



Vintersår, en detaljert innsikt i bakteriene involvert er nødvendig

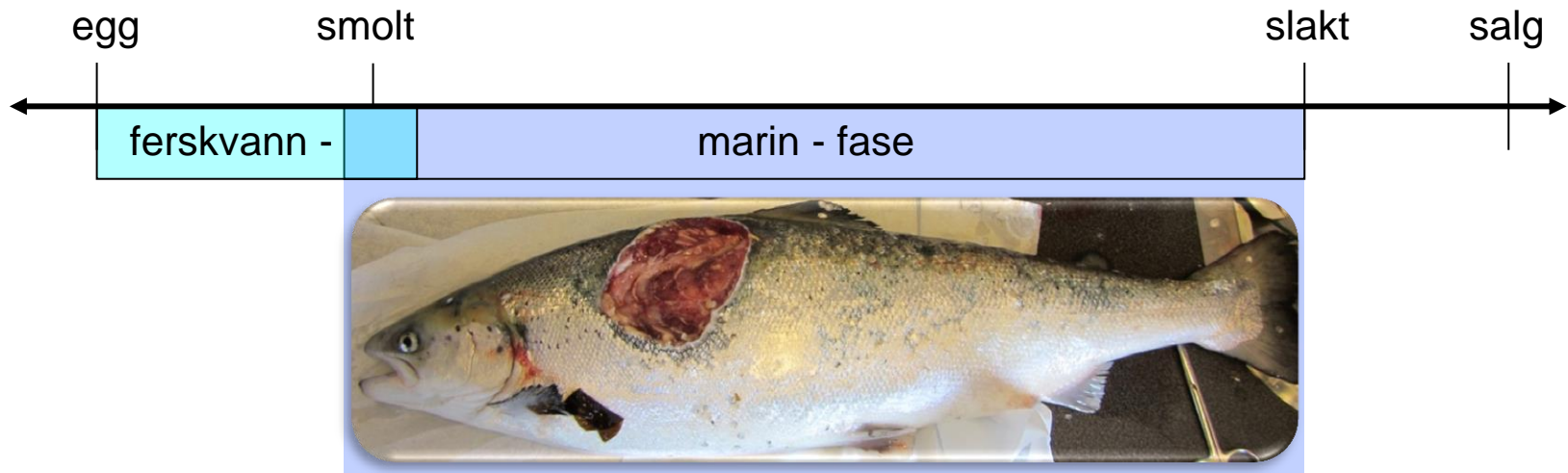
Christian Karlsen, NVH, MatInf, MIP
UiO, Farmasi

FHF 2013

Redigert

Vintersår

Produksjonsyklusen

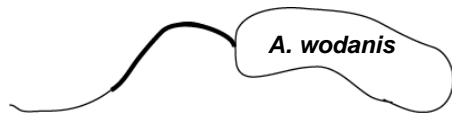


- Vaksinerings- og forebyggende tiltak gir ikke full beskyttelse
- Utbrudd skjer ved vanntemperaturer under 8°C
- Lave sjøtemperaturer er gunstig for bakterien og krevende for fiskens forsvars- og reparasjonsevne

Bakterielle agens



opportunist ? sår



- Vekst ved 1-4% NaCl og 4-20°C
- Høyest celletetthet ved sjøvannsalinitet
- Mere robuste og adherende celler ved lave temperaturer

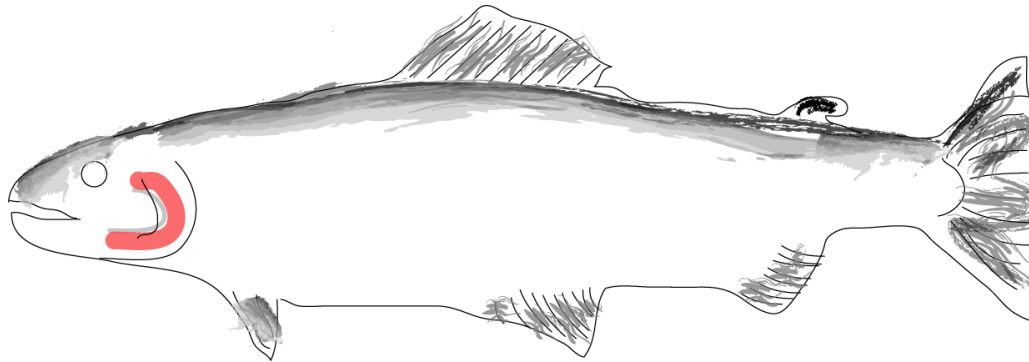
Koordinert bakteriell virulens, relevans i vintersår

Sårdannelse smitte modeller

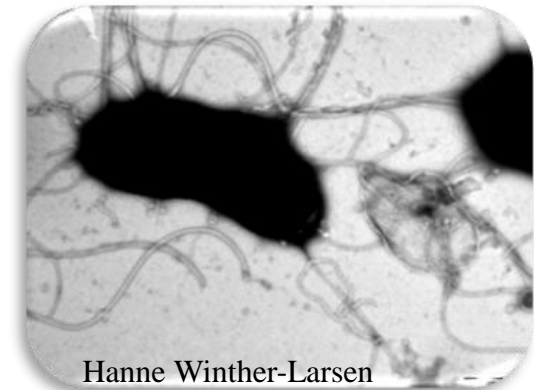
Bakterien virulensfaktorer



Patogen / vert-interaksjoner

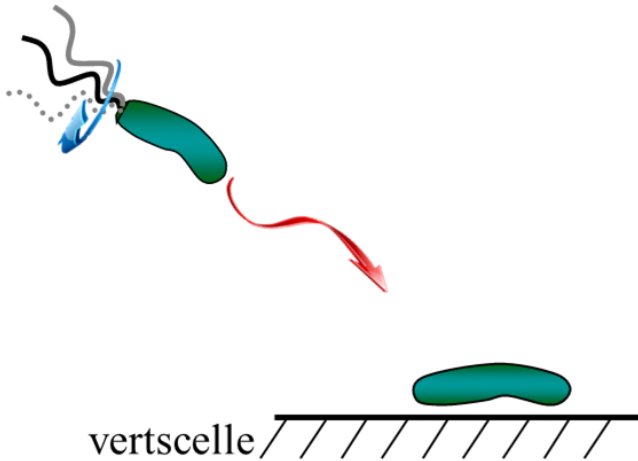


- Komme i kontakt med verten
- Feste seg
- Penetrere førsteforsvaret
- Motstå det indre forsvaret
- Vekst

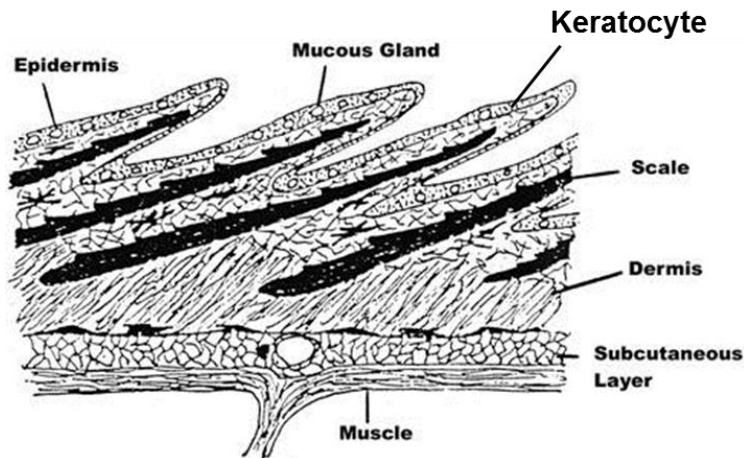
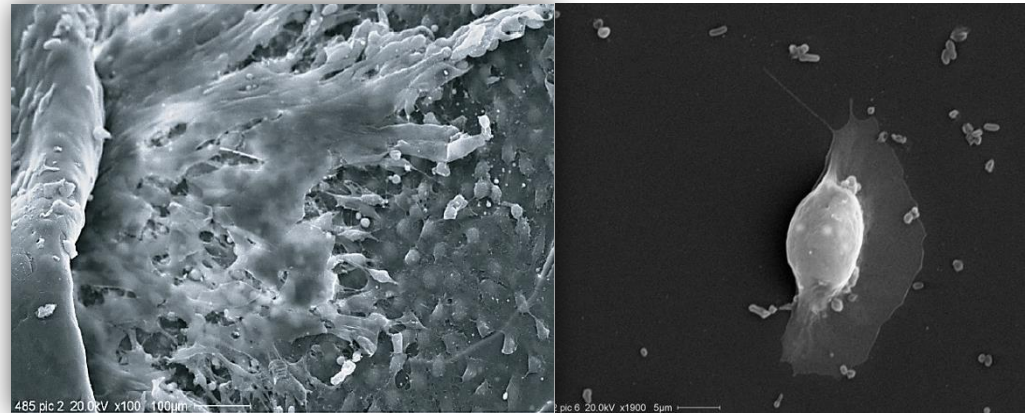


Hanne Winther-Larsen

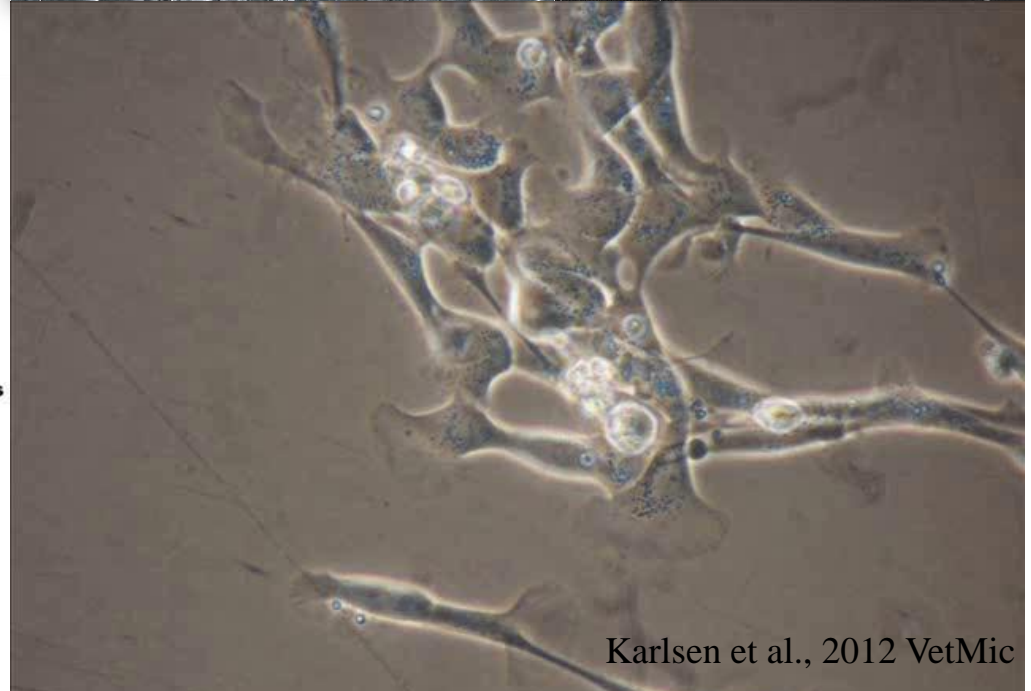
Motilitet – kontakt – forsvar



Keratocytter



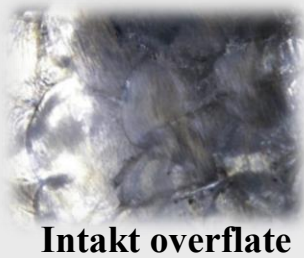
The laboratory fish 2000. Ed. Ostrand G.K.



Karlsen et al., 2012 VetMic

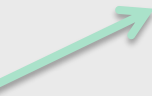
M. viscosa smitte og sårinfeksjon

Smitte av overflatesår

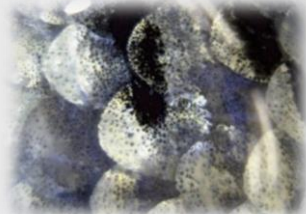


Intakt overflate

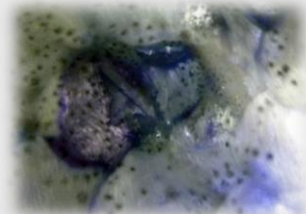
Tar vekk skjell



48 timer



Lukket overflatesår

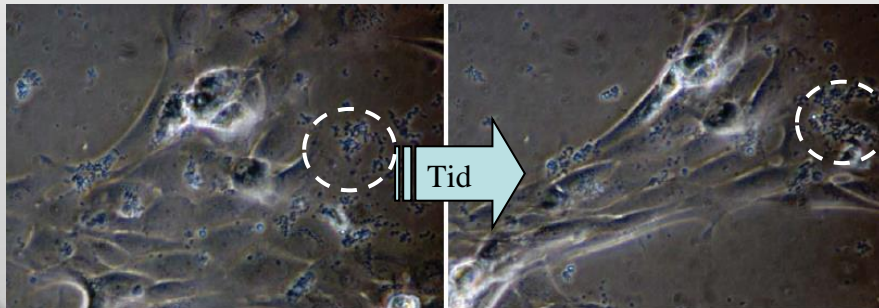


Eksponert overflatesår

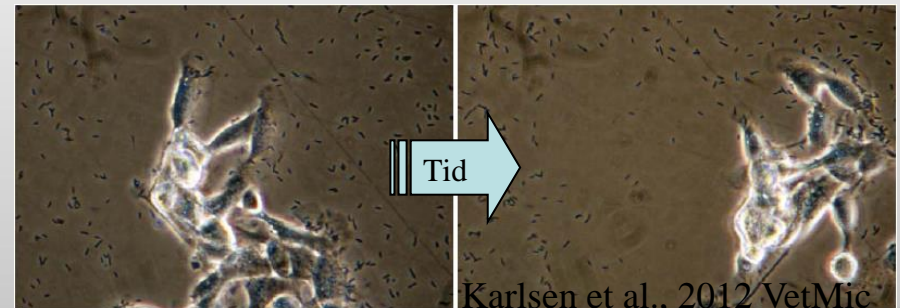
M. viscosa hindrer lukking / regenerering av eksponerte såroverflater

Keratocyte respons

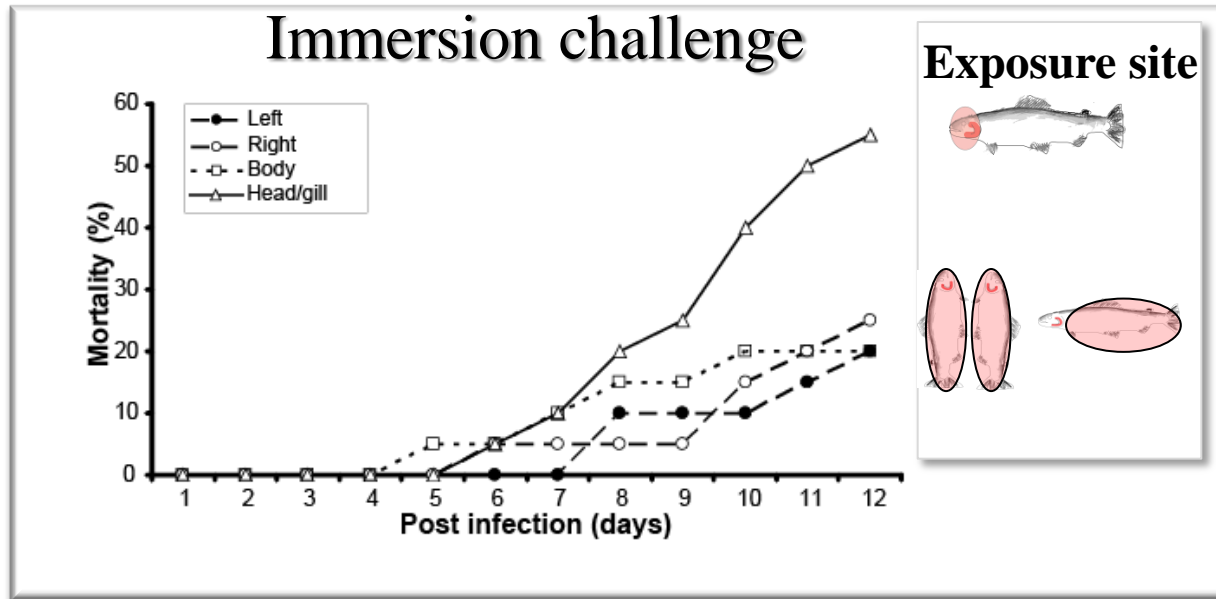
M. viscosa



A. wodanis



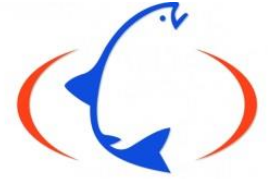
M. viscosa infeksjon – sårdannelse



- **Dødelighet:** sammenheng mellom eksponert del og dødelighet ($p=0.04$)
- **Sårdannelse:** Signifikant til eksponert del ($p=0.002$)



Sår – hva finner vi i felt?



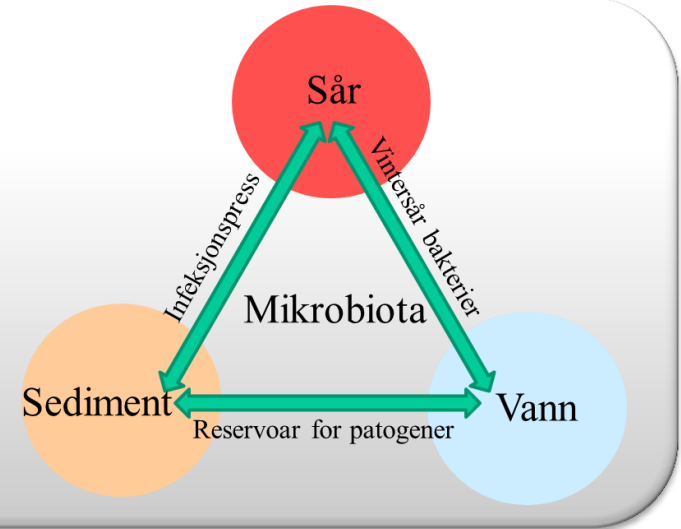
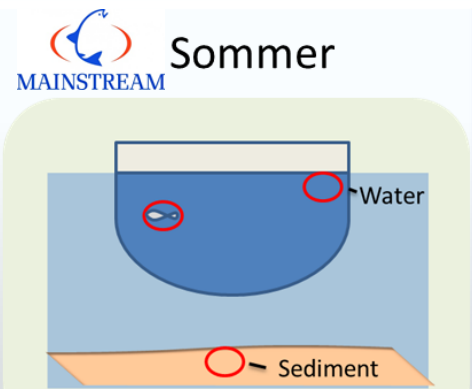
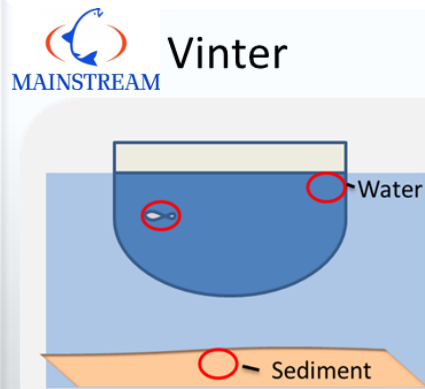
MAINSTREAM



Mikrobiom



Ønsker å identifisere bakteriepopulasjoner

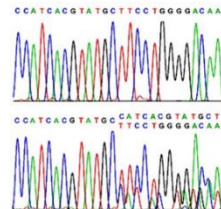


Dyrkning:



Moritella viscosa
Vibrio wodanis
Photobacterium sp.
V. logei
Tenacibaculum sp.

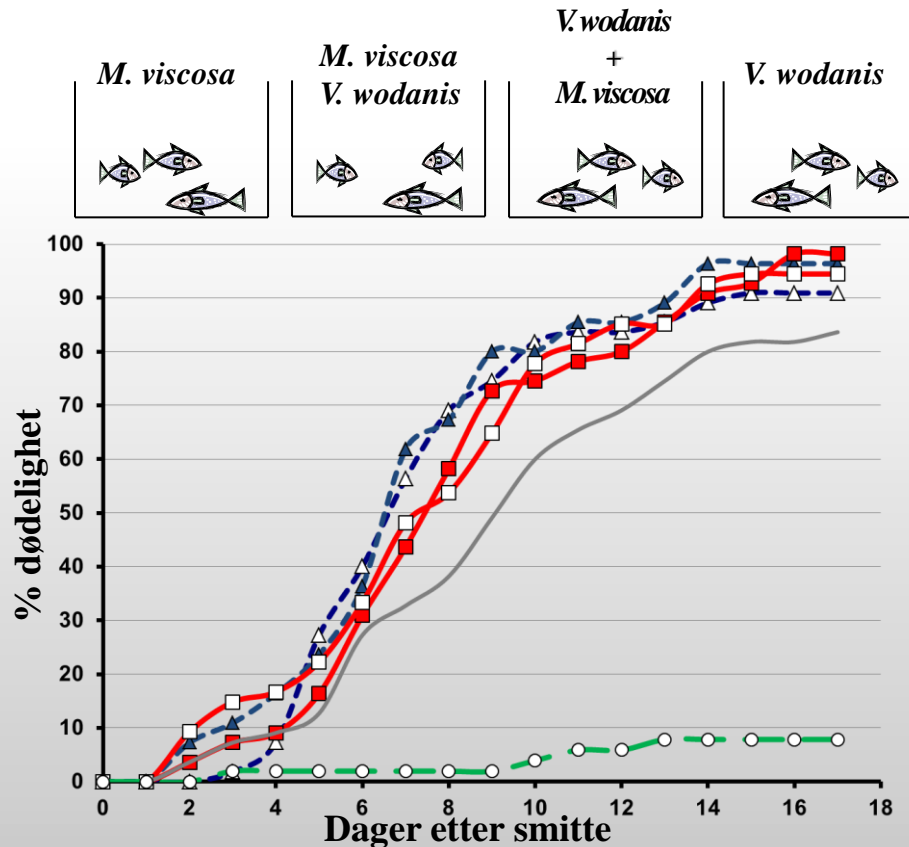
Sekvensering:



Vintersår – flere bakterietyper isoleres fra feltutbrudd

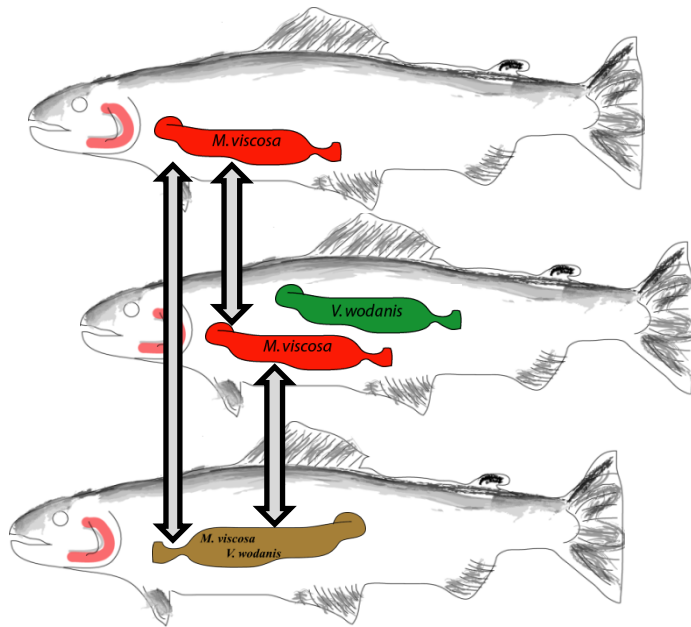
Kan dette reproduseres i smitteforsøk?

Badsmitte med *M. viscosa* og *V. wodanis*

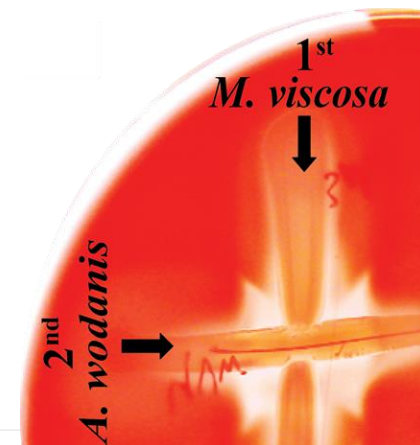


Co-infeksjon, kan et slikt «samspill / konkurranse» påvirke sykdomsbildet?

Regulerer Mv genuttrykket *in vivo* annerledes når den er alene kontra når Vw er tilstede



Co-hemolyse



M. viscosa – virulensfaktorer

Egenskaper som ligger i genomet

Flagell

Bevegelse og kjemotaksis

Membranstrukturer

LPS, pili, kapsel

Ytermembranproteiner

Adhesjon, opptakssystemer, toksiner

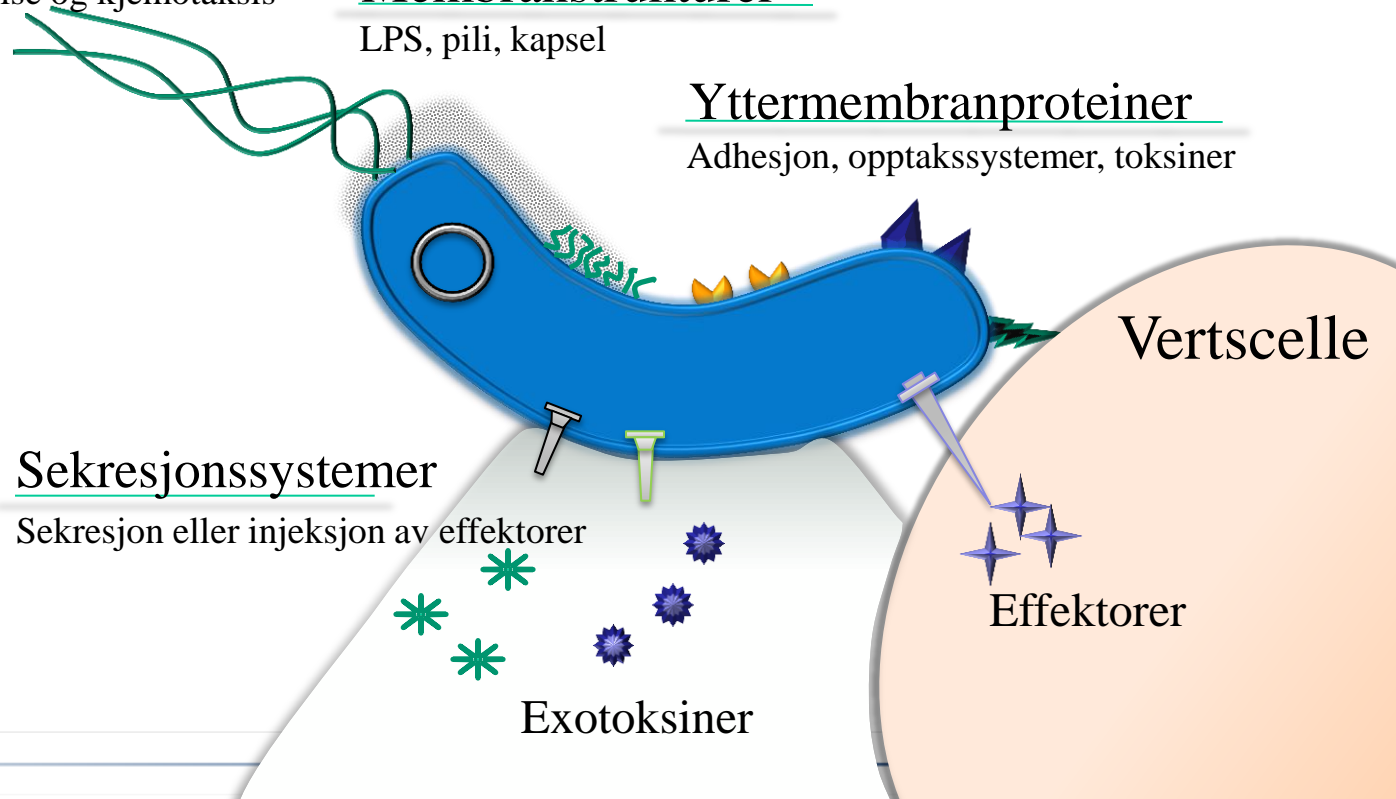
Sekresjonssystemer

Sekresjon eller injeksjon av effektorer

Vertscelle

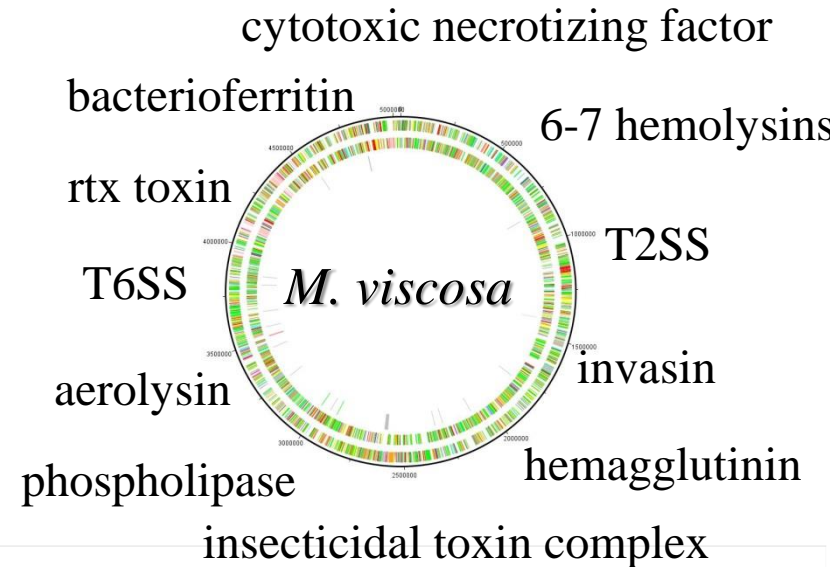
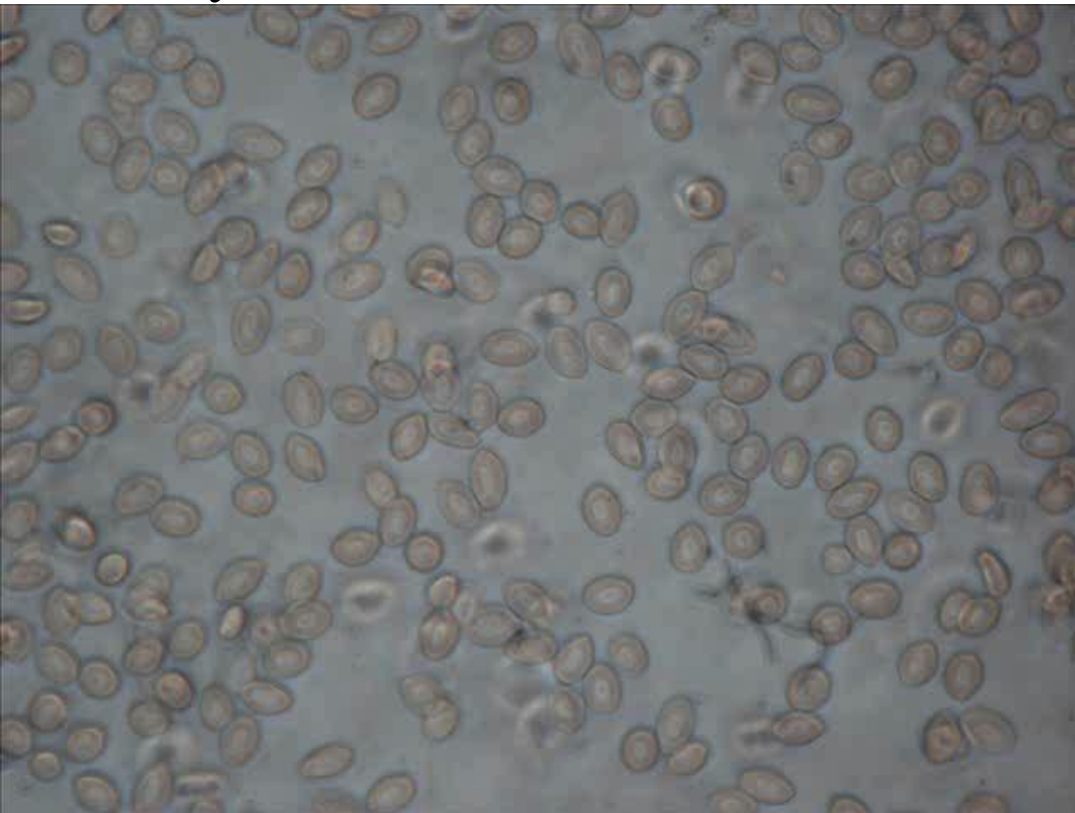
Effektorer

Exotoksiner



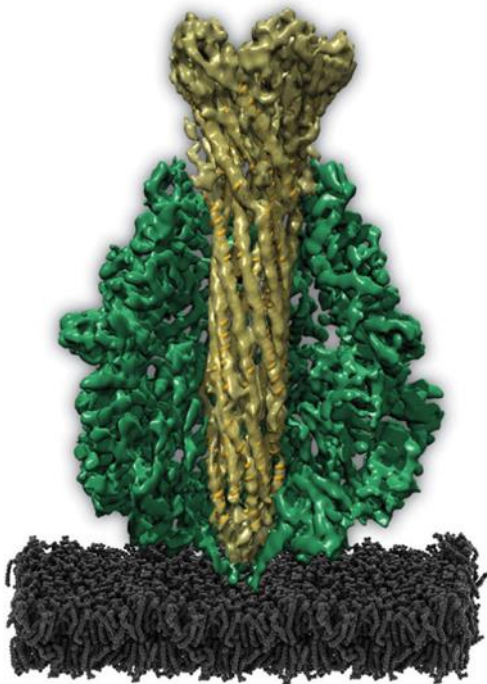
M. viscosa har flere homologer til degraderende enzymer, opptakssystemer, sekresjonssystemer..

Hemolyse



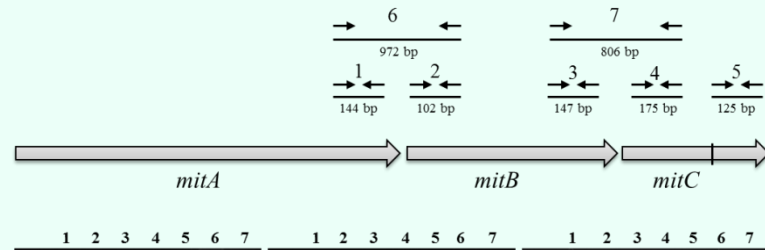
Insekticidtoksinkompleks

- Biologisk aktivitet
 - Insekticid
 - Kan produseres i insektverter, men modulere immunresponsen i eukaryote celler

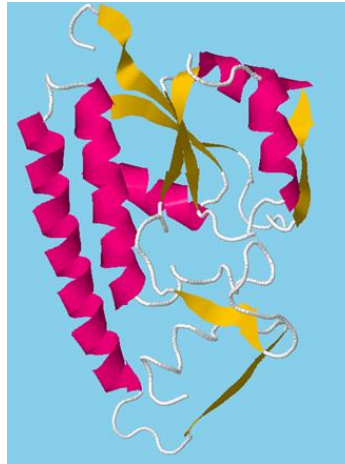
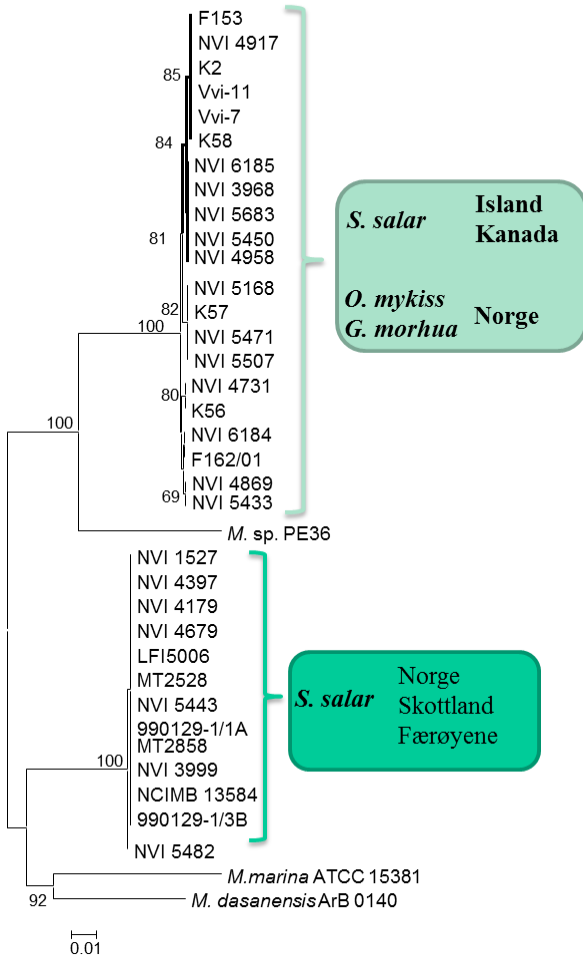


Figur: Max-Planck-Gesellschaft

M. viscosa

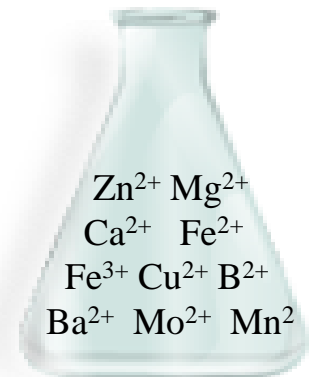


Metallbindende transportprotein



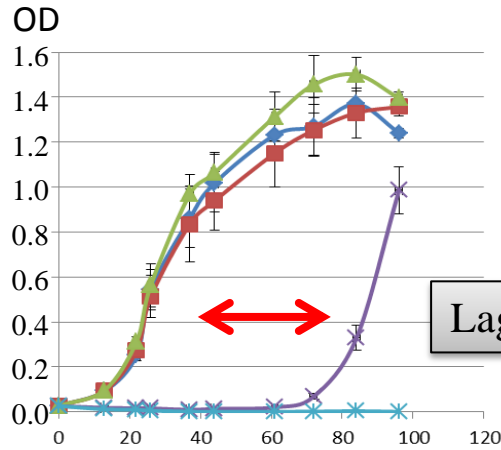
Metallioner og bakterier

- Metallioner er essensielle kofaktorer for mange proteiner
- Behovet må balanseres for toksisiteten, og homeostasen for ioner av f.eks Fe^{3+} , Mn^{2+} or Zn^{2+} reguleres bla av ABC transportsystemer
- Er det vekstforskjeller mellom stammer som har hele proteinet vs de som har en delesjon i proteinet?



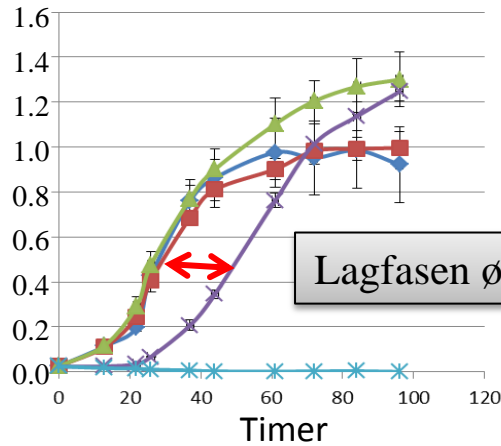
Forskjell i vekst?

Hele proteinet



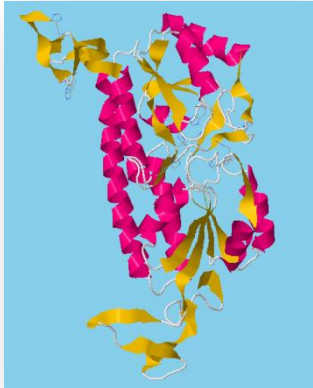
Lagfasen øker med ~3 dager

Trunkert protein



Lagfasen øker med ~1 dager

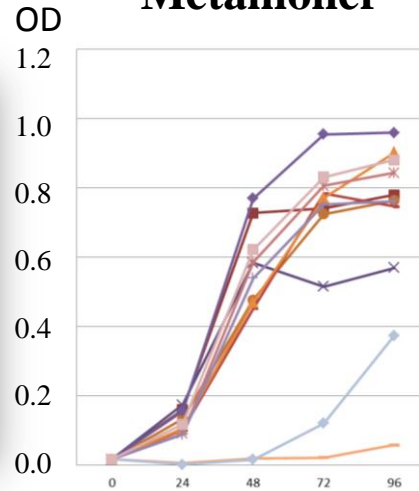
Hele proteinet



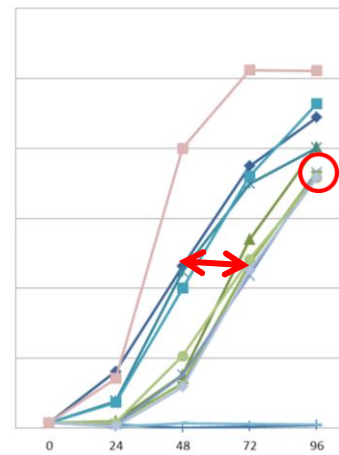
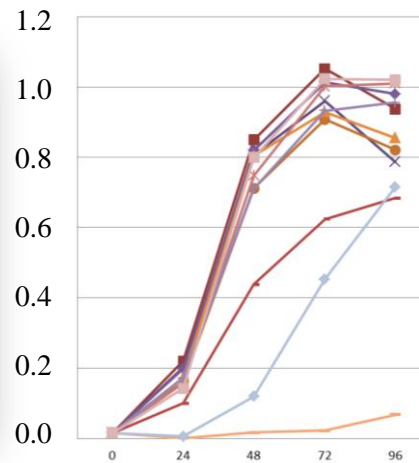
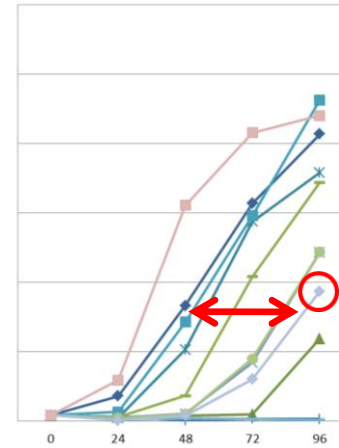
Trunkert protein



Metallioner



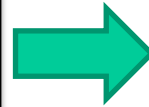
1 : 1 med metallioner



Knock out mutanter på virulensgener

- screeningplattform på SINTEF

- Transposonbibliotek
 - Forsøk på konjugasjon og transformasjon har ikke vært vellykket!



- Kjemisk mutagenese:
 - cytotoksisitet
 - motilitet
 - hemolytisk aktivitet
 - adhesjon



Norges veterinærhøgskole

- Henning Sørum
- Kjetil Åsbakk
- Anette Bauer Ellingsen

UiO : Universitetet i Oslo

- Hanne Winther-Larsen



- Nils Peder Willassen
- Erik Hjerde



- Søren Grove



MAINSTREAM

Karl Fredrik Ottem

Øyvind Brevik



SINTEF

Anne Tøndervik



Helene Mikkelsen