

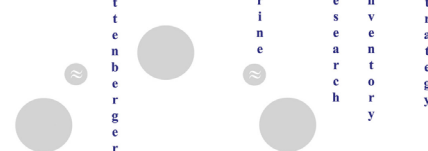
Oesterherpesvirus OsHV-1 μ var in de Waddenzee

In opdracht van de Producentenorganisatie van de Nederlandse Mosselcultuur



A. Gittenberger
M. Engelsma

GiMaRIS



GiMaRIS rapport 2013_04

Datum:
maart 2013

Rapport nr.:
GiMaRIS 2013_04

Titel:
Oesterherpesvirus OsHV-1 μ var in de Waddenzee

Auteurs:
Dr. A. Gittenberger (GiMaRIS)
Dr. M.Y. Engelsma (Centraal Veterinair Instituut, onderdeel van Wageningen UR, Vis- en Schelp-
dierziektenlaboratorium)

Adres / opdrachtnemer:
GiMaRIS, Leiden BioScience Park
J.H. Oortweg 21
2333 CH Leiden
Info@GiMaRIS.com
www.GiMaRIS.com

Opdrachtgever:
Producentenorganisatie van de Nederlandse Mosselcultuur

Projectleider:
dhr. H. van Geesbergen

GiMaRIS is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit de toepassing van de gegevens in dit rapport. De opdrachtgever vrijwaart GiMaRIS voor aanspraken van derden in verband met de gegevens in dit rapport.

Samenvatting

Oosterherpesvirus OsHV-1 μ var werd voor het eerst in Nederland in 2010 in de Zeeuwse Delta ontdekt, en blijkt nu ook in de Waddenzee aanwezig te zijn. Het oosterherpesvirus OsHV-1 μ var is verantwoordelijk geweest voor een sterk verhoogde mortaliteit onder Japanse oesters langs de Franse, Engelse en Ierse kusten sinds 2008. Sindsdien worden de lidstaten vanuit EU verband geadviseerd maatregelen te nemen om de verdere verspreiding van dit virus tegen te gaan. Het virus kan zich onder meer verspreiden door verplaatsingen van schelpdieren, mee te liften met schepen waar oesters op groeien en via besmette oesterlarven die zich met de zeestromingen mee verspreiden. Om te onderzoeken of het oosterherpesvirus OsHV-1 μ var aanwezig is in de Waddenzee, zijn in de zomer van 2012 jonge Japanse oesters verzameld die vervolgens met een DNA-onderzoek zijn gecontroleerd op de aanwezigheid van het virus. Op drie van de vijf onderzochte plekken werden licht tot zwaar besmette oesters aangetroffen, wat aangeeft dat het virus zich in de Waddenzee heeft gevestigd. Het oosterherpesvirus heeft als enige gastheer de Japanse oester. De mens is niet gevoelig voor het virus en vanuit het oogpunt van volksgezondheid vormt het virus dus geen enkel gevaar.

Inleiding

In 2008 werd het oosterherpesvirus, Ostreid herpesvirus-1 μ var (OsHV-1 μ var) voor het eerst in Europa aangetroffen. Dit betreft een specifiek voor jonge Japanse oesters virulente stam van het oosterherpesvirus. Het virus vormt geen enkel risico voor mensen, die deze oesters zouden eten. Sinds 2008 heeft het virus zich in korte tijd verspreid naar nagenoeg alle kweekgebieden van Japanse oesters in Europa. Daarnaast is het virus aangetroffen op één locatie in Aus-

tralië (Renault, 2011; WAHID Interface, 2011). De verspreiding van het virus ging gepaard met een sterk verhoogde mortaliteit onder broed van Japanse oesters en jonge Japanse oesters. Vaak vindt oestersterfte door OsHV-1 μ var plaats in combinatie met nadelige milieufactoren en in een aantal gevallen lijkt ook de aanwezigheid van een bacterie van het geslacht *Vibrio* een rol te hebben gespeeld (EU regulation 175, 2010; Peeler et al., 2012). In Italië werd in Japanse oesters (uit Frankrijk) de virulente variant OsHV-1 μ var aangetroffen zonder verhoogde mortaliteit onder de jonge oesters (Dundon et al. 2011; EFSA Panel on Animal Health and Welfare, 2010). Los van variërende milieufactoren kunnen de verschillen in oestersterfte ten gevolge van het virus mogelijk ook verklaard worden door een opgebouwde resistentie tegen het virus bij bepaalde lijnen van Japanse oesters. Dat dit mogelijk is werd door Dégremont (2011) in Frankrijk aangetoond.

In 2010 en 2011 is het virus ook in Nederland vastgesteld in de Oosterschelde en de Grevelingen, waarbij ook een verhoogde mortaliteit onder het aanwezige oesterbroed werd vastgesteld (Engelsma, 2012a,b). Onduidelijk is hoe lang het virus al in de Oosterschelde aanwezig was voordat het in 2010 werd ontdekt. Hoe het virus is binnengekomen is hierdoor ook onduidelijk. In een aantal gebieden in Europa lijkt het transport van Japanse oesters gerelateerd te zijn aan de uitbraken. Zo kon de abnormale sterfte van Japanse oesters in 2009 in Ierland worden gekoppeld aan importen van Japanse oesters vanuit Frankrijk (EFSA_Panel, 2010). Het transporteren van schelpdieren is echter niet de enige manier waarop het virus zich kan verspreiden. Zo vond de introductie in Australië vermoedelijk plaats via oesters die zich hadden vastgehecht op scheepshuiden van schepen die in besmet gebied waren geweest (WAHID Interface, 2011). Verder is oosterherpesvirus ook in oesterlarven aangetroffen en zou het virus dus ook met de zeestromingen mee kunnen liften in het pelagische larvale stadium van de oesters (Barbosa-Solomieu et al., 2004; Batista et al., 2005). Vanwege dit versprei-

dingspotentieel en het feit dat DNA-analyses nodig zijn voor de bepaling, is het goed mogelijk dat het virus zich binnen Europa en wereldwijd veel uitgebreider heeft verspreid dan tot op heden bekend is.

Zo bestaat er bijvoorbeeld geen standaard monitoring naar het oosterherpesvirus OsHV-1 μ var in de Waddenzee, maar zou de Waddenzee vanuit de Oosterschelde in theorie goed te bereiken moeten zijn voor het virus. Dit kan bijvoorbeeld meeliftend in oesterlarven met de zuid-noord stromingen. Hierbij zijn er tussen de Zeeuwse Delta en de Waddenzee relatief veel plekken die het virus als tussenstations zou kunnen gebruiken om zo de Waddenzee te bereiken. Er zijn immers vele Japanse oesters te vinden op de strandpalen en pieren langs het Noordzeestrand, en in havens zoals Rotterdam, Scheveningen en IJmuiden. In het huidige rapport testen we daarom de hypothese dat het OsHV-1 μ var virus al in de Waddenzee aanwezig is. Het voorkomen van het virus zou voorheen gemist zijn, omdat er nog niet in de Waddenzee naar gezocht was. Om dezelfde reden konden er tijdens twee exoten inventarisaties in 2009 en 2011 ongeveer 20 nieuwe exoten voor de Waddenzee worden ontdekt (Gittenberger *et al.*, 2010, 2012). Ook in dit geval bestond er voorheen geen op exoten gerichte monitoring in de Waddenzee.

In de EU regulation 175 (2010) staat geadviseerd dat het beleid in de lidstaten bij schelpdiertransporten rekening zou moeten houden met de verspreiding van het Japanse oosterherpesvirus OsHV-1 μ var in Europa. In dit kader richten wij ons hier op de vraag of er bij potentiële schelpdiertransporten naar de Waddenzee rekening gehouden dient te worden met het Japanse oosterherpesvirus OsHV-1 μ var, of dat dit niet nodig is, aangezien virus zich al in de Waddenzee gevestigd heeft.

Zoals hierboven aangegeven heeft het oosterherpesvirus als enige gastheer de Japanse oester. Vanuit het oogpunt van volksgezondheid vormt het virus dus geen enkel gevaar voor de mens.

Methode

Verzamelen van oesters

Aangezien het bekend is dat het virus vooral in de zomermaanden te vinden is in relatief jonge oesters en oesterbroed, zijn eind augustus / begin september 2012 op vijf locaties tenminste 30 kleine oesters verzameld van maximaal ~2 cm groot. Aangezien het voorkomen van het virus mogelijk gerelateerd zou kunnen zijn aan omgevingsfactoren zoals bijvoorbeeld zoutgehalte, temperatuur en hoeveelheid nutriënten, werden vijf locaties uitgekozen die naar inschatting op deze punten sterk van elkaar verschilden (Fig. 1 & Tabel 1). Hierbij werden op elke locatie overzicht foto's genomen om het algemene habitat weer te geven (Bijlage). De monsternames en foto's zijn genomen door Jaap Vegter (Advies voor Landschap-, Water- en Kustbeheer), waarvoor onze dank.

Moleculair virologisch onderzoek

Van de vijf locaties zijn 30 oesters per locatie individueel getest op de aanwezigheid van OsHV-1 μ var. Aangezien een groot aantal oesters van de partij verzameld bij Termunterzijl slikkers betroffen, konden van deze partij slechts 17 oesters worden getest. Voor het aantonen van OsHV-1 μ var is een real time PCR test uitgevoerd waarmee specifiek het DNA van het OsHV-1 μ var kan worden aangetoond. Hierbij is het ook mogelijk een semi-kwantitatieve waarde te geven ter indicatie van het aantal kopieën van het virus wat zich in een oester bevindt. Waar een zeer laag aantal kopieën van het virus werd aangetroffen is de besmetting in het huidige onderzoek als dubieus vermeld aangezien bij een zeer lage aantallen kopieën niet vast te stellen is of het virus ook daadwerkelijk infectieus was. Hierbij werd alleen met zekerheid geconcludeerd dat het virus zich in een oesterpopulatie gevestigd had, als er bij tenminste 1 oester in de populatie een relatief hoog aantal viruskopieën werd aangetroffen.



Fig 1. Bemonsterde locaties in de Waddenzee. 1, Het Abt; 2, Schiermonnikoog; 3, Vierhuistergat; 4, Eemshaven; 5, Termunterzijl.

Tabel 1. Beschrijving van de bemonsterde locaties (Fig 1).

Locatie	Plaats	Beschrijving	# oesters verzameld
1	Het Abt	Midden op het wad, een zeer gemengde bank: oesters, kokkels en mosselen door elkaar. Ook veel andere schelpen. Losse bultjes, groen wier en met grote natte tussenstukken.	>30
2	Schiermonnikoog	Uitgestrekte gemengde bank of rif met kleien poeltjes en met mossel en oester. Op de ene plek wat meer mosselen, op de andere plek meer oesters. Vrij dicht bij het eiland.	38
3	Vierhuistergat	Strekdam op het Wad, lokaal wat wier en met verspreid liggende oesters en mosselen. Niet veel grote oude oesters, wel mooie leeftijdsopbouw en jonkies.	~35
4	Eemshaven	Stenen dijk of dam aan de binnenzijde / haven. Redelijk begroeid met oesters, van jong tot oud. Ook rifvorming onderaan de steenstorting.	42
5	Termunterzijl	Een strekdam, lokaal bedekt met wier. Relatief veel grote, oude oesterschelpen, maar de meeste schelpen staan open: weinig levende oesters. Jonge en oude oesters zijn dood. Het lijkt erop dat er in relatief korte tijd veel sterfte is geweest. Met enige moeite toch voldoende levende kleintjes gevonden. Die lagen meestal verdekt en beschermt.	~32

Resultaat

Op 3 van de 5 locaties zijn oesters aangetroffen met het OsHV-1 μ var virus (Tabel 2). Op alle drie de locaties werd daarbij tenminste 1 oester aangetroffen met een relatief hoog aantal virus kopieën waardoor met zekerheid geconcludeerd kan worden dat het virus zich in deze populaties gevestigd heeft. Gezien het relatief lage aantal oesters wat per locatie onderzocht is, kan niet worden uitgesloten dat op de twee locaties waar het OsHV-1 μ var virus niet werd aangetroffen, het virus ook daadwerkelijk niet aanwezig was.

Tabel. 2. Resultaten van de analyses. Zwak positieve monsters (Ct > 35) zijn gescoord als dubieus. Locaties: 1, Het Abt; 2, Schiermonnikoog; 3, Vierhuistergat; 4, Eemshaven; 5, Termunterzijl.

Locatie	Totaal aantal getest	Aantal positief	Aantal dubieus
1	30	0	0
2	30	6	3
3	30	2	1
4	30	1	3
5	17	0	0

Conclusie

Aangezien op 3 van de 5 onderzochte locaties zwak tot zwaar besmette oesters zijn aangetroffen kan geconcludeerd worden dat het oosterherpesvirus OsHV-1 μ var zich in de Waddenzee gevestigd heeft. De prevalentie van OsHV-1 μ var is gezien de relatief kleine omvang van de partijen echter niet exact vast te stellen. Zo is meer onderzoek nodig om de exacte prevalentie en verspreiding in de gehele Waddenzee weer te geven. Vanwege het verspreidingspotentieel lijkt de kans groot dat het virus zich al in de gehele Waddenzee gevestigd heeft. Hoe lang het oesterherpesvirus OsHV-1 μ var al in de Waddenzee aanwezig is en op welke wijze de introductie heeft plaats gevonden, blijft onduidelijk aangezien er in de Waddenzee niet eerder naar het virus gezocht is.

Literatuur

- Barbosa-Solomieu, V., D'égremont, L., Vazquez-Juarez, R., Ascencio-Valle, F., Boudry, P. & T. Renault, 2005.** Ostreid Herpesvirus 1 (OsHV-1) detection among three successive generations of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Virus Research* 107: 47–56.
- Batista, F.M., Taris, N., Boudry, P. & T. Renault, 2005.** Detection of ostreid herpesvirus-1 (OsHV-1) by PCR using a rapid and simple method of DNA extraction from oyster larvae. *Diseases of aquatic organisms* 64:1-4.
- Dégremont, L. , 2011.** Evidence of herpesvirus (OsHV-1) resistance in juvenile *Crassostrea gigas* selected for high resistance to the summer mortality phenomenon. *Aquaculture* 317: 94-98.

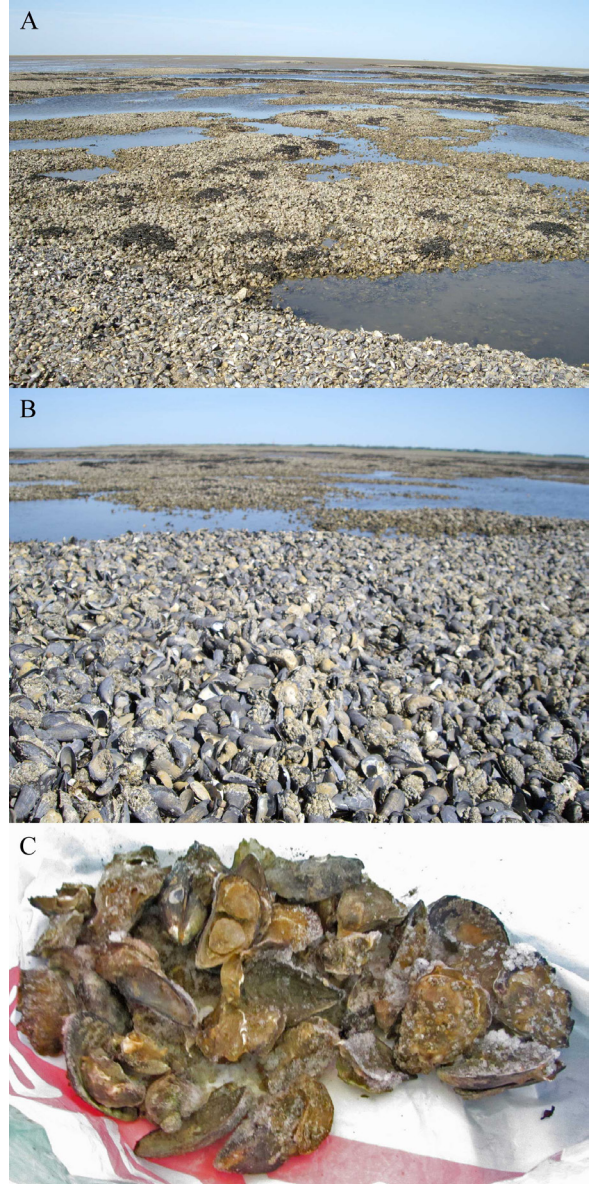
- Dundon, W.G., Arzul, I., Omnes, E., Robert, M., Magnabosco, C., Zambon, M., Genari, L., Toffan, A., Terregino, C., Capua, I. & G. Arcangeli, 2011.** Detection of Type 1 Ostreid Herpes variant (OsHV-1 μ var) with no associated mortality in French-origin Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* farmed in Italy. *Aquaculture* 314:49-52.
- Engelsma, Y.M., 2012a.** Beantwoording kennisvragen over ziekten en parasieten in het kader van de notitie “kwaliteitsborging structurele regeling mosseltransporten van Oosterschelde naar Waddenzee”. Central Veterinary Institute. Wageningen UR. Kenmerk 12/cgi0274: 7 pp.
- Engelsma, Y.M., 2012b.** Verslag monitoring oester herpesvirus 2011; Resultaten van onderzoek naar de aanwezigheid van oester herpesvirus in Japanse oesters van het Grevelingenmeer en de Oosterschelde. In: CVI-rapport. vol. 12/CVI0098. Lelystad: Centraal Veterinair Instituut: 16.
- EFSA Panel on Animal Health and welfare, 2010.** Scientific opinion on the increased mortality events in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *EFSA J.* 8, 1–60 1894.
- EU regulation 175, 2010, .** Implementing Council Directive 2006/88/EC as regards measures to control increased mortality in oysters of the species *Crassostrea gigas* in connection with the detection of Ostreid Herpes virus 1 μ var (OsHV-1 μ var)http://ec.europa.eu/food/animal/liveanimals/aquaculture/oyster_mortalities_en.htm.
- Gittenberger, A., Rensing, M., Stegenga, H. & B.W. Hoeksema, 2010.** Native and non-native species of hard substrata in the Dutch Wadden Sea. *Nederlandse Faunistische Mededelingen* 33: 21-75.
- Gittenberger, A., Rensing, M., Schrieken, N. & H. Stegenga, 2012.** Waddenzee inventarisatie van aan hard substraat gerelateerde organismen met de focus op exoten, zomer 2011. GiMaRIS rapport 2012.01: 61 pp. i.o.v. de Producentenorganisatie van de Nederlandse Mosselcultuur.
- Peeler, E.J., Reese, R.A., Cheslett, D.L., Geoghegan, F., Power, A. & M.A. Thrush, 2012.** Investigation of mortality in Pacific oysters associated with Ostreid herpesvirus-1 μ Var in the Republic of Ireland in 2009. *Preventive Veterinary Medicine* 105: 136–143.
- Renault, T., 2011.** Viruses infecting marine molluscs, *Studies in Viral Ecology: Animal Host Systems: Volume 2*, First edition. Wiley-Blackwell Hoboken, NJ, pp. 153–172.
- WAHID Interface, 2011.** Oyster Herpesvirus OsHV-u1, Australia 07/01/2011, OIE World Animal Health Information Database. OIE.

Bijlage

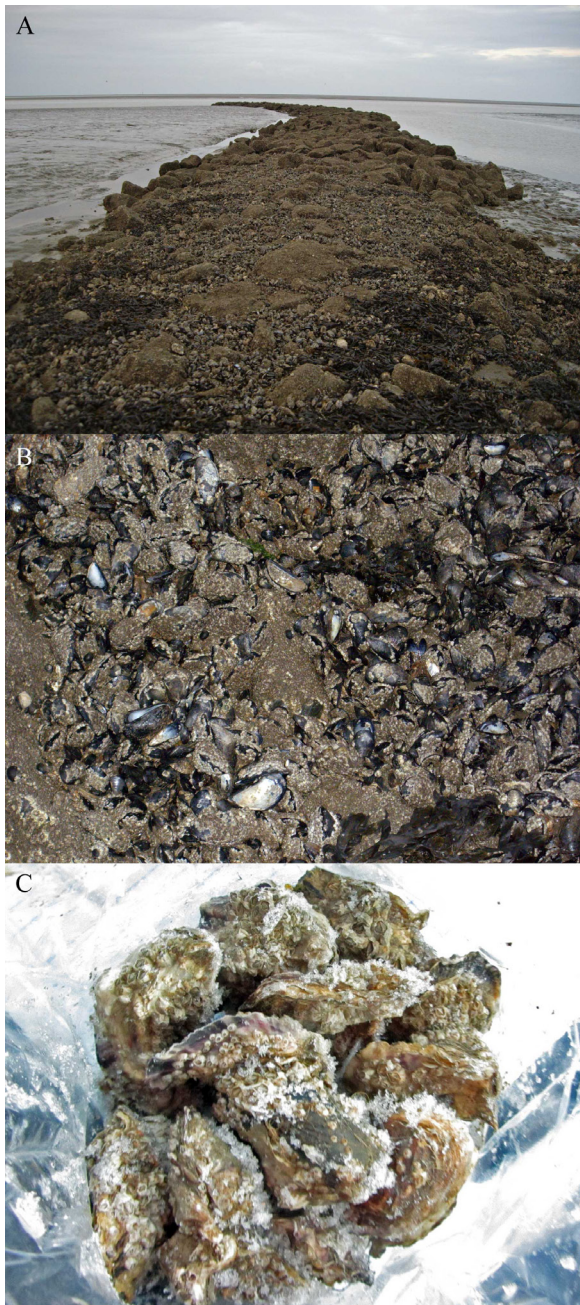
Locatie 1, Het Abt; A. Overzicht locatie; B. Detail locatie; C. genomen monster (bevroren)



Locatie 2, Schiermonnikoog; A. Overzicht locatie; B. Detail locatie; C. genomen monster (bevroren)



Locatie 3, Vierhuistergat; A. Overzicht locatie; B. Detail locatie; C. genomen monster (bevroren)



Locatie 4, Eemshaven; A. Overzicht locatie; B. Detail locatie; C. genomen monster (bevroren)



Locatie 5, Termunterzijl; A. Overzicht locatie; B. Detail locatie; C. genomen monster (bevroren)

