



TriNation: Åpenhet og samarbeid gir resultater

Konferansen TriNation har siden oppstarten i 2005 hatt som mål å bidra til samarbeid og kunnskapsdeling mellom akademia og oppdrettsindustri i Skottland, Irland og Norge. I starten var pankreassykdom (PD) hovedtema, men i løpet av de snart 20 årene konferansen har vært arrangert har tematikken endret seg og i 2022 samlet 135 deltakere fra 11 land seg til informasjonsutveksling om laksens hjertehelse generelt, og virussykdommene PD, forårsaket av salmonid alfavirus (SAV), kardiomyopatisyndrom (CMS), forårsaket av piscint myokardittvirus (PMCV) og hjerte- og skjellettmuskelbetennelse (HSMB), forårsaket av piscint reovirus (PRV) spesielt.

Tore Hovland, Aqua Kompetanse AS, Chris Mitchell, WellFish Diagnostics AS & Sonal Patel, Veterinærinstituttet

En gjennomgang av status for virussykdommer i Skottland, Irland og Norge viste at tematikken var svært aktuell og CMS fremheves som det klart største problemet i alle tre land, mens PD-situasjonen både i Norge og Skottland er forbedret.

Mindre PD i Norge og Skottland, økning i Irland

Mens det fra Irland ble meldt om økning i PD-påvisninger, er utviklingen i Norge og Skottland mer positiv. Fra 2021 til 2022 rapporteres om signifikant reduksjon av SAV2- og SAV3-påvisninger i Norge. Hva som er årsak til nedgangen er uklart, men mye tyder på at vaksinerings har hatt effekt. I produksjonsområde 7, buffersonen mot PD-fritt område, har det ikke vært påvisninger siden 2020. En kombinasjon av sonevis brakklegging, økt fokus på biosikkerhet etterfulgt av et lokalt initiativ til vaksinerings antas å være nøkkel til suksessen.

Den skotske oppdrettsnæringen er mindre bekymret for PD enn det vi er i Norge. All fisk blir vaksinert, og PCR benyttes til systematisk overvåkning av infeksjonsstatus. Kliniske utbrudd ses sjeldent, og når de oppstår er dødelighet lav mens noe nedsatt appetitt og tilveksttap er mer vanlig.

Liten bekymring for HSMB tross økning i påvisninger

Om TriNation

- Etablert i 2005, etter initiativ fra oppdrettsnæringen i Norge, Irland og Skottland
- Formål: Øke kunnskapsgrunnlaget ved felles formidling av nye resultater om PD
- Agenda senere utvidet til også å omfatte CMS og HSMB
- Samler oppdrettsindustri, akademia, myndigheter og leverandører av fiskehelse relaterte produkter og tjenester til konferanse ca hver 18. måned
- Konferansen ledes av en styringsgruppe bestående av representanter fra hvert land, en lokal organisator og en sekretær
- Neste møte planlegges i Norge våren 2024, nærmere bestemmelse av sted og dato blir snarlig offentliggjort
- Presentasjoner fra TriNation-konferansen 2022 er tilgjengelig på: trination.org
- Nåværende styringsgruppe består av:
 - o Susie Mitchell, Pharmaq Analytics, Irland
 - o Kim Thompson, Moredun Research Institute, Skottland
 - o Camilla MacDonald, MSD Animal Health, Skottland
 - o Marit Stormoen, NMBU, Norge
 - o Sonal Patel, NVI, Norge, Sekretær for TriNation
 - o Tore Hovland, Aqua Kompetanse, Norge; President for TriNation

Scan QR-koden for å gå til TriNations hjemmeside og se flere av innleggene som ble holdt under denne og tidligere konferanser:



Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB) er ikke en stor bekymring i noen av de tre landene. Det gjøres påvisninger langs hele norskekysten, totalt 188 i 2021 mot 161 året før. I Irland har det ikke vært påvist HSMB på oppdrettslaks siden 2015, til tross for at viruset som er assosiert med HSMB, er til stede i sjøen. I Skottland ble det i 2020 gjort 2 påvisninger, uten at fisken så ut til å bli syk.

Laks som er smittet med PMCV og som utsettes for stress, utvikler lettere hjertesykdom (CMS) enn det vi ser hos laks som er smittet med PRV, som ikke utvikler HSMB i samme grad. Det ser altså ikke ut til at stress påvirker fiskens motstand mot HSMB i samme grad som for CMS.

Forsøk viser at stress ikke gir økning i mengde PRV-virus i fisk. Samme forsøk undersøkte om en pågående infeksjon med PRV-virus gjør fisken mindre utsatt for infeksjon med SAV-virus. Det ser dessverre ikke ut til å være tilfelle.

CMS etter stresspåvirkning

Fra norsk oppdrett ble det nok en gang rapportert om generelt høy dødelighet, med CMS som den enkeltårsak som bidrar mest. Virussykdommen er et problem langs hele kysten, med påvisninger i alle produksjonsområder. Også fra Irland og Skottland trekkes CMS fram som det mest alvorlige problemet, med kliniske utbrudd på 6 av de 13 lokalitetene som var i drift i Irland i 2021. Dødelighet opptrer spesielt etter at fisken har blitt håndtert i forbindelse med avlusning som kan påføre stress.

Gjennom konferansens to dager ble det avholdt en rekke presentasjoner om CMS.

Diagnostiske metoder videreutvikles, det forskes på smitteoverføring og vaksiner er under utvikling.

Temperatur påvirker hjertemorfologi og hjertehelse

Som andre dyrearter har laksen et hjerte som påvirkes av livsstil. Det er i settefiskfasen livet til en oppdrettsfisk avviker mest fra villfiskens, og studier viser at høyere intensitet, dvs økt temperatur og lysstyring, vil gi større endringer på hjertet enn om fisken holdes på lavere temperatur og naturlig lysregime.



Deltakere ved TriNation 2022, Royal College of Physicians, Edinburgh.

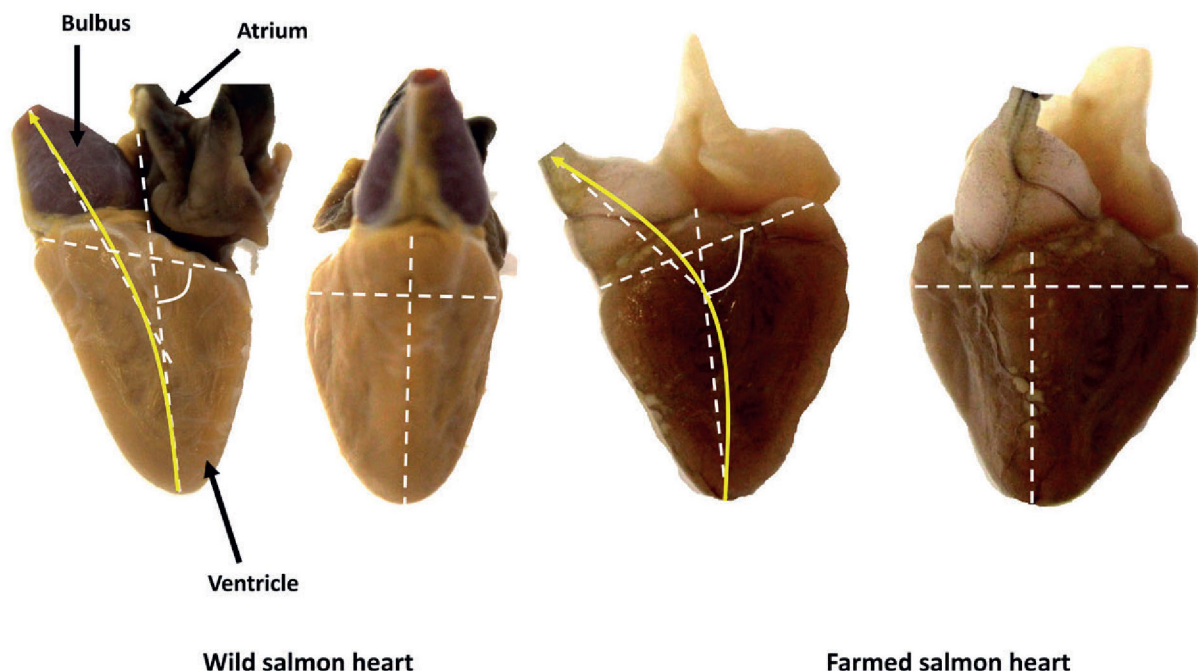
Det kom frem at fisk med CMS blir enda mer svekket når hjertefasongen ikke er normal. Avvikende hjertefasong kan omfatte avrundede ventrikler, skjev bulbus arteriosus og et tykkere compactum i ventrikkel. Sistnevnte dysmorfi/deformitet kan være mer utbredt hos høstsmolt enn vårsmolt fordi vårsmolten har utviklet seg langsommere.

Hjertehelsen ser også ut til å påvirkes av temperatur. Akutt termisk sjokk kan føre til redusert arteriell blodtilførsel (og i forlengelsen også oksygen) til myokardiet.

Nylig har hittil uforklarlige lesjoner blitt beskrevet i dette området og tilskrives koronararteriespasmer som er godt beskrevet fra humanmedisin.

Termisk sjokk kan komme enten i form av både rask temperaturøkning, for eksempel ved avlusning, eller når fisk overføres fra en lokalitet til en annen. Det er faktisk observert ventrikulære lesjoner i regnbueørret overført til sjøvann ved mellom 2-4°C.

Ørretens hjertehelse påvirkes i stor grad av vanntemperaturen. Når ørret blir smittet med PRV-3 og holdt ved 5 °C, så man mer alvorlig hjertepatologi enn tilsvarende smittet fisk som ble holdt ved høyere temperaturer. Dette har blitt tilskrevet høyere virusreplikasjon, kombinert med en redusert hastighet av viral «clearance»



Hjertet til oppdrettslaks med en mer avrundet ventrikkel (høyre) avviker fra hjertet til vill atlantisk laks som har en tydelig trekantet formet ventrikkel (venstre). Illustrasjon og bilder av Ida Beitnes, NMBU, Norge.

av verten ved lavere temperaturer i den beskrevne studien.

Vertens respons på infeksjon og utvikling av nye diagnostiske verktøy

Vertens evne til å reagere på infeksjon ser ut til å variere gjennom infeksjonsforløpet. En rekke responser, inkludert regulering av interferon, proteolytiske enzymer samt antigenhåndtering og presentasjon, forekommer på ulike tidspunkt i infeksjonsforløpet og kan kartlegges i løpet av en infeksjon. Dette har det blitt rapportert om fra hjertet til PMCV-infisert fisk. Fra den aktuelle studien ble det beskrevet signifikant nedregulering av en rekke immunresponsveier 8 uker etter infeksjon, og dette kan være kritisk tidspunkt i utviklingen av sykdommen, spesielt i hjertet.

For PMCV er det blitt spekulert over at dersom viruset skal replikere (i likhet med andre medlemmer av virusfamilien det tilhører; Totiviridae-familien) er det nødvendig at spesielle encellede organismer er til stede i laksen, fordi viruset ikke kan replikere i laksens celler. Den dominerende formen for viralt RNA som er funnet i spongiosum-delen av hjertet er enkeltrådet (mRNA), mens det finnes

lite eller ingen dobbeltrådet form av RNA. Dette kan tyde på at det som er nødvendig for at viruset skal kunne sette sammen det ytre kapsidet mangler og dermed klarer ikke viruset å fullføre livssyklusen i organet det hovedsakelig befinner seg i.

I tillegg til immunregulering som respons på infeksjon er det en rekke andre responser som kan måles og overvåkes i blodet til infisert fisk.

En feltbasert proteomikk-studie av laks som gjennomgikk smitte med CMS viste at i tillegg til fire biomarkører som tradisjonelt er assosiert med hjertesykdom (kreatinkinase, laktatdehydrogenase, laksehjertepeptid og troponiner) var over 100 andre proteiner forhøyet i fisk som var infisert med PMCV, men ikke klinisk for sykdommen.

Påvisning av biomarkører for spesielle sykdomstilstander hos fisk er viktig for å kunne påvise sykdom tidlig og dette forskes det på for en rekke arter.

Håpet er at biomarkørprofiler vil bli nyttige prediktive verktøy i tidlig diagnose av sykdom så vel som andre helseproblemer der bruk av AI og utvinning av store datasett vil være avgjørende.

Utvikling og tilpasning i bruk av nye diagnostiske teknikker vil være viktig for å holde tritt med utvikling og endringer som skjer i produksjonsmetoder som eksempelvis RAS. Nye metoder som mikrofluidisk qPCR er i utvikling for å øke kunnskap om- og for å skille de sykdomsfremkallende fra de gode mikroorganismene nødvendig for RAS driften. Det er viktig spesielt i RAS-anlegg, å få forbedret forståelse om hva patogenutskillelse fra noen få fisk som kan være syke betyr for kohabiterende fisk. Infeksjonsdynamikken studert i perioden 10 til 31 uker etter infeksjon hos pre-smolt infisert med PRV-1 viste at selv om veksten for infisert fisk er betydelig redusert, blir ikke tilstrekkelig nok virus skilt ut fra infisert fisk til å gi økt fare for videre smitte. Selv om viruset kan forbli i blodet og lymfoide organer, er utskillelsen lav og fører dermed ikke til potensiell fare for horisontal smitteoverføring.

Virussykdommer som rammer hjertet, spesielt CMS, ble sammen med lakselus, omtalt som de viktigste sykdomsproblemene norsk havbruk står overfor. Det fremhever behovet for å forbedre de diagnostiske metodene.

Disse inkluderer påvisning av PMCV-spesifikt RNA i blodplasma som en tidlig indikator på viremi, som er mer sensitiv og robust metode enn immunhistokjemi, som fortsatt vurderes som verdifull støtte til tradisjonell histopatologi.

Den fortsatt viktige betydningen av histopatologi som gullstandard for å differensiere mellom de tre viktigste virusinduserte myokarditt-relaterte sykdommene (CMS, PD og HSMB) ble understreket blant TriNation-delegatene.

For vurdering av hjertehelse er utvikling av en universell akseptert metode for skåring avgjørende. Et godt samarbeid mellom forskningsinstitusjoner og industrien vil her være viktig

Molekylære studier og vaksineutvikling

Molekylære studier er avgjørende både for utvikling av vaksiner (spesielt mot patogener som er vanskelige å dyrke) og for å forbedre vår forståelse av hvordan patogener endres når de infiserer og passerer gjennom populasjoner.

Variasjoner i virale genomer er kjent for å påvirke vert-patogen-interaksjonen i mange pattedyrvirus. For PCMV ser det ut til at infeksjonsutviklingen påvirkes, men årsaker til dette kan ennå ikke forklares. Det pågår studier for å undersøke hvordan defekte, eller endrede, virale genomer i PCMV, samt SAV2 og SAV3 kan påvirke både infeksjonsutvikling og smitteoverføring og dermed utviklingen av effektive vaksiner. Vår evne til raskt å utvikle nukleinsyrevaksiner ble godt illustrert i tilfellet med SARS Covid 19.

Nå er også vaksiner for virussykdommer hos fisk med både plasmid- og mRNA-teknologi under utvikling.

Vaksineeffektivitet måles ikke bare i form av å forhindre dødelighet, men også ved redusert virusutskillelse, samt redusert indre vevsskader i infisert fisk.

SAV2 har historisk vært en utfordring i Nord-Trøndelag. Her ble det gjennomført et vellykket utryddelsesprogram, med vaksiner som en viktig komponent i tillegg til styrking av andre biosikkerhetstiltak for å holde regionen fri for denne smittsomme sykdommen. Siste SAV2-påvisning ble registrert i 2019, og det

har ikke vært registrert smittet fisk i dette området siden september 2020.

I de første TriNation-møtene som ble avholdt var vaksinediskusjonen fokusert på ett enkelt produkt. Mye har endret seg siden den gang, og nå har både utvikling av nye vaksiner og effekten av eksisterende fått oppmerksomhet.

Følgelig ble nye forsøksdata på effekt av en nukleinsyrevaksine til PD presentert, samt ny forskning på utvikling av vaksine mot CMS. For detaljer om forfatterskap av materialet som er oppsummert her, oppfordres leserne til å besøke Trination.org

Neste TriNation konferanse planlegges holdt i Norge våren 2024

Kommende konferanse er under planlegging og nærmere bestemmelse av sted og dato blir snarlig offentliggjort.

For neste konferanse ser vi frem til en sterkere deltagelse fra næringsaktører med faglige innlegg og til gode diskusjoner om temaene som berører disse viktige virusene som påvirker fiskehelsen •



Noen av medlemmene av styringskomiteen og referansegruppe som var til stede ved TriNation 2022. Fra venstre: Susie Mitchell (Irland), Chris Mitchell og Kim Thompson (Skottland), og Sonal Patel, Tore Hovland og Anne Berit Olsen (Norge).