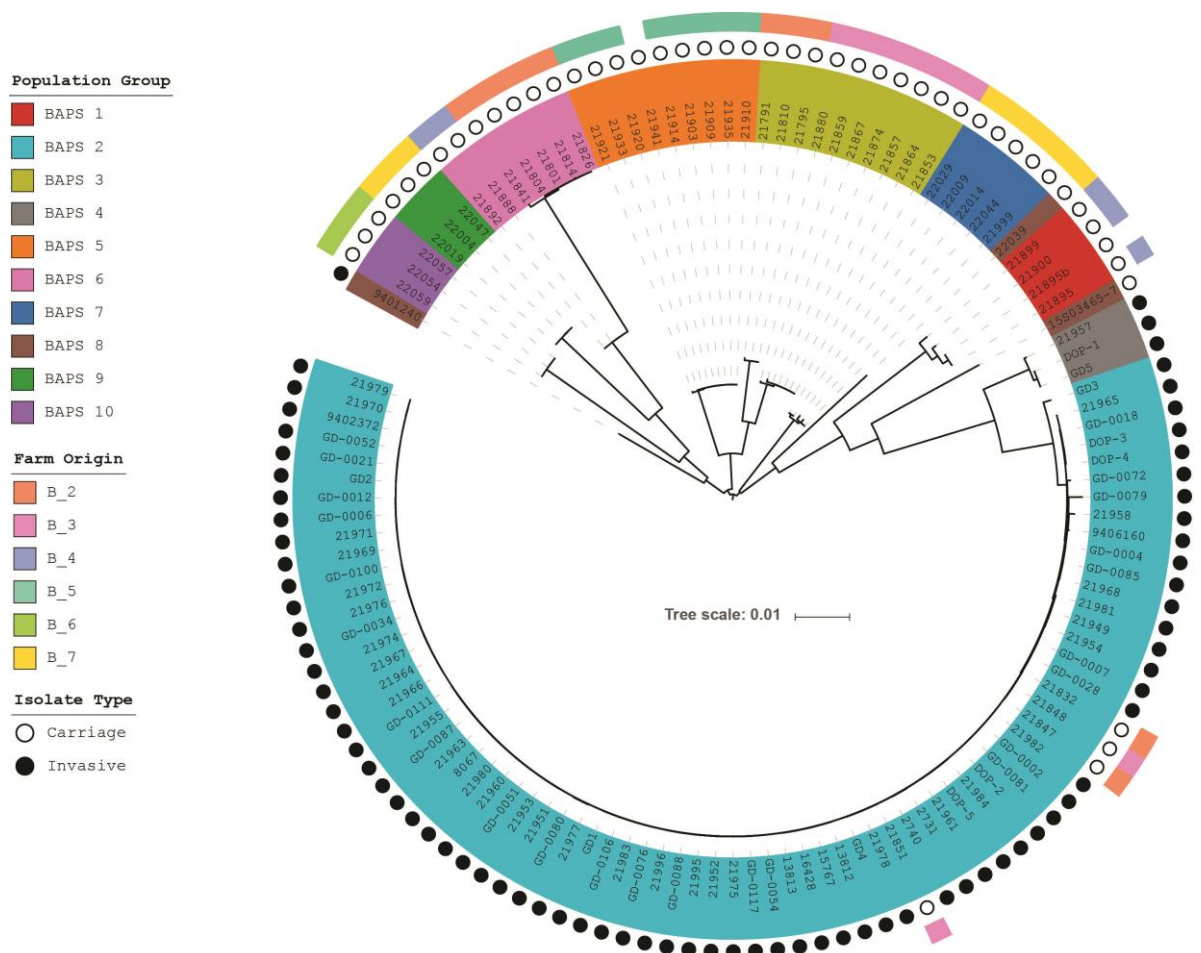




<b>Algemene gegevens</b>	
PPS-nummer	AF-15227
Titel	Integrale aanpak <i>Streptococcus suis</i>
Topsector en innovatiethema	Agro Food
Projectleider (onderzoek)	Astrid de Greeff
PPS-coördinator (namens private partij)	Yvonne Verbeek (Dopharma)
Contactpersoon overheid	Marc de Bode (Min. EZ)
Status (lopend of afgerond)	Lopend
Type onderzoek (F, T of V)	F, T, V
Werkelijke startdatum	1 januari 2016
Werkelijke einddatum	31 december 2020
Organisatie- / bestuursstructuur	PPS wordt gecoördineerd door DLO partner; ~4 maal per jaar vergadert de PPS met vertegenwoordigers van alle partners over de voortgang.
Begeleidingsstructuur (klankbordcie., etc.)	Er is geen klankbordgroep; de lijnen worden uitgezet door het consortium; de advies- en stuurgroep van 1H4F beoordeelt de voortgang en inhoud.
Korte omschrijving inhoud	Dit project heeft de ambitie om een substantiële bijdrage te leveren aan de verdere ontwikkeling van een duurzame en gezonde varkenshouderij in Nederland én de Nederlandse concurrentiepositie in een mondiale markt te versterken. Om dit te bereiken focust het project op (1) de verbetering van diagnostiek voor detectie van serotype 9 stammen die frequent ziekte veroorzaken (inclusief moleculaire analyse van verschillen tussen stammen) en (2) de ontwikkeling van infectiemodellen voor <i>S. suis</i> serotype 9 stammen om de effectiviteit van interventies te kunnen testen en eventueel nieuwe interventies te ontwikkelen.

<b>Highlights</b>
<p>Voor loopjaar 2016 stonden 3 grote acties op de agenda:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sequentie-analyse <i>S. suis</i> serotype 9 isolaten</li> <li>2. Eerste dierexperiment t.b.v. goed model voor <i>S. suis</i> serotype 9</li> <li>3. Virulentie-studie <i>S. suis</i> serotype 9 stammen</li> </ol> <p><u>Ad 1: Sequentie-analyse <i>S. suis</i> serotype 9</u></p>

De sequentie-analyse wordt uitgevoerd door een van de partners (AMC). Voor de sequentie analyse zijn 100 stammen gesequenced op de HiSeq, waarvan 83 stammen van de WBVR afkomstig waren en 17 stammen zijn bijgedragen voor de partners in het consortium. Aan deze collectie werden 28 stammen van het AMC toegevoegd voor een totaal van 128 stammen. Van alle stammen zijn draft genomen geconstrueerd en uit de sequentie data zijn het sequentie type en serotype bepaald. Vier stammen bleken uiteindelijk niet serotype 9 of waren geen *S. suis* en zijn uitgesloten voor verdere analyses.



**Figuur 2.** Phylogenetische boom van 124 *S. suis* isolaten behorende tot serotype 9. De boom is een maximum likelihood boom aan de hand van een core genoom van 1149 genen. Populatie groepen zijn bepaald door een Bayesian Analysis of Population Structure (BAPS) en de stamnamen zijn gekleurd aan de hand van hun populatie groep. Invasieve stammen zijn aangegeven met een zwarte cirkel en dragerschap stammen met een witte cirkel. Van de

Onder de 124 overgebleven *S. suis* stammen bevonden zich 77 invasieve en 47 dragerschap stammen, waarvan het pan- en coregenoom is bepaald door middel van Roary. Een Bayesian Analysis of Population Structure (BAPS) op het coregenoom liet zien dat er onder de dragerschap stammen een groot genetische diversiteit bestaat, maar invasieve stammen behoren vrijwel allemaal tot BAPS groep 2. Deze groep bestaat uit één clonale expansie van sequentie type 16 (ST16). ST16 heeft een hogere verwantschap met virulent serotype 2 stammen behorende tot ST1 en ST20 dan met de

overige serotype 9 dragerschap stammen

De BAPS groepen met voornamelijk dragerschap stammen laten een hoge correlatie zien met de bedrijven waar de stammen zijn geïsoleerd. Tot elke BAPS groep behoren stammen afkomstig van hoogstens 2 bedrijven. Dat alle invasieve stammen behoren tot BAPS groep 2 maakt het moeilijk om Genome Wide Association Studies (GWAS) te doen, omdat de populatie structuur de eventuele verantwoordelijke genetische factoren maskeert. Een vergelijking van het kapsel locus laat echter een duidelijke scheiding zien tussen BAPS groep 2 en alle andere populatie groepen. Het kapsel locus van dragerschap stammen laat een insertie zien die afwezig is in de invasieve stammen. De mogelijke gevolgen van deze insertie en andere genetische verschillen in het kapsel locus worden verder onderzocht.

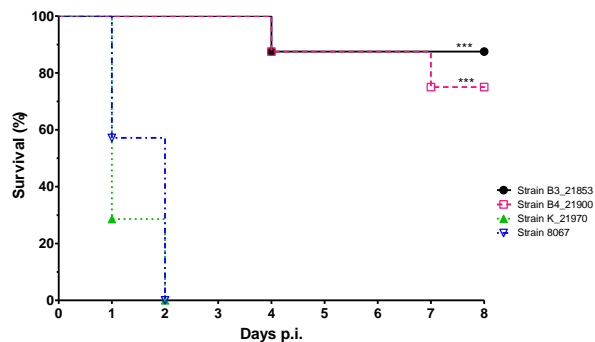
Deze resultaten laten zien dat er een tot nu toe onbekende grote genetische diversiteit bestaat onder serotype 9 isolaten waarvan slechts één clonale expansie van ST16 verantwoordelijk lijkt te zijn voor het virulent phenotype. Er zijn ook aanwijzingen dat op elke bedrijf maar een beperkt aantal *S. suis* clonen circuleert en deze verschillend sterk van elkaar. MLST lijkt daarmee een goede manier om invasieve stammen te identificeren, maar verschillen in het kapsel locus worden ook onderzocht.

#### Ad 2: Eerste dierexperiment

Het consortium heeft gezamenlijk besloten bij welke partners en in welke volgorde de verschillende in kind bijgedragen dierexperimenten uitgevoerd zullen gaan worden. De eerste helft van 2016 is met name besteed aan uitwisselen en afstemmen van de te gebruiken proefopzet, methodes en protocollen tussen verschillende partners. Vervolgens is gestart met de voorbereidingen van het eerste experiment, dat in oktober-november 2016 is uitgevoerd bij de Gezondheidsdienst voor Dieren. Binnen de proef zijn biggen oraal en intranasaal geïnoculeerd met een bekend pathogene *S. suis* serotype 9 stam, met en zonder voorbehandeling van de slijmvliezen met azijnzuur, waarna de dieren gedurende 10 dagen zijn gevolgd. Daarnaast werden 2 controle groepen gebruikt. De proef is succesvol verlopen, want de inoculatie leidde tot klinische verschijnselen in 60-80% van de dieren en kolonisatie van de tonsillen in 100% van de dieren, wat duidelijk verhoogd was ten opzichte van de controledieren. Deze resultaten zullen worden besproken met alle partners, zodat de proefopzet van het volgende dierexperiment verder geoptimaliseerd kan worden.

#### Ad 3: Virulentie studie

In een studie die is gefinancierd door het voormalige Productschap voor Vee, Vlees en Eieren is geconstateerd dat *S. suis* serotype 9 stammen geïsoleerd uit klinisch zieke dieren genetisch verschillen van *S. suis* serotype 9 stammen die de tonsillen van gezonde biggen koloniseren. Deze observatie lijkt erop te wijzen dat er tenminste twee populaties *S. suis* serotype 9 stammen zijn die mogelijk verschillen in virulentie. Om dit te onderzoeken heeft WBVR een virulentiestudie uitgevoerd met 4 stammen, twee uit iedere categorie. Biggen zijn intraveneus geïnfecteerd met een hoge dosis van een van de stammen, waarna de dieren in de tijd zijn gevolgd. Figuur 1 laat duidelijk zien dat biggen geïnfecteerd met de tonsil-dragerschap stammen significant langer overleefden dan biggen geïnfecteerd met klinische isolaten.



**Figuur 1.** Overlevingscurve van biggen geïnfecteerd met *S. suis* serotype 9 stammen. Biggen werden intraveneus geïnfecteerd met SSU9 geïsoleerd uit klinisch zieke dieren (groene driehoeken, blauwe driehoeken) of van de tonsil van gezonde biggen (zwart cirkels, rose vierkanten). Zodra dieren een humaan eindpunt bereikten, werden zij uit de proef aenomen en ter sectie aebracht voor

Bacteriologisch was dit verschil in virulentie ook duidelijk zichtbaar: na infectie met de klinische isolaten lieten 70 – 85% van de biggen bacteriologisch positieve gewrichten zien en 57% bacteriologisch positieve hartzakjes, terwijl dit in de tonsil-dragerschap groep slechts 13% en 0 % was. Dit beeld werd bevestigd met behulp van histologische bevindingen, en uitgebreide klinische en bacteriologische bevindingen. Uit deze data blijkt duidelijk dat er verschil in virulentie bestaat tussen de twee groepen *S. suis* serotype 9 isolaten.

**Maatschappelijke toepassing: geef een korte beschrijving van de maatschappelijke bruikbaarheid/opbrengst**

*S. suis* is een groot probleem voor de varkenshouderij en zorgt voor een ernstige aantasting van de gezondheid en het welzijn van jonge dieren. *S. suis* infecties zijn daarnaast verantwoordelijk voor grote economische schade. In Nederland wordt de schade geschat op €12 miljoen/jaar. Daarnaast is ziekte door *S. suis* infecties een van de meest voorkomende redenen voor antibioticumgebruik in varkens. *S. suis* serotype 2 kan ook ernstige infecties bij mensen veroorzaken; in delen van Zuidoost Azië is *S. suis* de meest voorkomende bacteriële oorzaak van humane hersenvliesontsteking. In West-Europa worden met name mensen die beroepsmatig in contact komen met varkens of varkensproducten incidenteel ziek ten gevolg van een *S. suis* infectie. De focus ligt in dit project op serotype 9 stammen, omdat deze op dit moment het meest worden geïsoleerd uit zieke dieren in de praktijk in Nederland, waaruit blijkt dat deze stammen het grootste probleem in Nederland vormen (evenals in de ons omringende landen). De resultaten van dit project dragen bij aan (1) verbetering van dierwelzijn en diergezondheid en daarmee gepaard gaand, een verminderd antibioticumgebruik; (2) verbeterde maatschappelijke acceptatie van varkenshouderij door een verminderd antibioticum gebruik en (3) vermindering van economische schade voor varkensbedrijven.

<b>Aantal opgeleverde producten in 2016</b>			
Wetenschappelijke artikelen	Rapporten	Artikelen in vakbladen	Inleidingen/ workshops/ invited lectures
In 2017 wordt een publicatie voorzien waarin de virulentie-studie wordt gecombineerd met	Halfjaarrapportage 08-2016.	-	-

de sequentiedata.			
-------------------	--	--	--