

FHF prosjekt nr 900658: Multifaktorielle sykdommer i norsk lakseoppdrett

Lill-Heidi Johansen

Prosjektdeltagere:



Aleksei Krasnov, Sven Martin Jørgensen, Gerrit Timmerhaus, Lill-Heidi Johansen (prosjektleder)



Britt Bang-Jensen, Mona Dverdal Jansen, Anja Kristoffersen, Edgar Brun, Seksjon for Epidemiologi
Torunn Taksdal, Seksjon for Patologi



Nina Santi



Vidar Aspehaug

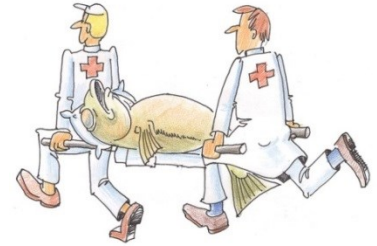
Styringsgruppe:

Kristin Ottesen, Helgeland Havbruksstasjon (leder)
Olav Breck, Marine Harvest
Nina Santi, AquaGen AS
Håvard Hårstad, Lerøy Seafood Group
Arne Guttvik, Salmar
Merete B. Schrøder, FHF (observatør)

Samarbeid med pågående HSMB prosjekter finansiert av NFR og FHF



Bakgrunn



Infeksiøse agens, ofte virus, er årsak til en stor del av tapet i lakseproduksjonen

Vol. 81: 99–107, 2008
doi: 10.3354/dao01954

DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS
Dis Aquat Org

Published August 27

Methods for investigating patterns of mortality and quantifying cause-specific mortality in sea-farmed Atlantic salmon *Salmo salar*

A. Aunsmo^{1*}, T. Bruheim², M. Sandberg¹, E. Skjerve¹, S. Romstad³, R. B. Larssen¹

¹Norwegian School of Veterinary Science, PO Box 8146 Dep, 0033 Oslo, Norway

²National Veterinary Institute, Tungasletta 2, 7485 Trondheim, Norway

³Norwegian Food Safety Authority, Veritsgata 48, 7800 Namsos, Norway

Undersøkelser av 2006G:

-Dødsårsak klarlagt for 92% av de som døde:

-Infeksiøse agens involvert i 64 % av den totale dødeligheten

Forts. bakgrunn



-Noen patogener forårsaker sykdom og dødelighet i kombinasjon med:

- Andre patogener
- Miljøfaktorer
- Stress forårsaket av driftsmessige forhold
- Fysiologiske / endokrine endringer (pre- og post-smolt, kjønnsmodning)

-Bærervirus kan aktiveres og forårsake sykdomsutbrudd I sjø

-IPNV

-PRV?

-Eksempler på virussykdommer der forløp og utfall kan påvirkes av flere faktorer:

- PD (Pancreas Disease)
- HSMB (hjerte og skjellettmuskel betennelse)
- CMS (Cardiomyopati syndrom)

Feltstatus 2011

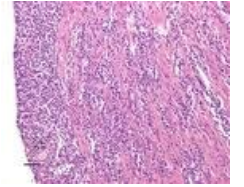
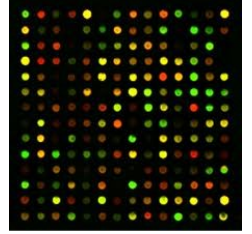


- **Troms og Finnmark**
 - IPN i over 50 % av anleggene
 - HSMB og CMS i mange anlegg (stressrelatert, registrert som bakgrunnsdødelighet)
- **Møre og Romsdal, Trøndelagsfylkene og Nordland:**
 - ”Suksess avhenger av om du får IPN eller ikke”
 - IPN og HSMB ofte sett i kombinasjon

Forts. Bakgrunn

- Lite kjent om verts-patogen interaksjoner og hvilke faktorer som påvirker sykdomsutvikling ved HSMB
- IPNV utbredt I norsk oppdrettslaks både I ferskvann og sjøvann
- Reaktivering til IPN utbrudd rett etter overføring til sjø
- Observasjoner fra felt om at HSMB ofte fulgte etter IPN
 - > **Hvordan påvirker en IPN virusinfeksjon utviklingen av HSMB?**

Tverrfaglig tilnærming nødvendig for å løse multifaktorielle sykdomsproblemer



Virologi, immunologi, patologi, bioinformatikk, molekylærbiologi, epidemiologi, felldata, eksperimentelle forsøk.....

-Benytte "high throughput" metoder (bl.a. microarrays, qPCR) i kombinasjon med tradisjonelle analyseverktøy og epidemiologi for å avklare sammenhenger og årsaksforhold i modellstudier og i felt.

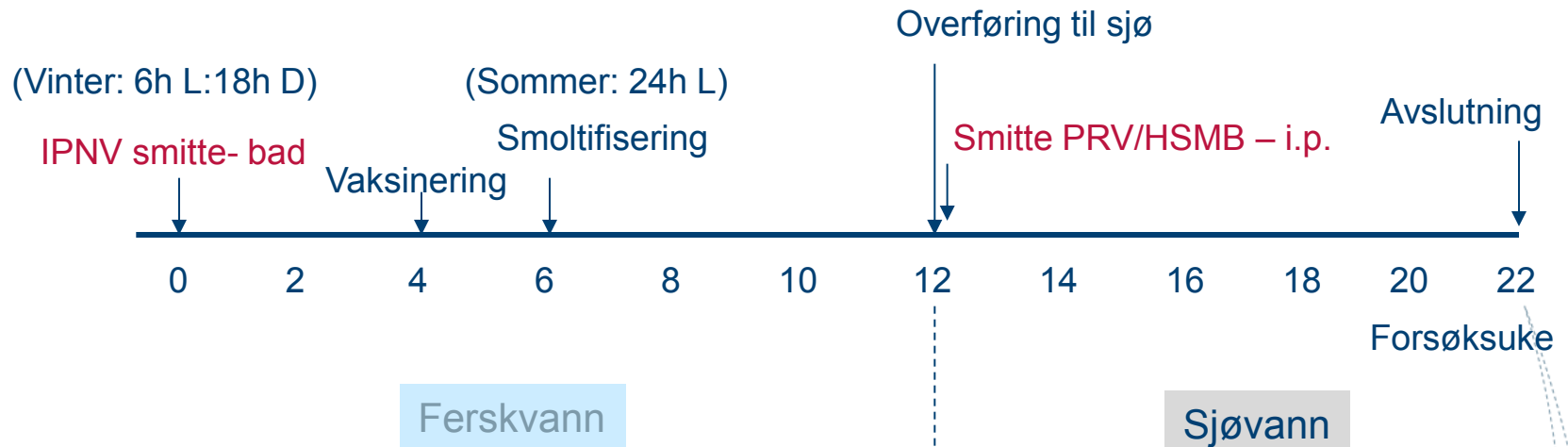
Hovedmål:

- **Øke kunnskapen om utviklingen av multifaktorielle sykdommer; vurdere effekten av ulike variabler og deres interaksjon.**

Delmål:

- Evaluere effekten av ulike variabler på utviklingen av HSMB;
 - genetisk resistens mot IPN
 - IPNV bærer status og reaktivering
 - vaksinerings
 - kombinasjoner av disse
- Evaluere relasjoner i felt mellom IPN status (QTL+/- fisk, IPNV bærerstatus, IPNV reaktivering) i laks i sjøfasen og utbrudd/virustitre av HSMB/PRV
- Identifisere sykdomsmarkører som kan brukes for bedre å kunne evaluere helsestatus på fisken.

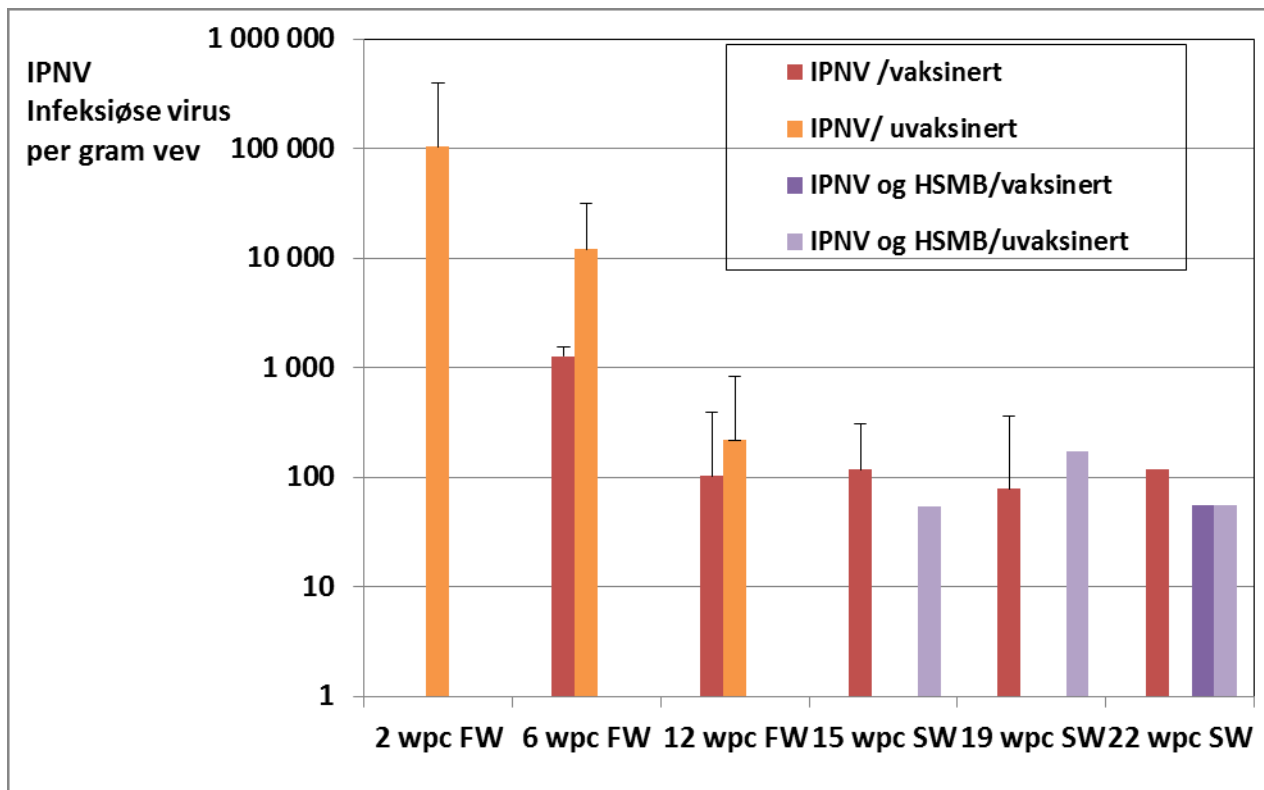
AP1: eksperimentelt smittestudie



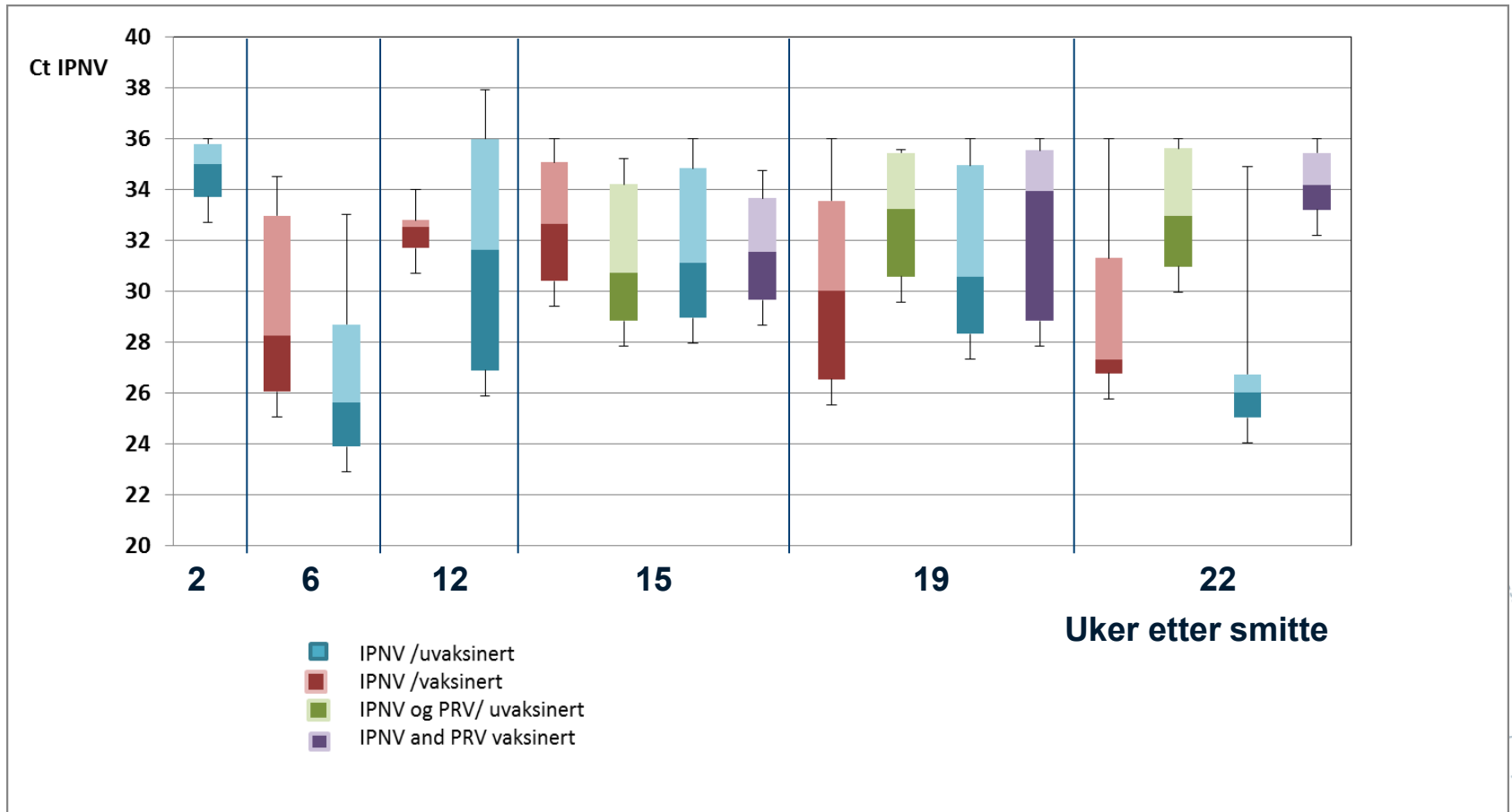
Forsøkene utført ved
Havbruksstasjonen i Tromsø/
Fiskehelselab.



Infeksiøse virus påvist 2-22 uker etter IPNV badsmitte

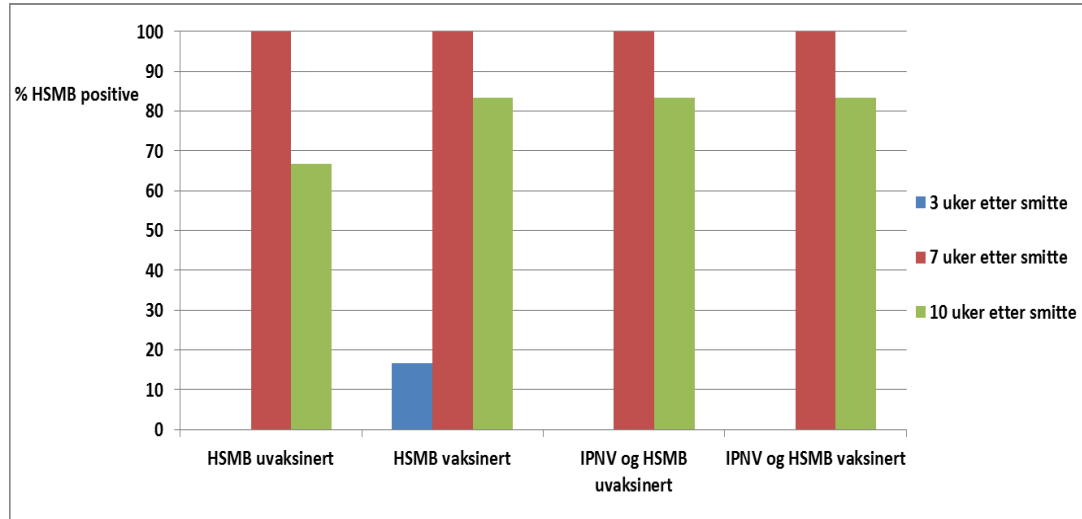


IPNV transkripter påvist 2-22 uker etter badsmitte

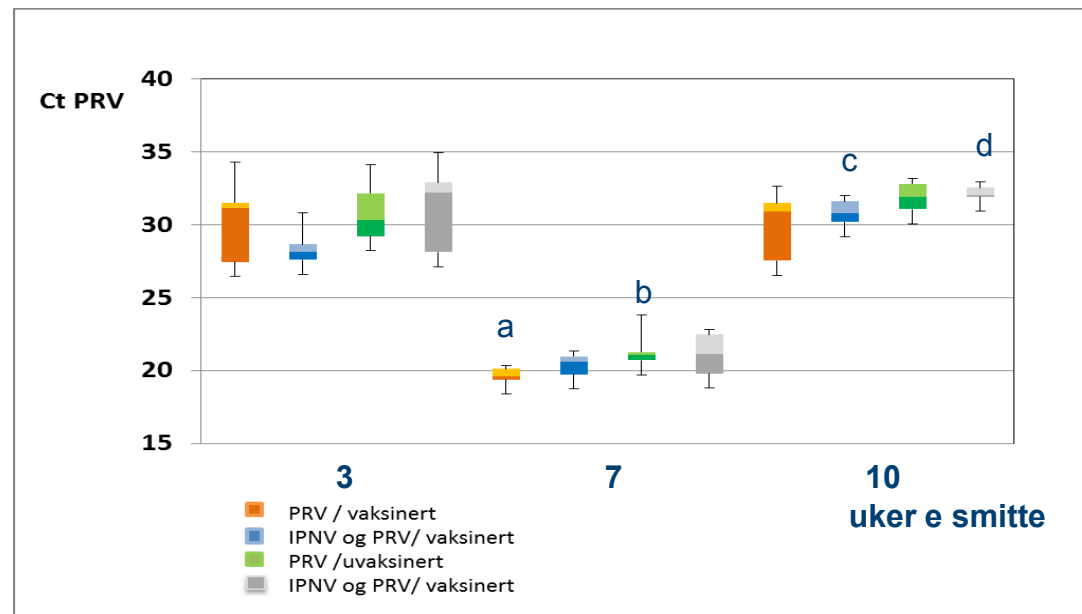


HSMB diagnostikk og PRV påvisning

HSMB positive fisk (%)
basert på histologisk analyse



PRV transkripter
3-10 uker etter i.p. smitte



Uker etter smitte

5

6

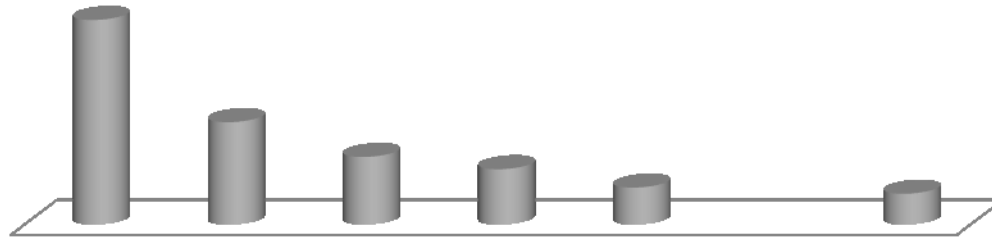
7

8

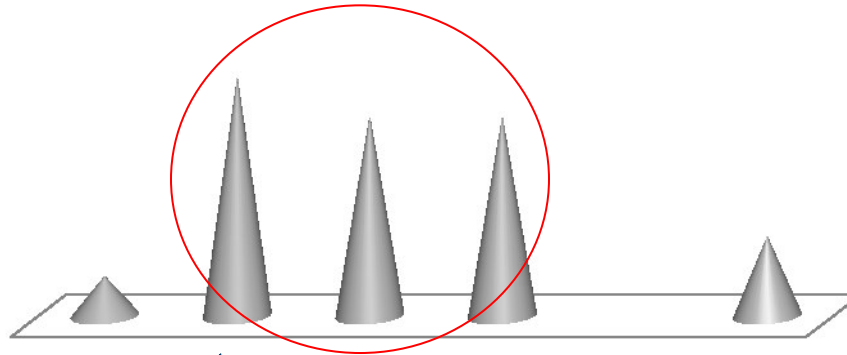
9

11

PRV nivåer
(transkripter)



Hjertepatologi



Alle fisk med HSMB
7 uker etter smitte

(Forsøk, Nofima – test av smittemateriale)

Oppsummering - eksperimentell smittestudie

- Laks ble infisert med IPNV etter badsmitte i ferskvann og en langvarig bærertilstand ble etablert.
 - infeksiøse virus og IPNV transkripter påvist i hele forsøksperioden
- Ingen reaktivering av IPNV med økende virusmengder eller påvisbar sykdom påvist etter overføring til sjøvann.
 - Tidligere vist i flere eksperimentelle forsøk
(Stangeland et al 1996, Johansen et al 2001, 2009, Julin et al akseptert J Fish Dis).
- All fisk diagnostisert med HSMB 7 uker etter i.p. smitte
 - Høyest PRV verdier påvist på dette tidspunktet
 - Ingen uspesifikk beskyttelse i vaksinerte grupper
- HSMB utviklet seg likt i både IPNV bærere og ikke-bærere
 - En bærertilstand med lave IPNV titre påvirker ikke utviklingen av HSMB
 - Det samme tidligere vist i ILAV smittet fisk som var bærere av IPNV
(Melby og Falk, 1995, Johansen og Sommer, 2001).

Transkriptomanalyser

-kort oppsummering av 3 forsøk

1 Usmittet laks under smoltifisering og etter overføring til sjøvann- Nofima

- Massiv immunsuppresjon – spesielt antivirale gener nedregulert
- Ikke gjennomrettet 3 uker etter overføring til sjøvann.
- Forbigående stimulering av B celle immunitet

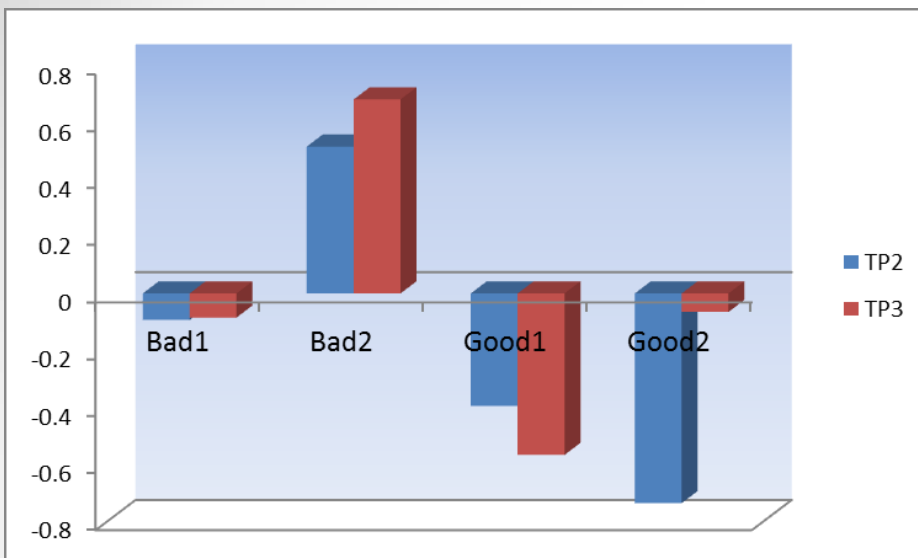
2 HSMB smitteforsøk med parr og smolt- samarbeid med M Dale og E Rimstad, NMBU

- HSMB påvist i smolt - ingen eller svak patologi i parr
- Immunsuppresjon påvist i smolt, men ikke like sterk som i forsøk 1
- Raskere immunrespons i parr (både medfødt og ervervet)

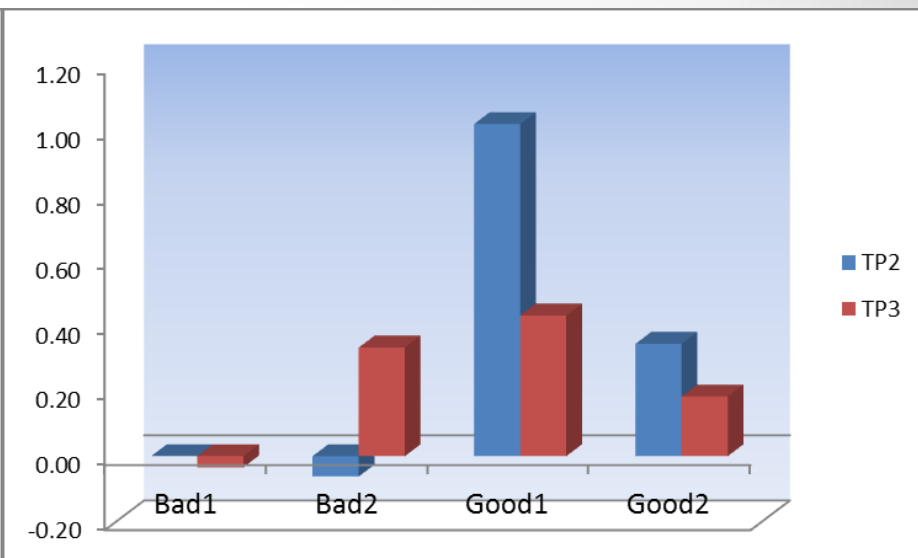
3 Sammenligning av gode og dårlige smoltgrupper- samarbeid med Patogen AS

- Medfødt antiviral immunitet nedregulert i gode smoltgrupper TP2 (midtveis i smoltifiseringen)
- Kompensasjon i én gruppe TP3 (ved sjøvannsoverføring)
- Flux av B celler i gode smoltgrupper

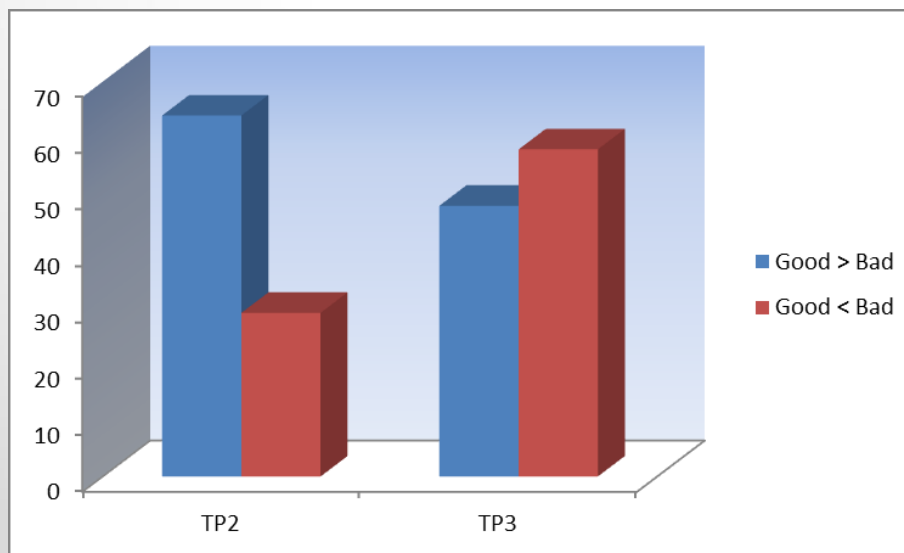
Medfødt antiviral aktivitet



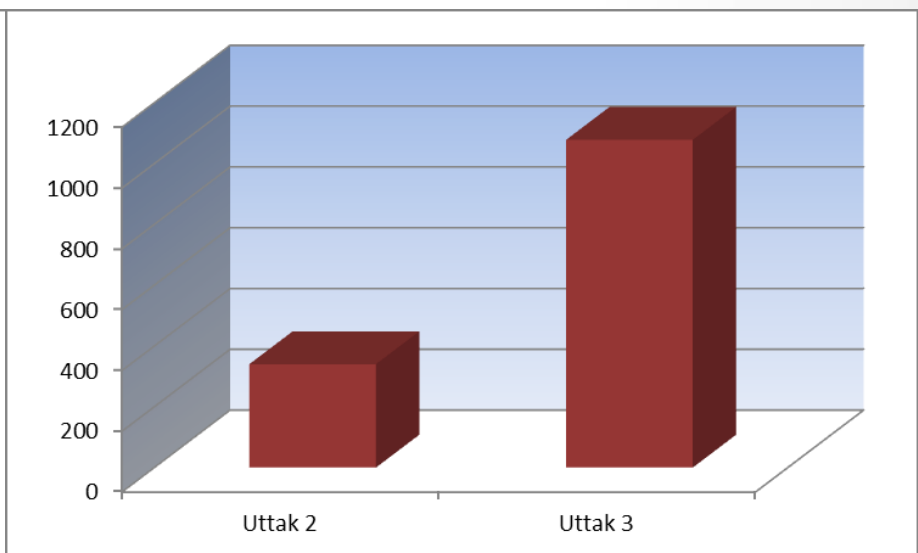
Ig (B celler)



Immungener



Gener med forskjeller god og dårlig smolt



Smoltifisering/sjøvannsoverføring og immunitet:

Effekt	Eksp 1	Eksp 2	Eksp 3
Immunsuppresjon	Sterk	Nei / svak	Delvis
Restitusjon	Nei (3 uker)		Ja, på TP3
Sykdomsresistens	Ikke kjent	Redusert	

-Smoltifisering synes å nedregulere immunsystemet helt eller selektivt – spesielt antiviral immunitet

-Smoltifisering / sjøvannsoverføring kan redusere sykdomsresistensen selv uten at immunsystemet er nedregulert i usmittet fisk

-Sammenhengen mellom immunitet, osmoregulering og smoltifisering er fleksibel og kan være avhengig av timing, genetisk bakgrunn og driftsforhold/miljø

→ Påvirket av virusinfeksjoner?