.

In Italië veroorzaakte *V. harveyi* ziekte in zeebaars in kooicultures, en vaccinatie is daar het devies (A. Manfrin, pers.comm.). *V. anguillarum* werd in de tachtiger jaren in regenboogforel gevonden, toen vistelers nog verse zeevis voederden aan forel, resulterend in vibriose. Een vibriose vaccin beschermde de forel destijds. Dit vaccin wordt echter niet meer gebruikt, sinds forellen pellets gevoederd krijgen. In zeebaars blijven de vibriose problemen echter, ook al verbetert de situatie door betere houderij en vaccinatie, maar betere vaccins zijn nog steeds nodig.

Ook al zijn er goede vaccins op de markt, het blijft moeilijk, goede nieuwe vaccins tegen *Vibrio* species te produceren, omdat deze bacteriesoorten snel veranderen, en diverse *Vibrio* soorten een rol in ziekte van aquacultuurdieren kunnen spelen.

Conclusie

De deelnemers aan de workshop onderstreepten de behoefte aan de ontwikkeling en beschikbaarheid van effectieve vaccins tegen vibriose, veroorzaakt door allerlei *Vibrio* soorten, zodat het gebruik van antibiotica verder omlaag kan in bepaalde vis-teeltsectoren. Verder moet op viskwekerijen het niveau van biosecurity omhoog. In de schelpdiersector dienen vibriose resistente genetische schelpdierlijnen te worden geselecteerd.

Dankwoord

Met dank aan alle deelnemers van de workshop.

Het volledige artikel over deze workshop is op aanvraag te verkrijgen bij ondergetekende (olga.haenen@wur.nl).

References:

- Amaro C and Biosca EG (1996). *Appl Environ Microbiol* 62, 1454-1457.
- Austin B (2010). *Vet Microbiol* 140, 310-317.
- Austin B and Austin D (2007). Book "Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish", 4th ed. Springer, Chichester, 594 p.
- Colquhoun D et al. (2013). Frisk fisk konferanse. Bergen, Norway.
- Dijkstra A, et al. (2009). *Ned. Tijdschrift voor Geneesk.* 153, 408-411.
- Esteve-Gassent MD et al. (2003). *Fish and Shellfish Immunol* 15, 1, 51-61.
- FAO (2014). State of world aquaculture. <http://www.fao.org/fishery/topic/13540/en>.
- Fisheries Do (2013). <http://www.fiskeridir.no/statistikk/akvakultur/statistiske>.
- Fouz B et al. (2001). *Dis Aquat Org* 45, 3, 183-9.
- Fouz B et al. (2006). *J Fish Dis* 29, 285-91.
- Fouz B et al. (2010). *J Fish Dis* 33, 383-390.
- Garnier M et al (2008). *Syst Appl Microbiol* 31, 358-365.
- Gay M et al. (2004). *Dis Aquat Org* 62, 65-74.
- Haenen, OLM et al. (2014a). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 34, 4: 138-148.
- Haenen OLM et al. (2014b). *Dis Aquat Org* 108, 201-209.
- Johansen R (2013). Fish health report 2012 (Johansen, Ed.). Vet. Inst., Oslo, Norway.
- Katavić I (1994). *Morsko ribarstvo* 1, 46, 15-18.
- Le Roux F et al. (2002). *Aq Living Res* 15, 251-258.
- Mikkelsen H et al. (2011). *Fish Shellfish Immunol*, 30, 330-339.
- Mikkelsen H et al. (2007). *Aquacult* 266, 16-25.
- Oliver JD (2006). In "Biology of Vibrios" (F. L. Thompson et al. Eds.), 349-366. ASM Press, Washington, D.C, USA.
- Powell A (2011). *J Invertebr Pathol* 107, 2, 95-99.
- Tison DL et al. (1982). *Appl Environ Microbiol* 44, 640-646.
- Wongtavatchai J et al. (2010). *Aquacult* 308, 3-4, 75-81.