

Impfung bei Forellen- status quo und Bedeutung der Diagnostik, Überblick Seuchengeschehen

Dr. Elisabeth Nardy

Fachforum Forellenzucht, Geisingen 11.11.2019



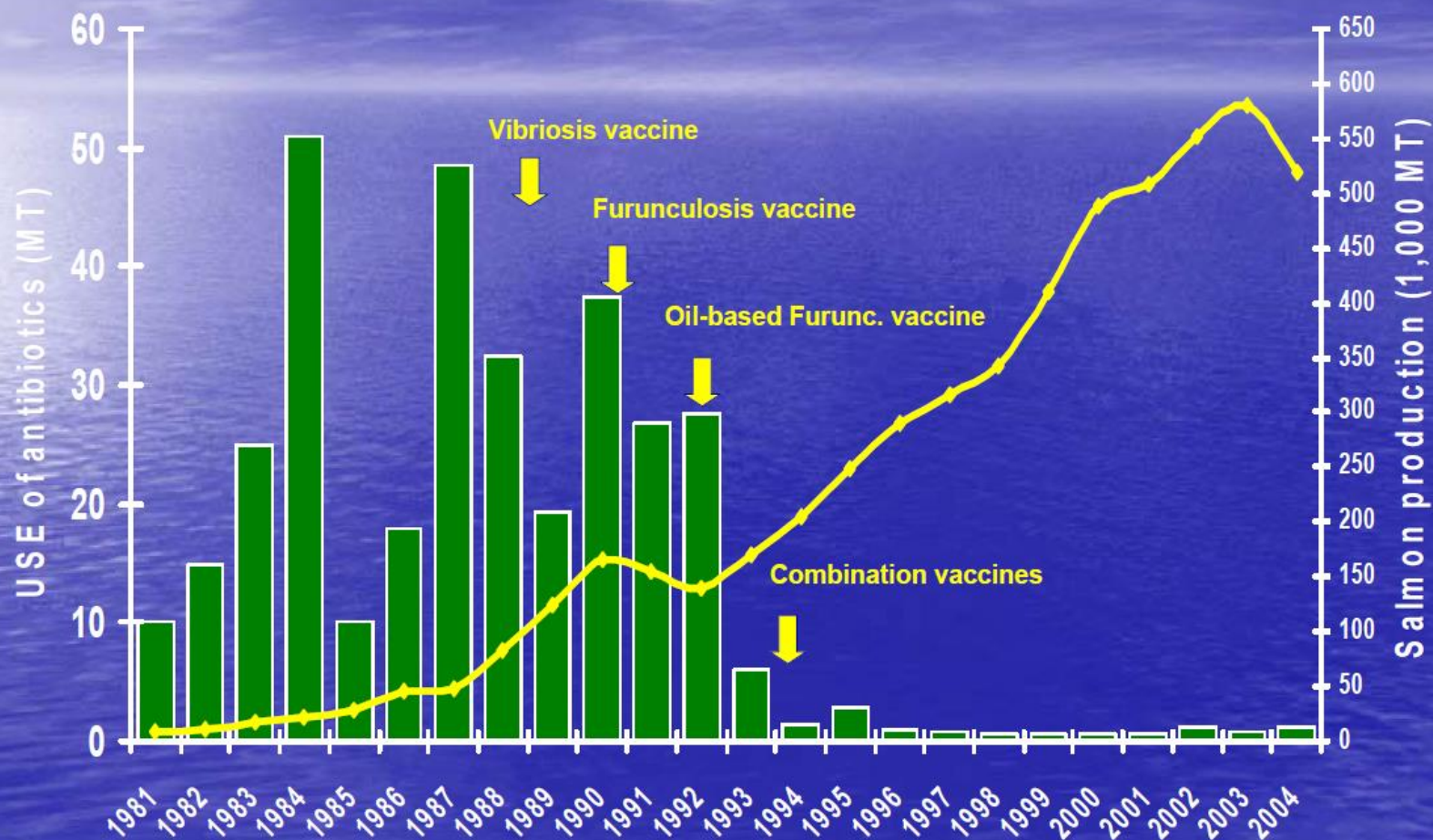
Baden-Württemberg

Impfung warum?

- Eindämmung bedeutsamer Krankheiten
- Wachstum in der Aquakultur global wurde verbessert
- Vermindert den Bedarf an Antibiotika und Chemikalien: bessere Akzeptanz bei Verbrauchern und Politik (weniger Rückstände und Umweltbelastung)
- reduziert Resistenzproblematik von Antibiotika

Prophylaxe !

Norwegian Salmon Production, Use of Pure Antibiotics and the Effect of Vaccines



Aus: Fish Vaccination – A brief overview. Dr Marian McLoughlin

Wichtige bakterielle Pathogene in Salmoniden-Aquakultur weltweit

Salmoniden	+ andere Spezies
Vibrio salmonicida	Vibrio anguillarum
Aeromonas salmonicida	Lactococcus/Streptococcus sp.
Yersinia ruckeri	Tenacibaculum marinum
Moritella viscosa	
Renibacterium salmoninarum (USA)	
Psicirickettsia salmonis (USA, Chile)	

Wichtige virale Pathogene in Salmoniden-Aquakultur weltweit

Virale Pathogene

Infektiöse Pankreasnekrose (IPN)

Salmon Pancreas Disease (SPD)

Sleeping Disease (SD)

(ISA)

(IHN) /(VHS)

Impfstoff - Varianten

Lebendimpfstoff

- Attenuierte Lebendvakzine
- Gen-deletierter Impfstoff
- DNA - Vakzine

**geringe Mengen
vermehrungsfähiger
Krankheitserreger, die jedoch so
abgeschwächt wurden, dass sie
die Erkrankung selbst nicht
auslösen**

Totimpfstoff

- Inaktivierte bakterielle oder virale Antigene
- Subunit-Vakzine
- Rekombinante Vakzine

**Kann sich nicht mehr vermehren,
abgetöteter Erreger oder
Bestandteil davon**

Anwendungskaskade

1. Impfstoff in D zugelassen vom PEI
2. Kein in D verfügbarer Impfstoff, oder Impfstoff wirkt nicht:
sog. „bestandsspezifische Vakzine“ darf hergestellt werden
3. Mit Ausnahmegenehmigung des zust. Ministeriums: Bezug eines Impfstoffes der bei der gleichen Tierart in der EU zugelassen ist

Impfstoffe- Zulassung Deutschland

Immunologische Tierarzneimittel für Fische

Die nachfolgende Tabelle enthält die Präparate, die eine gültige Zulassung besitzen. Die Tabelle gibt keine Auskunft darüber, ob die Präparate auf dem Markt verfügbar sind. Für die Angaben wird keine Gewähr übernommen. Rechtlich bindend sind die Angaben des jeweiligen Zulassungsbescheids. Das offizielle Veröffentlichungsorgan des Paul-Ehrlich-Instituts ist der [Bundesanzeiger](#).

Wenn die Europäische Arzneimittelagentur [EMA](#) weitere Informationen anbietet, so finden Sie in der Tabelle einen mit [EPAR](#) bezeichneten Link.

Wenn Gebrauchs- und Fachinformationen oder Öffentliche Beurteilungsberichte in PharmNet, dem Portal für Arzneimittelinformationen des Bundes und der Länder, zur Verfügung stehen, so sind diese in der Tabelle mit dem Begriff PharmNet direkt verlinkt.

Der Bereich Arzneimittel ist auf dem Stand der [PEI-Bekanntmachung Nr. 461](#) im [BAnz AT 09.10.2019 B6](#).

Haftungsausschluss

Bezeichnung ▾	Krankheit / Stoff-Indikationsgruppe ▴ ▾	Zulassungs-inhaber ▴ ▾	Zulassungs-nummer ▴ ▾	Zulassungs-datum ▴ ▾	Tierart ▴ ▾	Weitere Informationen
AquaVac ERM	Rotmaulseuche	Intervet Deutschland GmbH	PEI.V.03270.01.1	05.10.2005	Regenbogenforellen	PharmNet
AquaVac ERM Oral	Rotmaulseuche	Intervet Deutschland GmbH	PEI.V.03343.01.1	30.06.2006	Regenbogenforellen	PharmNet
Aquavac Relera	Rotmaulseuche	Intervet Deutschland GmbH	PEI.V.03634.01.1	24.04.2009	Regenbogenforellen	PharmNet
CLYNAV	Pankreaserkrankung beim Lachs	Elanco GmbH	EU/1/16/197	27.06.2017	Lachs	

Impftechniken

Injektion

- ❖ am wirksamsten, aber Stress für Fische /Handling (Anästhesie notwendig)

Bad / Dip

- ❖ Geht nur bei kleinen Fischen, gut für Massenimpfung, funktioniert nicht bei allen Impfstoffen

Oral

- ❖ Beste Methode für Massenimpfung, Dosierung unsicher, geringe Wirksamkeit

Injektionsimpfung

Intraperitoneal (i.p.) (in die Bauchhöhle) oder
Intramuscular (i.m.) (in den Muskel)

- ☹ Handling verursacht Stress
- ☹ Betäubung der Fische notwendig
- ☹ Gefahr der örtlichen Impfreaktion

Betäubter Fisch (>50g) wird in die Bauchhöhle geimpft
(Impfmenge 0.1ml bis 0.2 ml)
Heute gibt es auch micro-Impfstoffe (0.05 ml).

Automatische Impfspritzen können benutzt werden.
Ein Impfteam mit 4 Personen kann 5000 Lachse pro
Stunde impfen.



Impfversuch Sachsen 2015:
i.p.-Impfung von Rf in
Netzkäfig-Anlage mit
“Alphaject 3000®” aus
Norwegen



Vorteile der Injektionsvakzine

- ☺ **Länger anhaltender Impfschutz** , meist > 1 Jahr
- ☺ Kombination verschiedener Antigene in einer Impfung
- ☺ **Jeder Fisch hat die Vakzine bekommen und zwar in der korrekten Dosis**
- ☺ grundsätzlich anderen Impfstoffen überlegen, kann aber nur größeren Fischen (i.d.R. ab 50g)
- ☺ Kann Hilfstoffe (Adjuvantien) enthalten

Immersionsimpfung - Zwei Anwendungsmethoden: Dip und Bad

“Dip”-Impfung: weit verbreitet
Jungfische für sehr kurze Zeit (30 Sek.) ins
Impfbad getaucht
Impflösung ist stark konzentriert (1 Teil Impfstoff
zu 9 Teilen Wasser)

„Bad“-Impfung:
Etwas größere Fische werden länger ins
Impfbad getaucht (meist 1 Std. bis mehrere
Std.), Impfstoffkonzentration geringer

Immersionsimpfung

Rasche Impfung großer Fischmengen (bis 100 kg Fisch pro l Impfstoff).

- ☺ weit verbreitet für Impfung von Brut von 1-5 g.
- ☺ relativ guter Impfschutz

Grenzen:

- ☹ Dauer des Impfschutzes nicht sehr lang, Booster-Impfung empfohlen
- ☹ für größere Fische nicht praktikabel wegen höherer Kosten und Stress durch Impfung.
- ☹ bei Fischen unter 1g ist das Immunsystem unreif, daher reduzierte Wirksamkeit

Orale Impfung (über Futter)

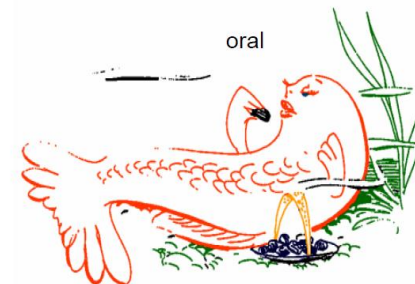
Impfstoff wird mit Futter gemischt (aufgemischt oder bio-eingekapselt, Haltbarkeit fraglich)

☺ Am geeignetsten für große Fischmengen

☺ Stressfrei, einfach zu verabreichen

☹ Problem der sicheren Dosierung

☹ Häufig nur geringe Wirkung



Nur sehr wenig auf dem Markt, und ausschließlich als Booster

Grundsätzliche Impfempfehlung

Nur gesunde Fische impfen

Niemals kranke oder gestresste Fische impfen

Ausnüchterung vor der Impfung

Je kleiner die Fischgröße und je höher die Wassertemperatur, um so geringer die Ausnüchterungszeit

„LAG PHASE“

Erregerfreie Umgebung
muss vor der Impfung gewährleistet sein

Impfstrategien

- Impfstoffauswahl
- Zeitpunkt (Temperatur, Erregerfreiheit)
- Größe der Fische

Der Temperatureffekt kann bei der Impfung sinnvoll eingesetzt werden. Durch Temperaturerhöhung wird eine gute Immunantwort mit gutem Memory-Effekt erzielt (besser als bei kalten Temperaturen, häufig bei Salmoniden).

Fische können erfolgreich im Herbst geimpft werden bevor die Temperaturen stark abfallen, damit eine Immunität aufgebaut wird, die über den Winter andauert und im Frühjahr ein Krankheitsausbruch vermieden wird.

Impfung *Aeromonas salmonicida*

Stallspezifische Immersionsvakzine:
Impfschutz ist schwach

Injektionsvakzine (Fa. Pharmaq
Alphaject 3000®)

- besser wirksam,
- kann nur mit Ausnahme-
genehmigung (n.§11, Abs. 6, Nr.
2, TierGesG) importiert und
angewendet werden.



Bild: G. Bräuer

Impfung von Felchen mit Alphaject
3000® (Fr. Schletz berichtete 2015)

Impfung *Flavobacterium psychrophilum*

Immer noch kein kommerzieller
Impfstoff erhältlich

Impfversuche mit Firma Pharmaq
(Flavo MonoDip, Immersionsvakzine)
zeigten gewisse Reduktion der
Erkrankung, aber keinen vollständigen
Verzicht auf Antibiotika

Herstellung stallspezifischer Vakzine
mit Fa. Hipra wurde nicht genehmigt

.... Wir sind weiter dran....



Impfstrategie ERM

Welche Vakzine

- kommerziell
(AquaVac ERM[®],
AquaVac ERM relera[®])
- stallspezifisch?



Impfzeitpunkt?

Impfstoffkonzentration?
(Dip/ Bad)



Baden-Württemberg

Impfstrategie ERM

Temperatur: 10°C

Mind. 5 g, dann 6 Monate
Impfschutz

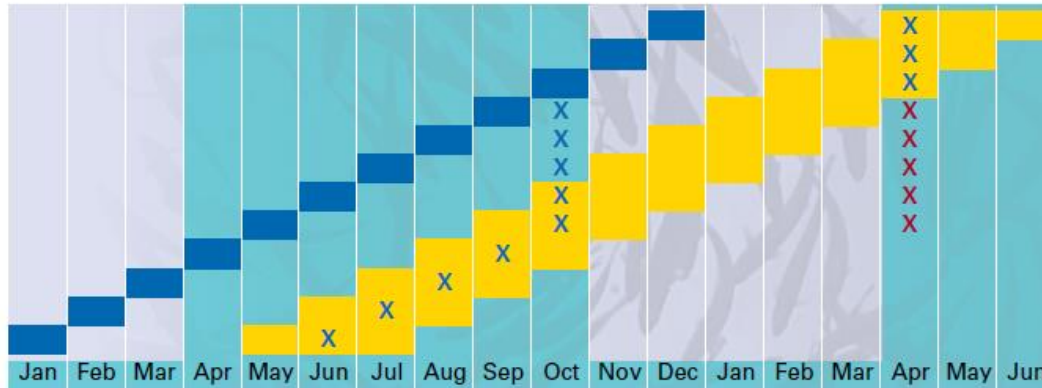
1 l für 100kg Fisch
geringere Konzentration
verringert Immunschutz

Bad-Impfung verringert
ebenfalls den
Immunschutz

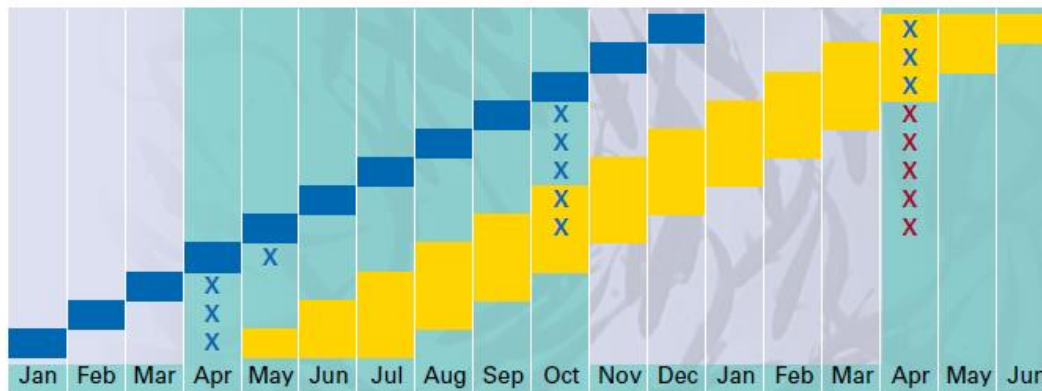


Impfstrategie ERM – oraler Booster

Vaccination strategy for a farm site with clinical ERM throughout the year



Vaccination strategy for a farm site with summer clinical ERM only



Quelle:
MSD-Animal Health,
Aquavac ERM oral,
Technical bulletin –Time to
boost

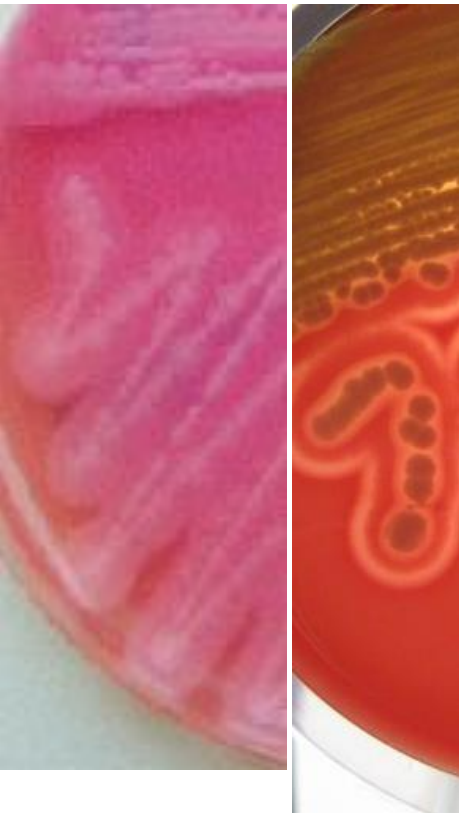
Key

- 5g Immersion vaccination
- Basic recommendation for oral boost (4-6 months post immersion)
- X Actual time for local boost
- X Time of oral re-boost if required
- Water temperature too low for oral booster use

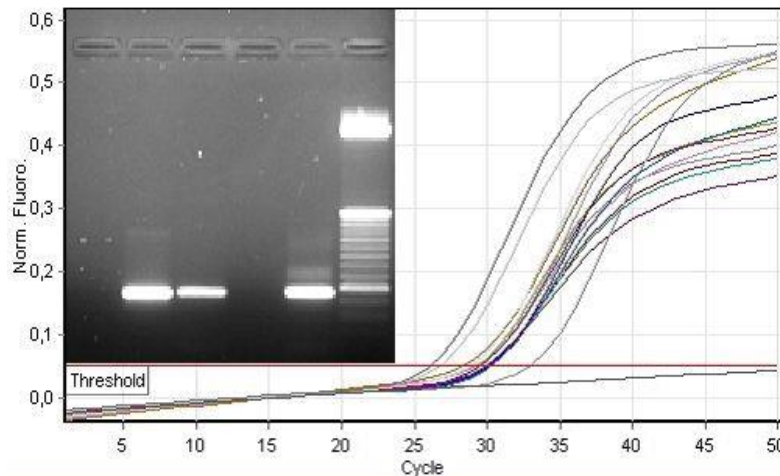
Nachweis von Bakterien

Isolat - Identifizierung

phänotypische Eigenschaften



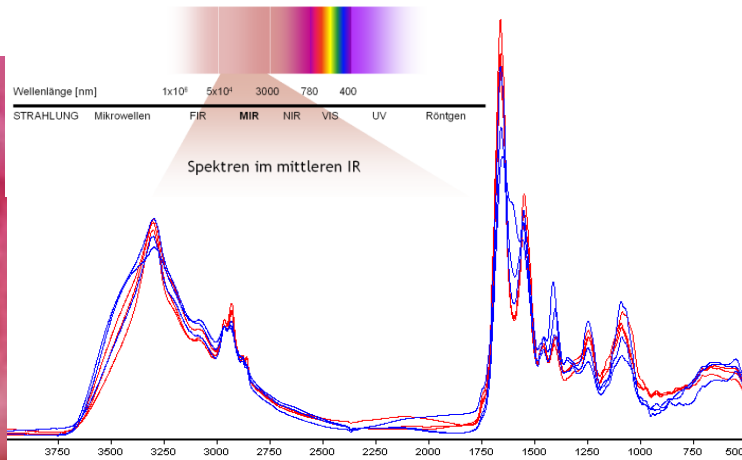
genetische Eigenschaften



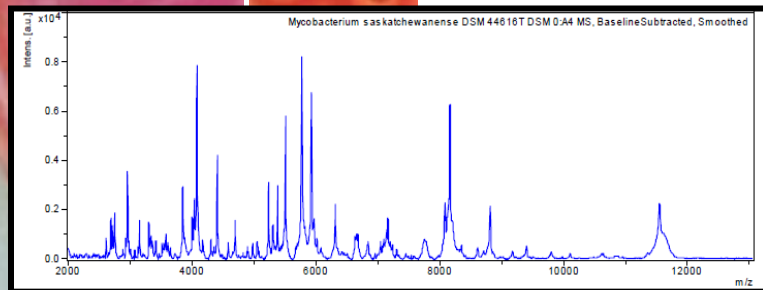
Nachweis von Bakterien

Isolat - Identifizierung

per Spektroskopie



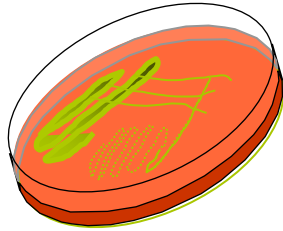
Infrarot-Spektroskopie (IR)



Massenspektrometrie
(MALDI-TOF-MS)

Infrarotspektroskopie

Reinkultur
unter definierten
Bedingungen

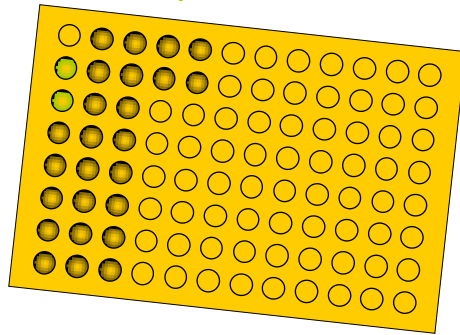


Präparation auf den
Probenträger

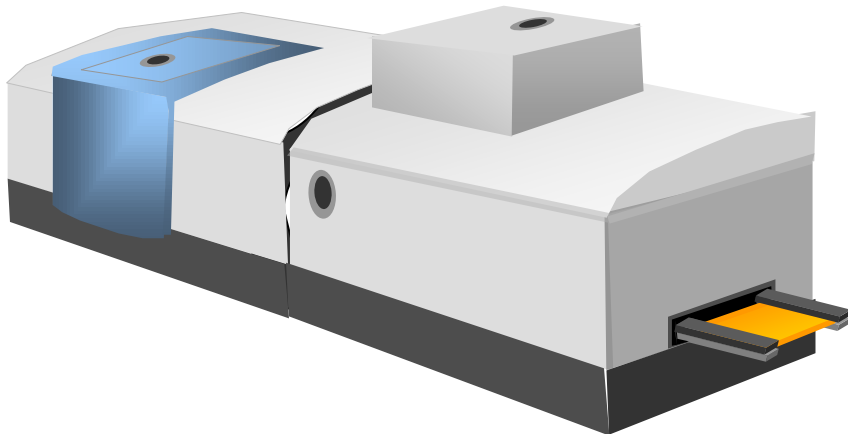


Suspension in
Wasser

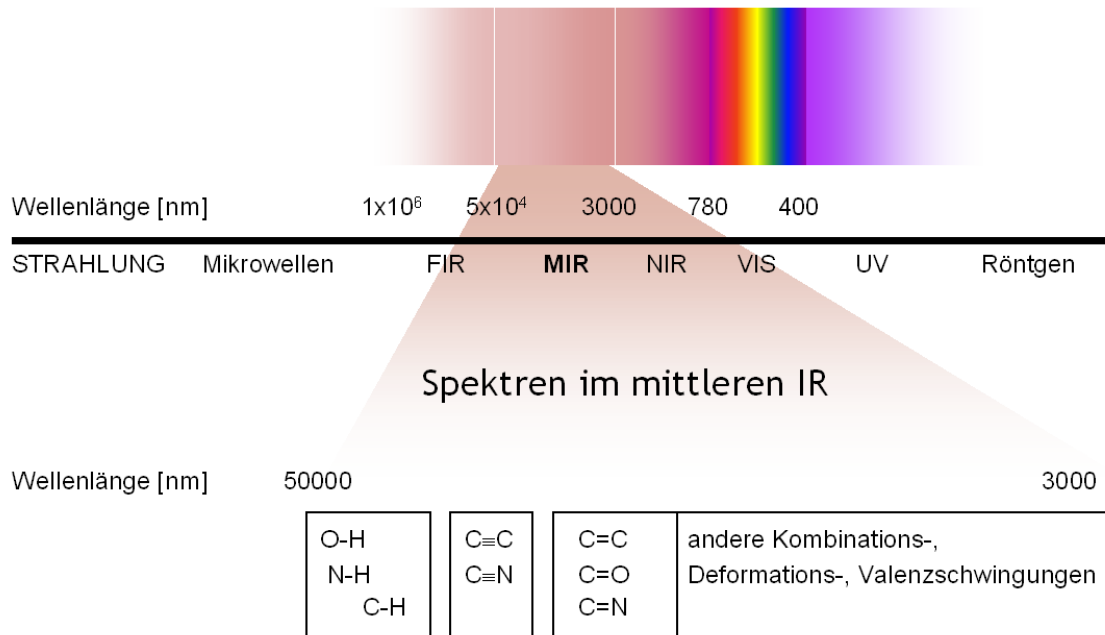
Trocknen



Messung im IR



Infrarotspektroskopie = Schwingungsspektroskopie

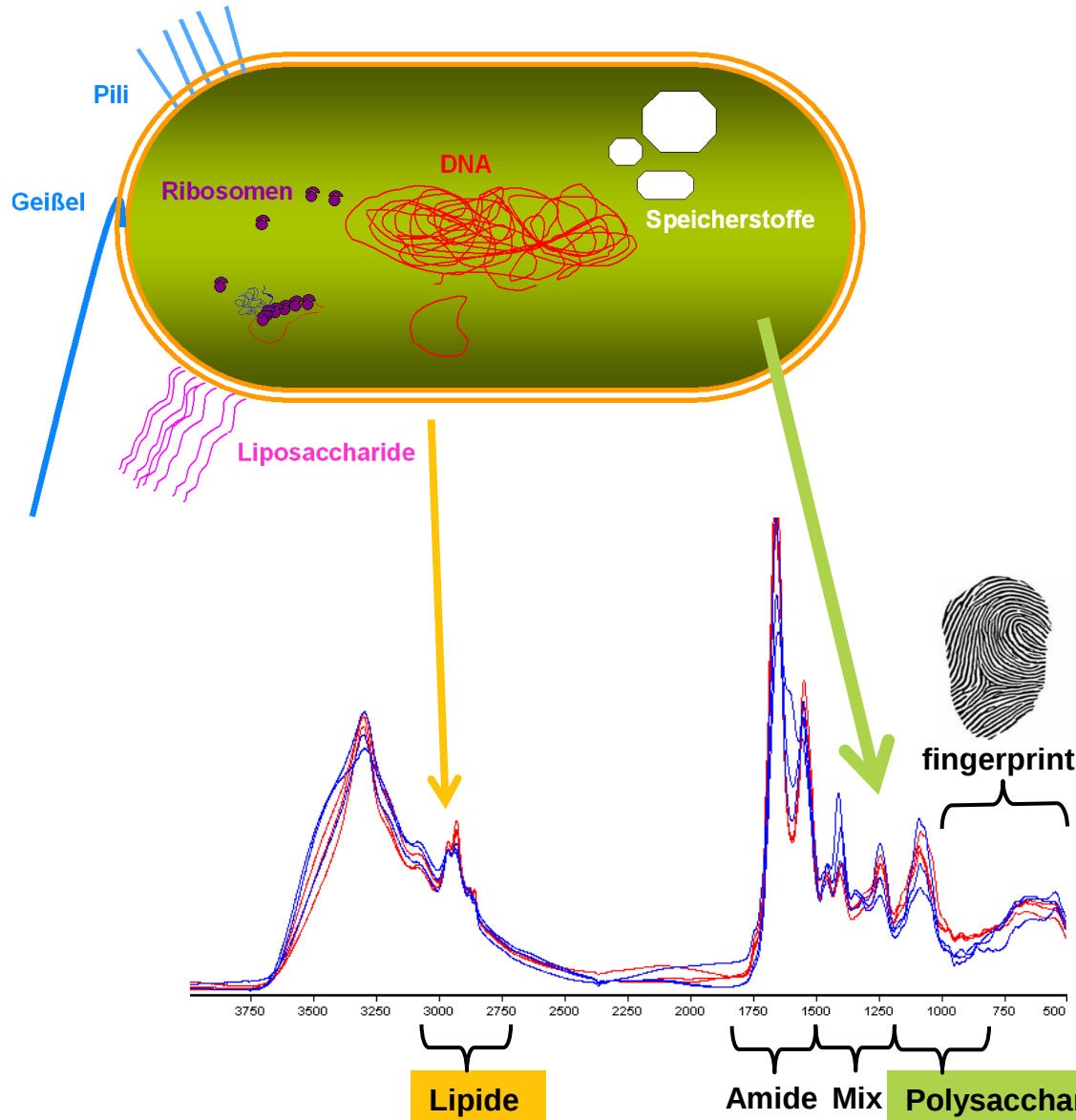


Durch Infrarot-Strahlung (Wärmestrahlung) werden Moleküle zu Bewegung (Schwingungen, Rotationen) angeregt.

Ein Teil der eingestrahlten Energie wird dabei absorbiert.

Unterschiedliche chemische Bindungen absorbieren bei unterschiedlicher Energie, d.h. Wellenzahl.

Infrarotspektroskopie



Für Mikroorganismen
ergibt sich ein
charakteristisches
Muster

= molekularer
Fingerabdruck

Aufbau einer hausinternen **Datenbank** mit bekannten Isolaten

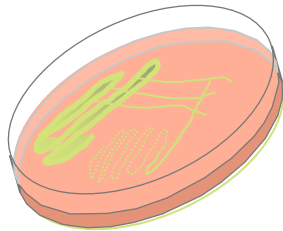
- Zuordnung von unbekannten Isolaten
auf der Ebene von
 - ⇒ Genus
 - ⇒ Spezies
 - ⇒ **Subspezies**
 - ⇒ **Pathogenitätsfaktoren**

Spektren beinhalten zudem **individuelle** Informationen
(„Fingerabdrücke“) der Isolate

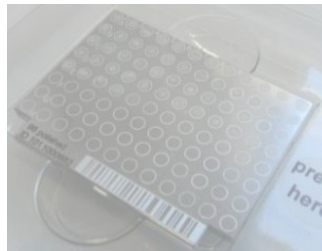
⇒ **Zugang zur Epidemiologie**

Massenspektrometrie (MALDI-TOF)

Reine Kolonie

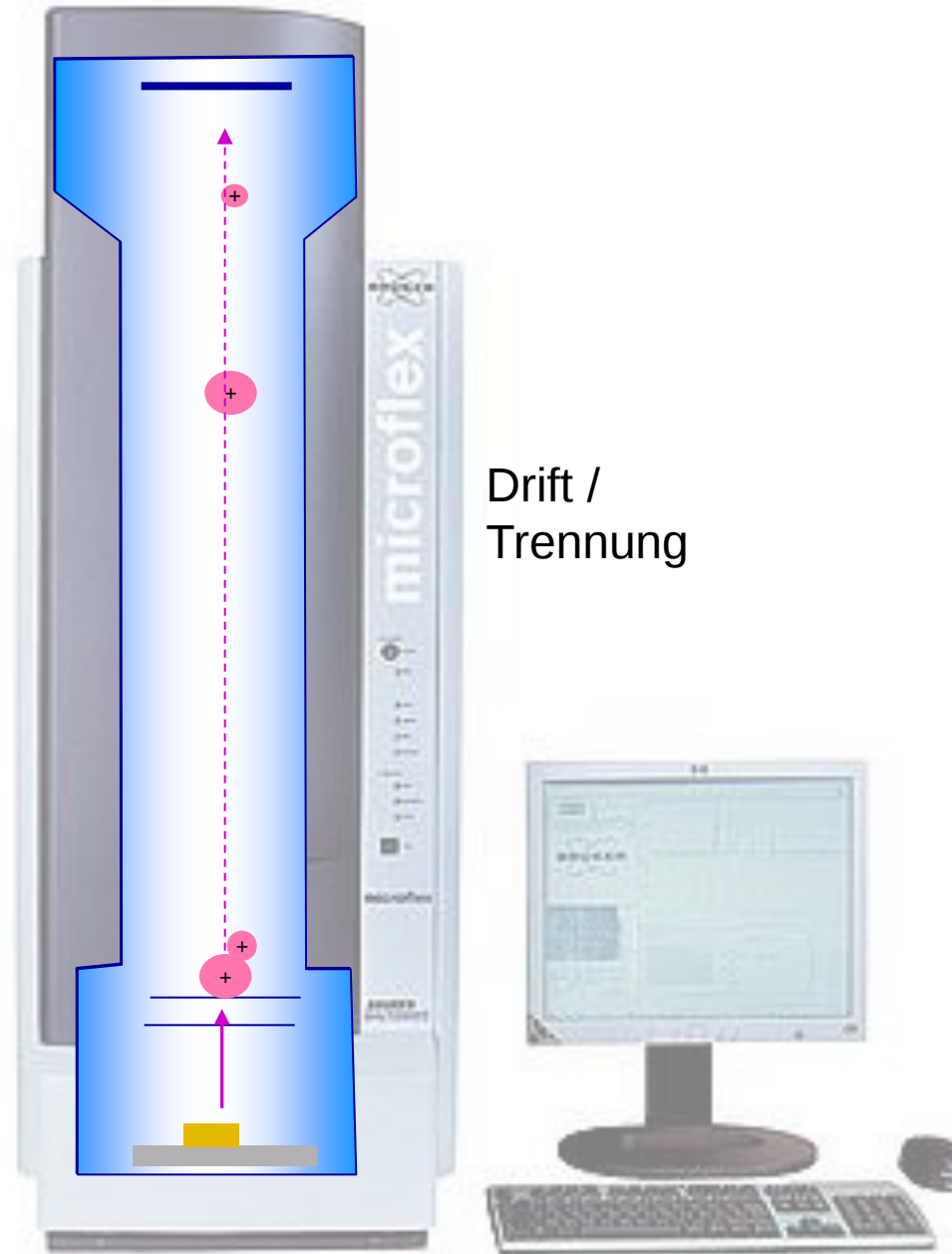
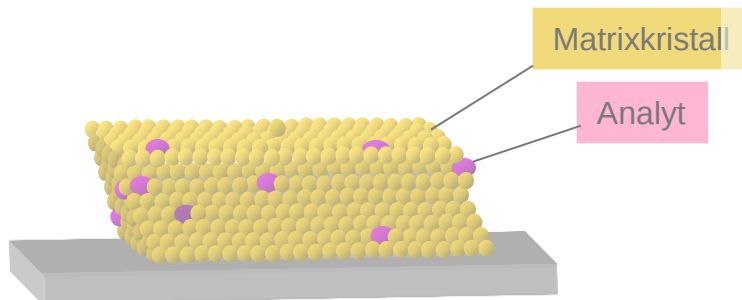


Präparation auf den
Probenträger
(Direkt, Extrakt)

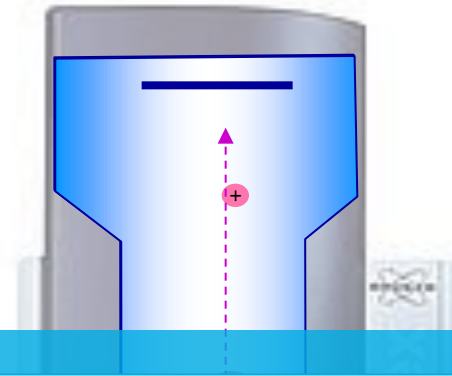


Matrix

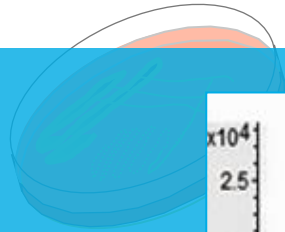
Kristallisation



Massenspektrometrie (MALDI-TOF)



Reine Kolonie



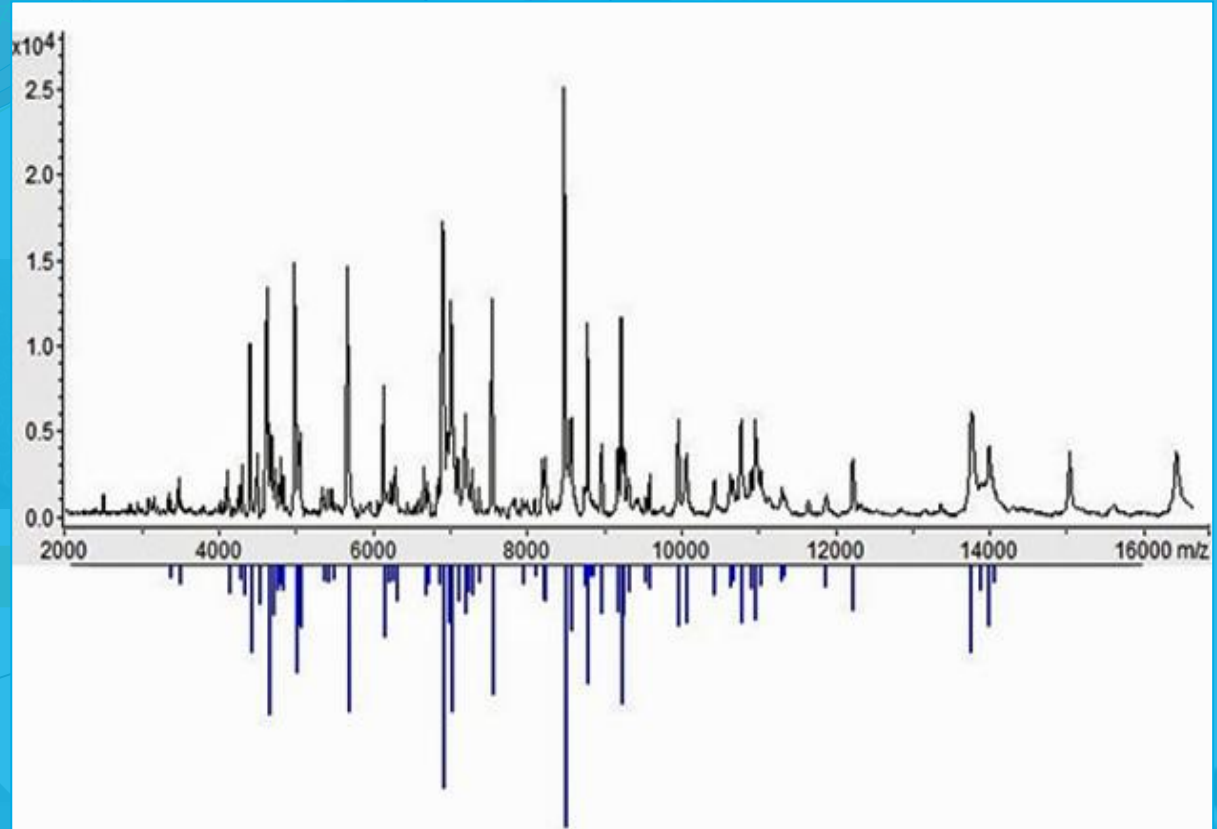
Präparation auf den
Probenträger



Trennung über
Flugzeit-MS

Kristallisation

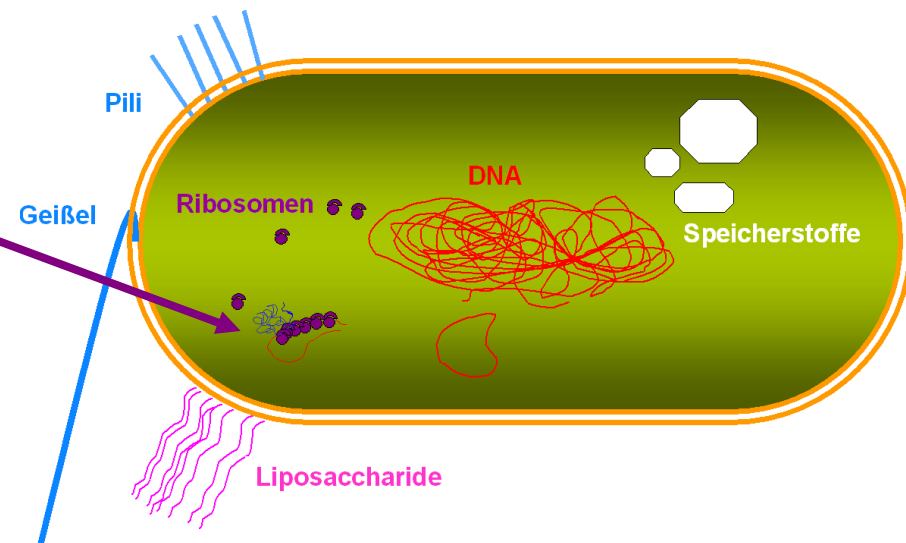
➤ Massenspektrum
(z.B. 2-20 kDalton)



Massenspektrometrie (MALDI-TOF)

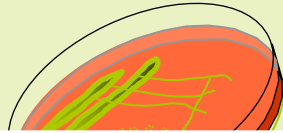
Massen konkreter
Biomoleküle

- ➔ **ribosomale Proteine**
- taxonomische Marker
 - Genus / Spezies

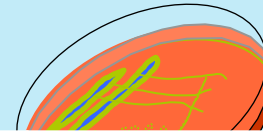


Spektroskopie

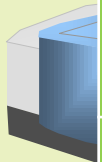
Reinkultur
unter definierten
Bedingungen

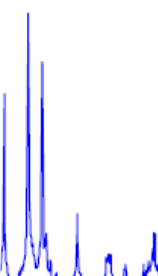


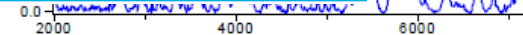
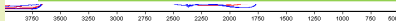
**Reine
Kolonie**



Me:

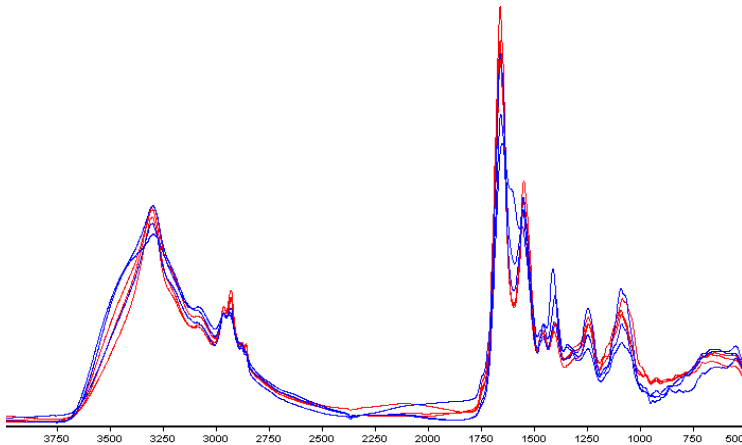


IR ~24h < 1,5 h	Kultivierung Prep. + Messung	MALDI 8-24h < 0,5 h	Spektrometrie (OF)
eigene DB		Hersteller DB + eig. Ergänzungen	
(✓)	Genus	✓	
(✓)	Spezies	✓	
✓	Subspezies	(⊘)	Mycobacterium sask
✓	Identität	⊘	



Identifizierung Yersinia

49 Isolate - Identifizierung



Datenbankeinträge
im FT-IR wurden
erstellt und
validiert:

-> Identifizierung
der Spezies
-> Zuordnung des
Y. ruckeri Sorbit
Biotyps

Yersinia ruckeri – Rotmaulseuche in Salmoniden

FT-IR für die Auswahl von Impfstämmen:

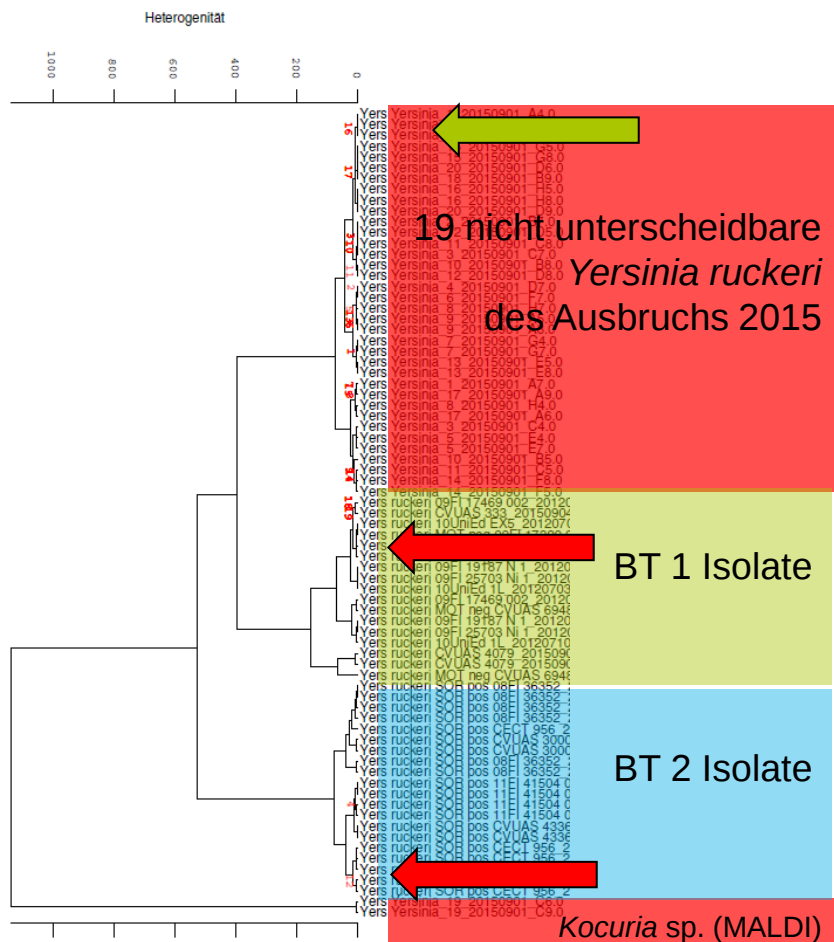


ERM-Ausbrüche im
Sommer 2015

Untersuchung von
20 Isolaten mit
MALDI + IR

Yersinia ruckeri – Rotmaulseuche in Salmoniden

FT-IR für die Auswahl von Impfstämmen:



Unser Vorschlag:

Herstellung einer eigenen
Impfung mit den Bakterien aus
dem Teich zusammen mit
Isolate 1.

Übliche Impfstämme

VHS- und IHN-Ausbrüche in D und BW

