

UIT DE ZIEKENBOEG

Diagnostiek van de exotische waterschimmelziekte EUS

Resultaten van een Club 5 project.

door Olga Haenen en Ineke Roozenburg-Hengst, Centraal Veterinar Instituut

In de EU richtlijn 2006/88/EG staat op de lijst van exotische visziekten de ziekte EUS. Tot nu toe waren slechts weinig laboratoria in Europa in staat deze ziekte aan te tonen. Lees mee over een recent project dat daar verandering in heeft gebracht.

EUS: aangifteplichtig

De siervisziekte Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) wordt veroorzaakt door een waterschimmel, de oömyceet *Aphanomyces invadans* (*A. piscicida*). Deze voor de EU en OIE aangifteplichtige ziekte verspreidt zich snel over de wereld, en is inmiddels aangetoond in meer dan 60 vissoorten van allerlei visfamilies in Azië, Australië (zie foto's 2 en 3), Noord-Amerika en 2009-2010 in massale vissterften in de Zambezi rivier in Afrika, en maart 2011 in brown bullhead in Lake Ontario, Canada. In Europa is deze visziekte nog

niet aangetoond, maar er is ook nog niet op gescreend. De ziekte komt o.a. bij allerlei siervissoorten voor in ZO-Azië. Men vreest dan ook, dat EUS via de importen van siervis Europa zal bereiken.

Er is geen therapie tegen EUS en er bestaat ook geen vaccin. Volgens de richtlijn 2006/88/EG moeten alle nationale referentielaboratoria van Europa hun diagnostiek voor EUS op orde hebben, of deze uitbesteden aan een zusterlaboratorium binnen de EU. Ook al waren er al diagnostische methoden beschreven, slechts weinig laboratoria hadden er al mee gewerkt en



Foto 1. De projectgroep van Club 5 EUS (Foto CVI ©)

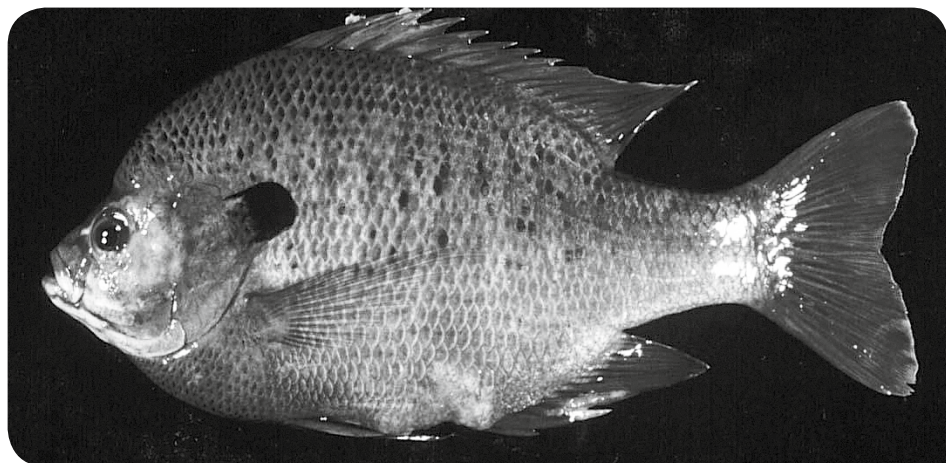


Foto 2. EUS in bluegill (Foto met permissie van J.Hawke en A.Camus CVI ©)

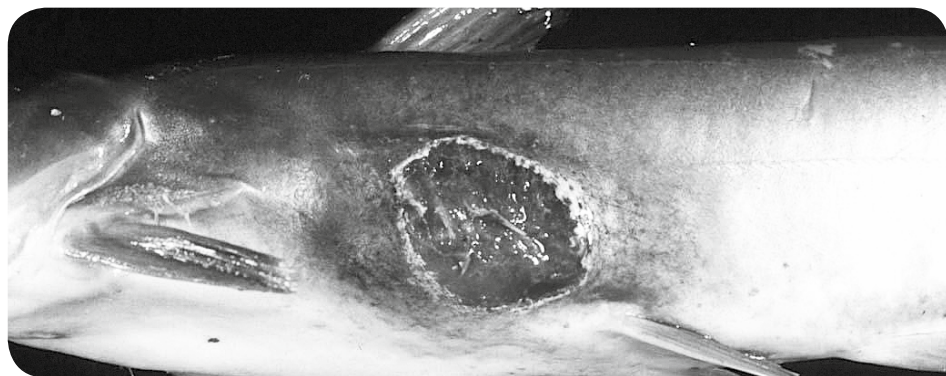


Foto 3. EUS in channel catfish (Foto met permissie van J.Hawke en A.Camus CVI ©)

de testen waren nog niet gevalideerd. Het was tijd voor een projectaanvraag.

Het EUS Club 5 project

Eind 2009 was er een onderzoekscall vanuit Club 5, een veterinaire samenwerking tussen laboratoria uit vijf Europese landen. Olga Haenen schreef samen met collega's van SVA (Uppsala), EU-Reference Lab for Fish Diseases (Aarhus) en CEFAS (Weymouth) een projectvoorstel voor anderhalf jaar, dat werd goedgekeurd.

Doel van dit project was:

- De beschreven EUS testen uit te proberen op de laboratoria en de meest

geschikte methoden uit te zoeken en toe te passen.

- Testen te verbeteren en te valideren.
- Operating Procedures (OPs) voor de testen te schrijven.
- De histopathologie van EUS te beschrijven met een elektronische dia collectie.
- Onderzoek te doen naar opslag, kweek en desinfectie van de waterschimmel *A. invadans*.

Resultaten

Met 2 referentiestammen van *Aphanomyces invadans*, die beschikbaar werden

gesteld door Prof. Kanchanakhan (OIE Referentie laboratorium in Bangkok) en Prof. Hatai, Japan, werd het projectonderzoek verricht op de 4 laboratoria. Werken met oömyceten verschilt nogal van werken in de reguliere bacteriologie of virologie. Daarom werd eerst een EUS workshop gehouden bij CEFAS, inclusief histopathologie.

Daarna werden de stammen doorgekweekt, en werd de sporulatie van de kweek gestimuleerd (zie foto 5). Schimmeldraden (hyphae) van *A. invadans* hebben geen septa, en de vorm van de sporangia en de sporen doen tevens mee om de waterschimmel nader te determineren. Een PCR werd ontwikkeld en werd vervolgens gebruikt voor de typering.

Diverse alternatieve media werden getest om *A. invadans* op te laten groeien. Tevens werd de desinfectie van de waterschimmel bepaald in groeiproeven in erlemeijers, zie foto 4. Het bleek hierbij, dat ethanol geen geschikt desinfectans is voor EUS, maar chloorverbindingen zoals VirkonS® en Halamid® in de juiste concentraties wel.

Resultaten van het project

Er werden Operating Procedures (OP's) geschreven voor:

1. Selectie van vis voor monsternamen
2. Bemonsteren van zieke vis voor

3. Isolatie van *A. invadans*
3. Bemonsteren van zieke vis voor PCR en histopathologie
4. Doorkweek van *A. invadans* stammen
5. Sporulatie van *A. invadans*
6. PCR's voor EUS
7. Histopathologie van EUS, met een elektronische dia collectie
8. Aanbevelingen voor opslag en desinfectie van *A. invadans*.

Dit resultaat zal worden gebruikt door de Nationale Referentielaboratoria Visziekten van de EU, en worden daarvoor over een tijdje beschikbaar via de EURL for Fish Diseases website (www.eurl-fish.eu). CVI van Wageningen UR in Lelystad heeft mede door dit project de diagnostiek van EUS op orde. Met dank aan Club 5 voor de subsidie voor dit project.

Literatuur

- Oidtmann B, Steinbauer P, Geiger S, Hoffmann RW, 2008. Experimental infection and detection of *Aphanomyces invadans* in European catfish, rainbow trout and European eel. *Dis.Aquat.Org.* 82: 195-207.
- OIE Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, 2010 online. Chapter 2.3.2 Epizootic Ulcerative Syndrome. OIE, Paris (www.oie.int).

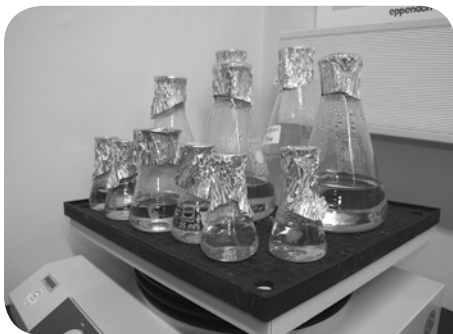


Foto 4. Kweek van *Aphanomyces invadans* in vloeibaar medium (Foto CVI ©)



Foto 5. *Aphanomyces invadans* in water vóór sporulatie (Foto CVI ©)