

# Rognkjeks

## Immunologi og vaksinasjon



Anita Rønneseth, Fiskeimmunologi, BIO, UiB  
**Rensefiskkonferanse 2015, Gardermoen.**

# Patogene bakterier

## Systemiske infeksjoner:

*Vibrio anguillarum* O1 (Hyppigst)

Atypisk *Aeromonas salmonicida*

*Pasteurella*

*Pseudomonas anguilliseptica* (få utbrudd - dødelighet)

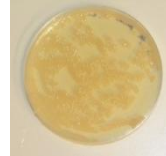
*Vibrio ordalii* (få utbrudd - dødelighet)

## Overflateinfeksjoner:

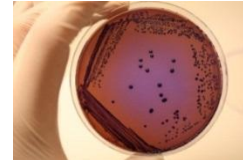
*Tenacibaculum* sp.

*Moritella viscosa*

*V. anguillarum*



Atypisk *A. salmonicida*



*Pasteurella*



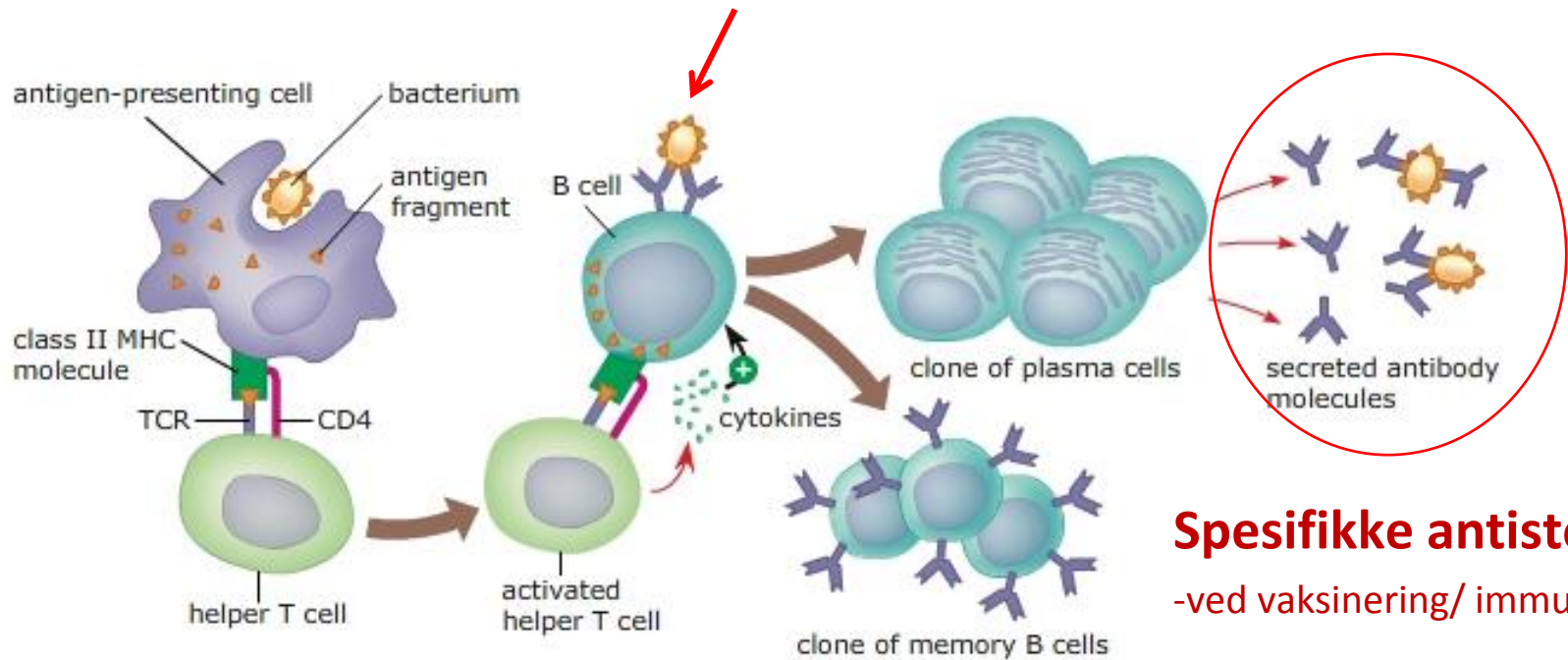
# ROBUST OG **FRISK FISK** ER EN FORUTSETNING FOR GOD VAKSINEEFFEKT



# Hva oppnår vi ved vaksinasjon?

## Medfødt immunrespons

## Adaptive immunrespons

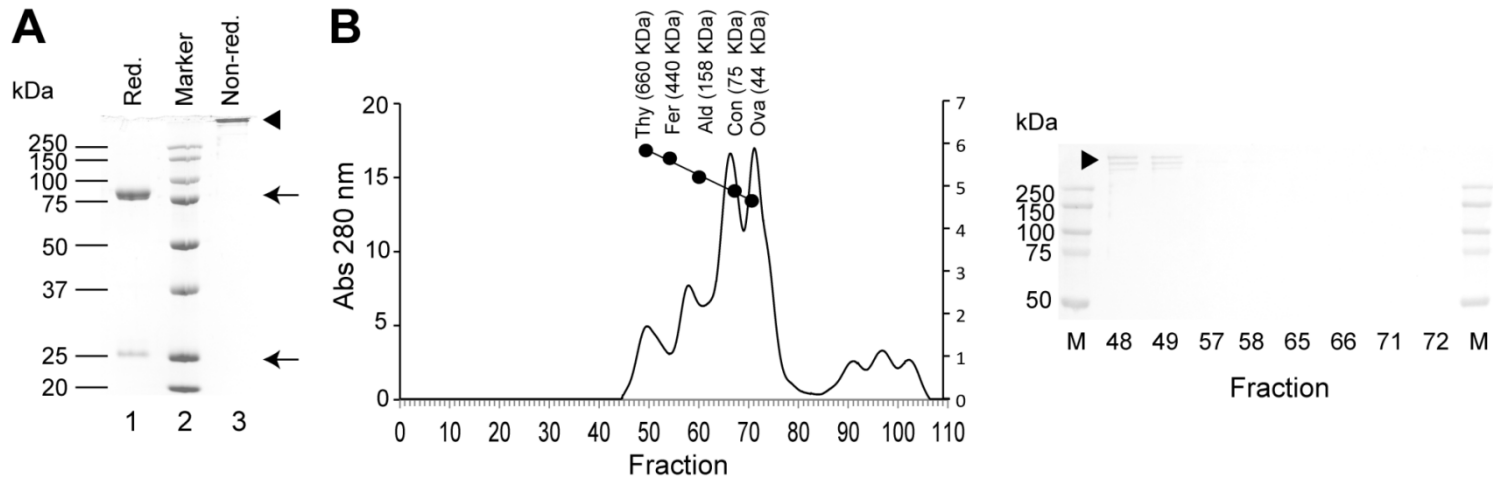


**Spesifikke antistoffer**  
-ved vaksinerings/ immunisering

**Hukommelses celler**

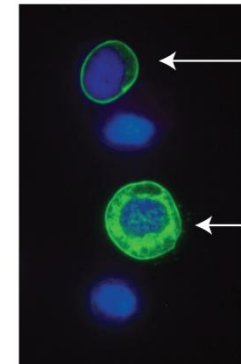
-langvarig beskyttelse ved vaksinerings

# Viktige verktøy for å måle vaksineeffekter



## Kanin anti rognkjeks-IgM

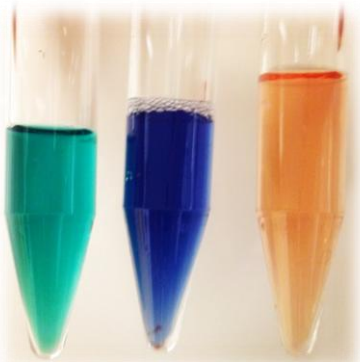
- Analyser av rognkjeksene sine B-celler
- Måle mengde total antistoff i rognkjeks
- Måle spesifikke antistoffer



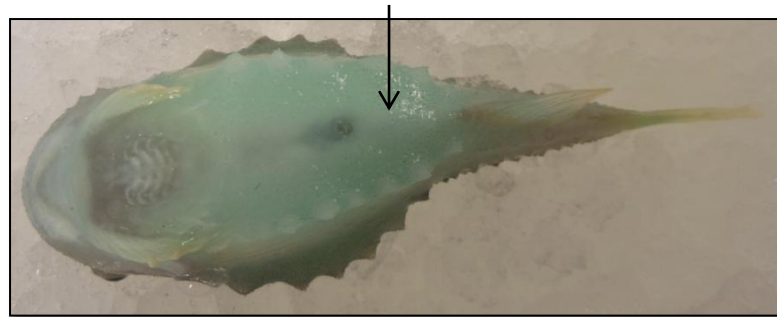
 Kanin anti rognkjeks-IgM

# Produksjon av antiserum i rognkjeks

## Immunisering



- Alle fiskene ble injisert 3 ganger
- Tapping: 19 dager etter  
3. immunisering. Fisk ca. 800 g.



- Atypisk *Aeromonas salmonicida* (2 stammer), *Vibrio ordalii*, *V. anguillarum* (*Listonella*), *Pasteurella* (n=10 fisk pr bakterie)

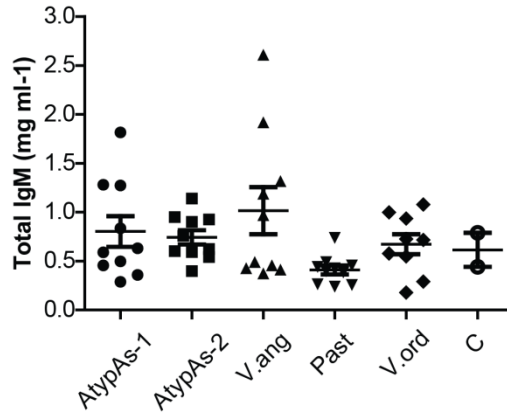




# Adaptiv immunrespons

## Naturlige antistoffer (IgM) i serum

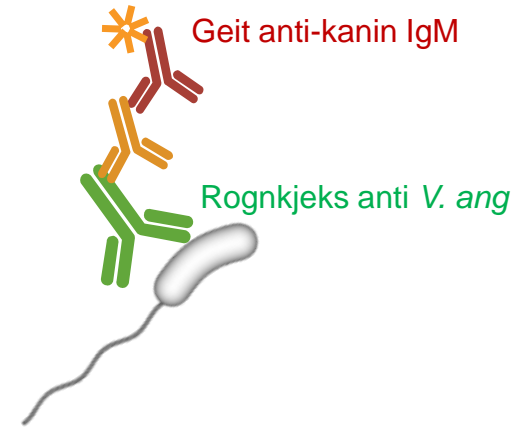
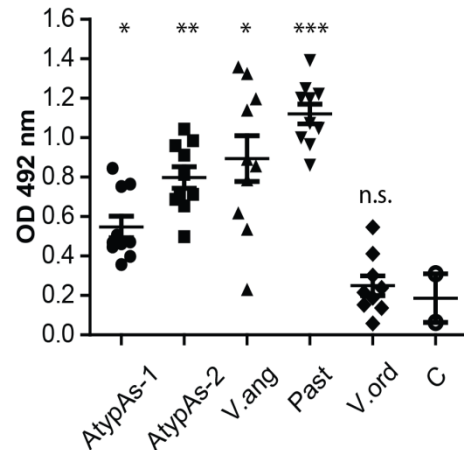
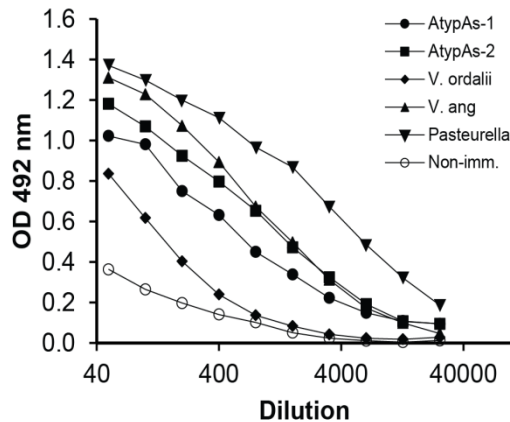
SRID



- Total IgM i serum øker ikke etter immunisering

## Patogen-spesifikke antistoffer (IgM) i serum etter immunisering

ELISA

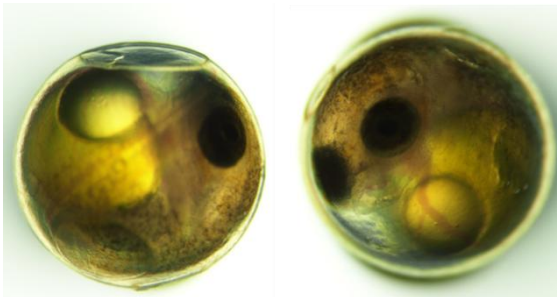


- Spesifikke antistoffer signifikant høyere i immunisert fisk utenom V.ord

- Når kan fisken bad/dypp vaksineres?
- Hvor lang immuniseringsperiode behøves for stikk-immunisert fisk?

### Vi er i gang med innsamling av materiale

- Samarbeid med Fjordforsk AS: egg/larver/yngel. Immunohistokjemi, PCR. Når er immunsystemet modent?
- Samarbeid med PHARMAQ: Serum fra vaksinert fisk samlet ved ulike tidspunkt analyseres i ELISA. Varighet immuniseringsperiode?





# Vaksinasjon; Valg av bakterie isolat i vaksinen er viktig

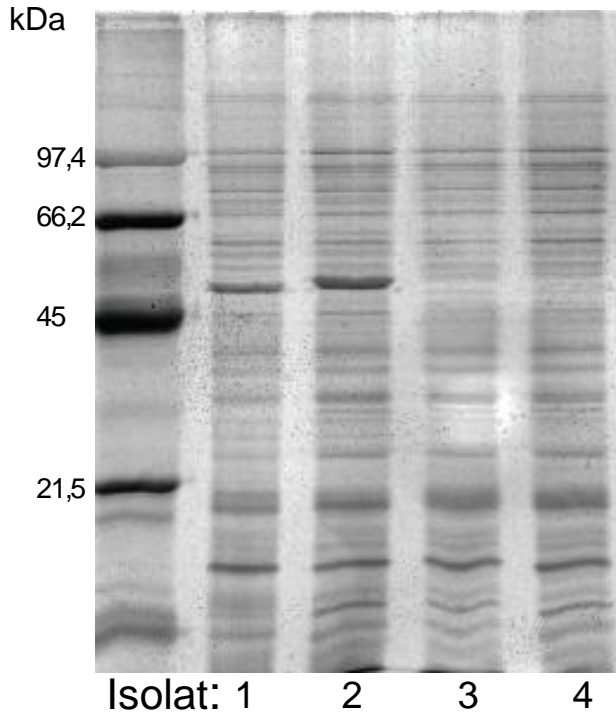
- Bred immunrespons som beskytter mot relevante patogener.
- Karakterisere immunogene komponenter
- Vaksinen må beskytte mot flere «varianter» av samme bakterie.
- Helst èn «variant» av hver bakterie i vaksinen



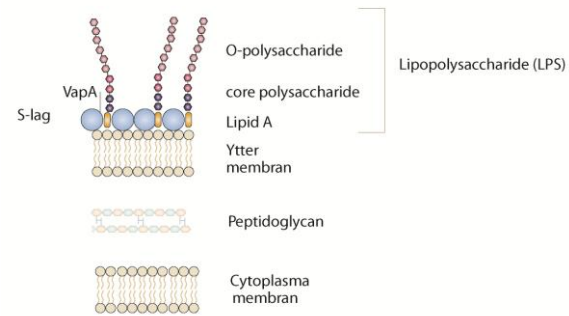
# Atypisk *Aeromonas salmonicida*

Vi ser to varianter i våre analyser

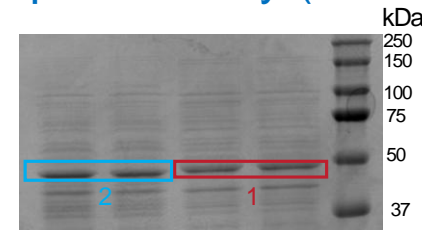
SDS-PAGE Hele bakterier



Isolat 2 og 4 er testet i smitteforsøk



Mass spectrometry (LC MS/MS)



Blant proteiner identifisert var:

- (vapA) A-lag protein



---

U N I V E R S I T E T E T I B E R G E N

Avdeling / enhet



uib.no

# Oppsett vaksineforsøk



## Vaksinegrupper:

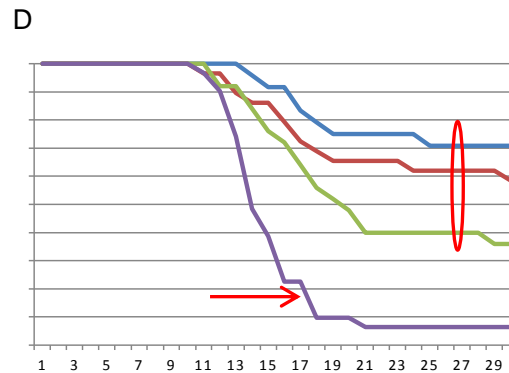
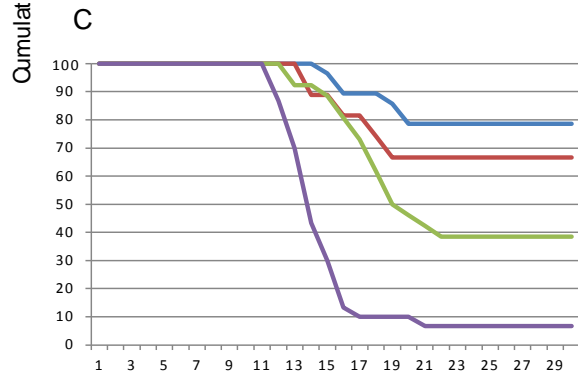
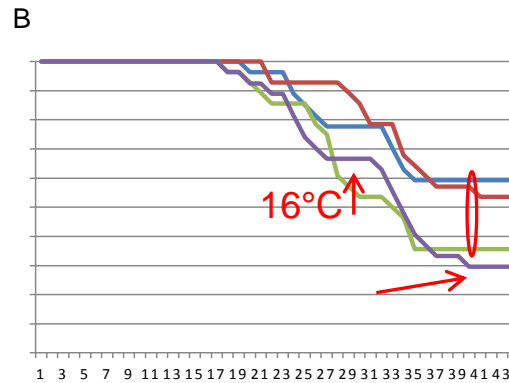
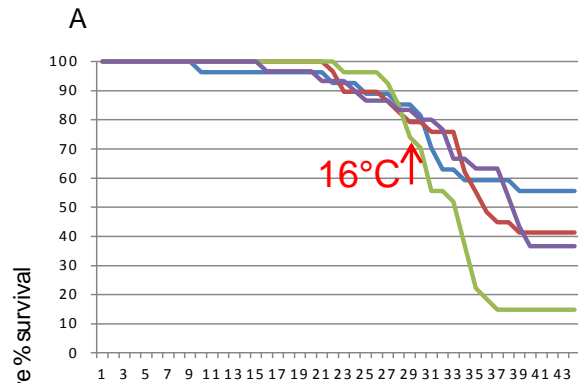
1. Monovalent (Atypisk *A. sal*, *Pasteurella* eller *V. anguillarum*)
2. Trivalent (Atypisk *A. sal* (VapA+), *Vibrio anguillarum* og *Pasteurella*.)
3. ALPHA MARINE® Micro 3 (*V. anguillarum*, atypisk *A. salmonicida*)
4. PBS

25 fisk i hver vaksine gruppe, 100 fisk pr kar. To parallelle kar for hver smittegruppe.

## Smittegrupper:

1. Atypisk *A. sal* (A -)
2. Atypisk *A. sal* (A +)
3. *Pasteurella*
4. *Vibrio anguillarum*

# Atypisk *Aeromonas salmonicida*; smitte av vaksinert fisk



Days post challenge

A-lags positivt isolat i vaksine

- Monovalent (isolat 2)
- Trivalent (isolat 2, *Pasteurella*, *V. anguillarum*)
- ALPHA MARINE micro 3
- uvaksinert (PBS)

A, B smittet med A-lag neg. Isolat  
C, D smittet med A-lag pos. isolat

25 fisk i hver vaksine gruppe, 100 fisk pr kar.

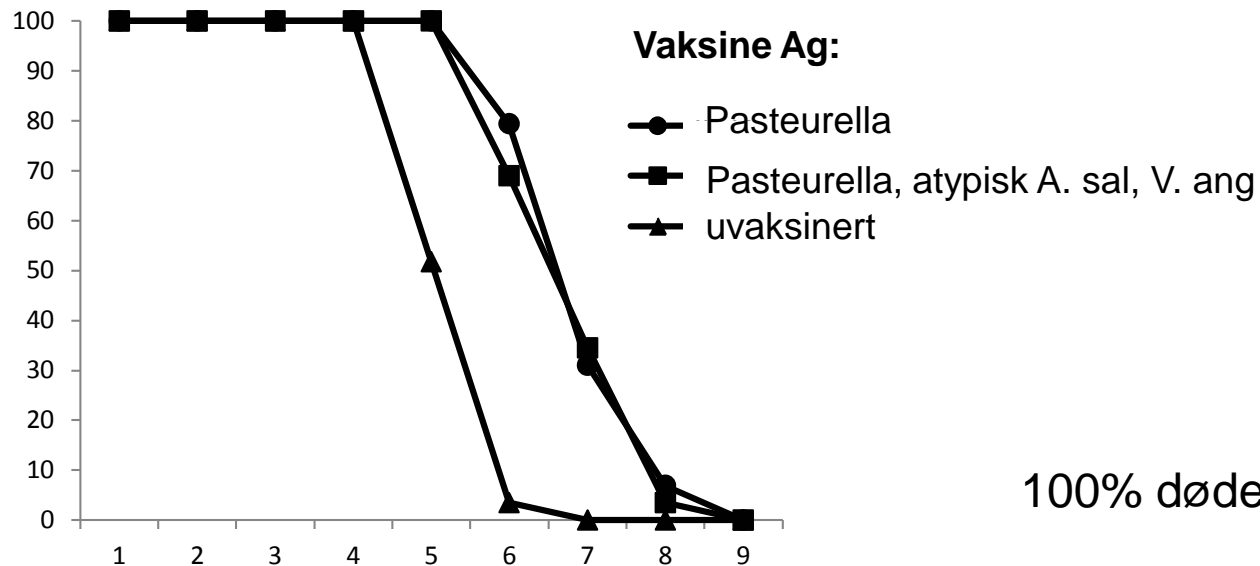
Monovalent og trivalent vaksine gir god beskyttelse

## SMITTE MED ISOLAT 2:

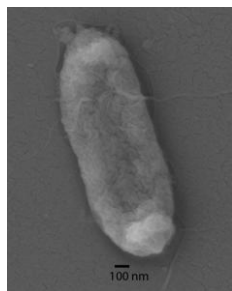
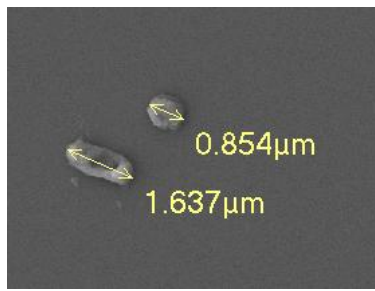
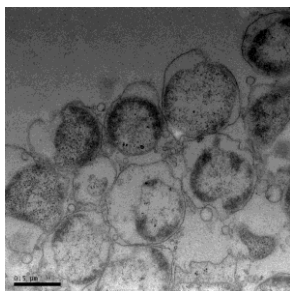
- Statistisk signifikante forskjeller mellom vaksinert fisk (alle grupper) mot uvaksinert kontroll ( $p < 0.0001$ )
- Ikke signifikant forskjell mellom monovalent og trivalent vaksine ( $p > 0.5$ )
- ALPHA MARINE micro 3 mot Trivalent  $p: 0.0123$

# Pasteurella

Smitte av vaksinert fisk

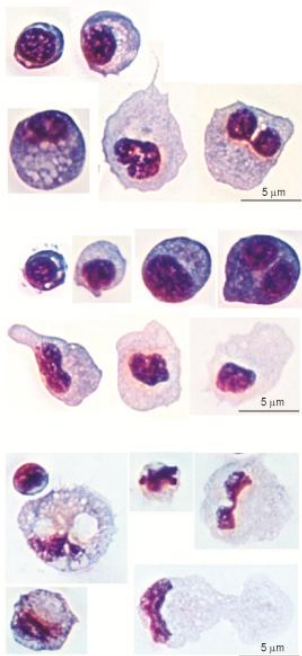


100% dødelighet i alle grupper





# Oppsummering av resultater

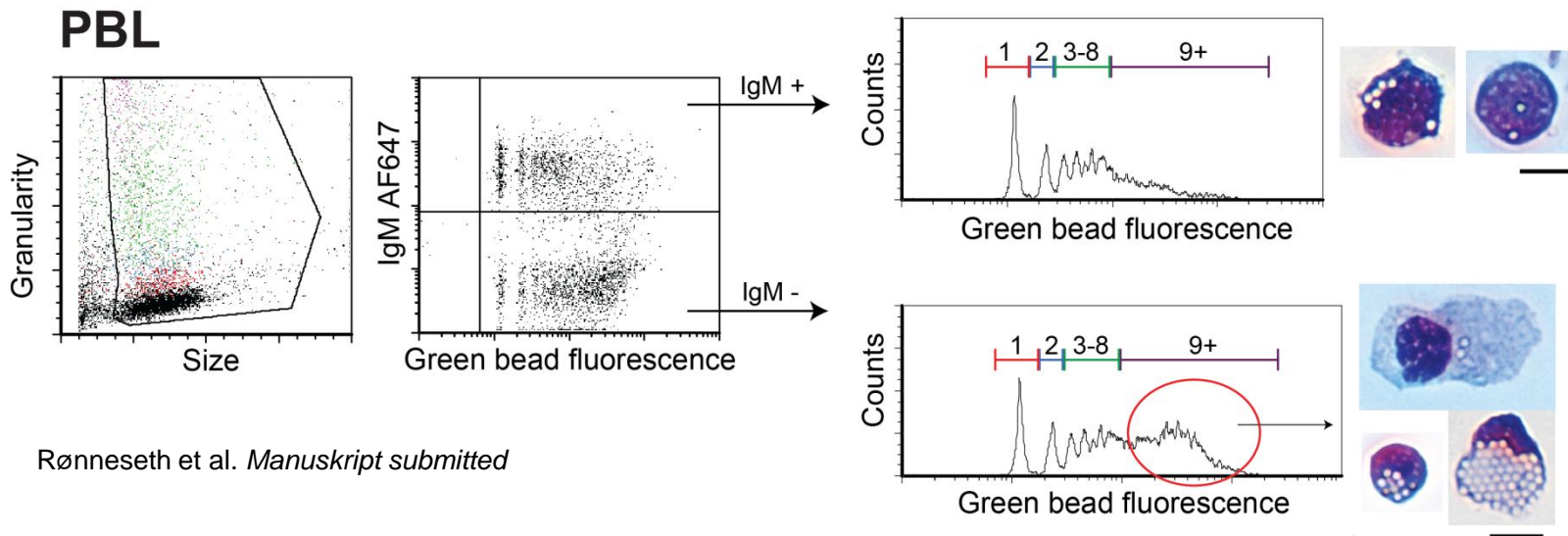


Haugland *et al.* 2012

- Rognkjeksken produserer spesifikke antistoffer ved immunisering (adaptiv immunitet)
- Serum IgM er en tetramer (vanlig hos fisk)
- Vaksinasjon har effekt, men vaksinene må raffineres

# Immunstimulering via fôr?

Rognkjeksken har et godt utviklet medfødt immunforsvar.  
Dette kan potensielt stimuleres i tidlige livsstadier via fôr.



Rønneseth et al. *Manuskript submitted*

**Gyri T. Haugland (UiB)**  
**Heidrun I. Wergeland (UiB)**  
**Espen Brudal (PHARMAQ)**  
**Dawit B. Ghebretnsae (UiB)**  
**Paul H. Løvik (UiB)**

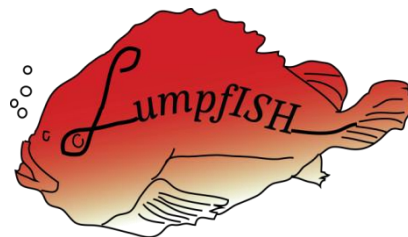
**Takk til:**

FHF (900818)

NFR (244148)

PHARMAQ

Peter Hovgaard (Fjordforsk AS)



Nytt NFR prosjekt: The Cleanerfish **Lump**fish (*Cyclopterus lumpus* L.)  
-**I**mmunity, di**S**eases and **H**ealth

Finn oss på Fish Immunology



uib.no