

Sluttrapport for FHF-prosjektet Rensefisk Tapsårsaker og forbyggende tiltak (900818)

Eirik Biering





Veterinærinstituttets rapportserie · 17 - 2015

Tittel

Sluttrapport for FHF-prosjektet Rensefisk Tapsårsaker og forebyggende tiltak (900818)

Publisert

Veterinærinstituttet · Pb. 750 Sentrum · 0106 Oslo

Form omslag: Graf AS

Forsidefoto: Biopix

Bestilling

kommunikasjon@vetinst.no

Faks: + 47 23 21 60 01

Tel: + 47 23 21 63 66

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

Forslag til sitering:

Biering, Eirik. Sluttrapport for FHF-prosjektet Rensefisk Tapsårsaker og forebyggende tiltak (900818) Veterinærinstituttets rapport-serie 17-2015. Oslo: Veterinærinstituttet; 2015

© Veterinærinstituttet

Kopiering tillatt når Veterinærinstituttet gjengis som kilde



Veterinærinstituttets rapportserie
— Norwegian Veterinary Institute's Report Series

Report 17 · 2015

Sluttrapport for FHF-prosjektet Rensefisk Tapsårsaker og forbyggende tiltak (900818)

Forfattere

Eirik Biering

Oppdragsgiver

Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond - FHF

August 2015

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave



Veterinærinstituttet
— Norwegian Veterinary Institute

Sammendrag

Det FHF-finansierte prosjektet Rensefisk: Tapsårsaker og forbyggende tiltak, prosjektnummer 900818, ble opprettet fordi næringen ønsket mer kunnskap om dødelighetsårsaker hos rensefisk. Det var et stort behov for kunnskap om helsetilstanden til rensefisken som brukes ute i merdene, både faktiske tall på overlevelse etter utsett i merd og årsakene til sykdom og dødelighet. Det var også et sterkt ønske fra næringsaktører at det ble satt i gang et initiativ som kunne stimulere utviklingen av vaksiner til de forskjellige rensefiskartene.

Prosjektet har hatt som mål å generere kunnskap som på både kort og lengre sikt har praktisk anvendelse. Det har vært gjennomført en systematisk kartlegging av dødelighetsårsaker hos merdsatt rensefisk. Prosjektet har også samlet inn og karakterisert sykdomsfremkallende bakterieisolat fra rensefisk og utviklet smitte-modeller til bruk i vaksineutvikling hos berggyllt og rognkjeks. Det er også produsert to oversikter over sykdomsfremkallende organismer som forekommer hos de forskjellige rensefiskartene.

Prosjektet har vært et samarbeid mellom Veterinærinstituttet (VI), Havforskningsinstituttet (HI) og Universitetet i Bergen (UiB). Veterinærinstituttet har hatt overordnet prosjektledelse, og prosjektgruppen har bestått av Eirik Biering (prosjektleder), Arve Nilsen, Torkjel Bruheim (prosjektleder i en periode), Duncan Colquhoun og Øyvind Vågnes (nå ansatt hos Vaxxinova) fra Veterinærinstituttet, Heidrun Wergeland og Anita Rønneseth fra Universitetet i Bergen og Egil Karlsbakk fra Havforskningsinstituttet. Styringsgruppen har bestått av Marianne Halse (Havbrukstjenesten/Salmar), Torbjørn Munkejord Pedersen (FoMAS) Tom Christian Tonheim (Marine Harvest), Aoife Westergård (Aqua Kompetanse) og Nils Fredrik Vestvik (Aqua Kompetanse).

Trondheim, august 2015



Eirik Biering
prosjektleder

Innhold

Sammendrag.....	4
Innhold	5
Arbeidspakke 1: Kartlegging av helse og dødelighet hos rensefisk, innsamling av isolater (hovedansvar VI)	6
Arbeidspakke 2: Utvikling av smitte modeller på oppdrettet berggyllt (hovedansvar VI).....	6
Arbeidspakke 3: Utvikling av smitte modeller på oppdrettet rognkjeks (hovedansvar UiB).....	7
Arbeidspakke 4: Sammenstilling av kjent kunnskap (hovedansvar HI)	8
Oversikt over hovedleveranser og ringvirkninger av prosjektet.....	8

Arbeidspakke 1: Kartlegging av helse og dødelighet hos rensefisk, innsamling av isolater (hovedansvar VI)

Denne arbeidspakken omfattet utforming av en felles mal for helseregistrering og bruk av denne malen i utvalgte anlegg spredt langs kysten for å samle inn helsedata og diagnostisk materiale fra merdsatt rensefisk og oppdrettet rognkjeks. Innsamling av helsedata foregikk i tett samarbeid med oppdrettslokaliteter og deres helsetjenester. Helsetjenestene hadde ansvar for uttak og innsending av prøvemateriale til fortløpende diagnostikk (bakteriologi, histologi, virologi eller PCR). Hovedleveranser er en mal for helseregistrering og en rapport med oversikt over dødelighetsårsaker.

Arbeidspakken hadde to hovedmålsettinger; å kartlegge dødelighet og dødelighetsårsaker ved bruk av rensefisk i norsk lakseoppdrett, og å samle inn et best mulig diagnostisk materiale og bakterieisolater fra oppdrettsanlegg fra Rogaland til Nordland. 17 sjølokaliteter og ett landbasert anlegg ble fulgt i perioden juni til november 2013. Det landbaserte anlegget produserte rognkjeks for utsett i sjø. I sjøanleggene med laks ble det benyttet mange ulike typer rensefisk; rognkjeks, berggyllt, grønngyllt, gressgyllt, blåstål/rødnebb og bergnebb. Alle leppefisk var villfanget og alle rognkjeks som ble satt ut i perioden var oppdrettet.

I en periode på 6 måneder ble det satt ut 934 935 rensefisk og registrert 310 043 (33 %) dødfisk. Registrert dødelighet var lavest hos berggyllt (18 %), for de andre artene var registrert dødelighet fra 32 til 48 %, høyest hos rognkjeks. De viktigste registrerte dødelighetskategoriene var sår og finneråte (19 %), bakterielle infeksjoner (14 %), mekanisk skade (6 %) og kjønnsmodning (3 %). Fisk uten noen nærmere angitt diagnose utgjorde 56 %. Noen av de første partiene med leppefisk hadde innslag av kjønnsmodning, blant disse ble det observert økt dødelighet umiddelbart etter utsett. De mest alvorlige dødelighetsepisodene etter dette skyldtes akutt utbrudd av bakteriell smitte hos rensefisken etter utsett i merd (*Pasteurella* sp., atypisk *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum*) eller driftsmessige problemer i anlegget knyttet til vær, hyppig dødfiskopptak av laks, notvask eller medikamentell behandling av laksen mot lakselus. På lokaliteter med dødelighet hos laks på grunn av PD eller amøbegjellesykdom var dette en spesielt stor utfordring.

På grønngyllt ved tre lokaliteter i Rogaland fant vi gjelleskader og parasittfunn forenelig med diagnosen amøbegjellesykdom (*Paramoeba perurans*). Vi fant et bredt spekter av bakterier fra syk eller død rensefisk, men som regel i form av blandingsflora der det var vanskelig å stille sikre årsaksdiagnoser (*Vibrio anguillarum*, *Vibrio splendidus*, *Vibrio logei*, *Vibrio tapetis*, *Vibrio wodanis* og andre vibrioarter). Det ble påvist sporadisk forekomst av ektoparasitter (*Trichodina* sp. og andre ciliater på gjeller), men dette ble ikke knyttet til større helseproblemer. Forekomst av nematoder (trolig *Hysterothylacium aduncum*) i bukhule og organer var vanlig på villfanget bergnebb.

Vi har vist at det er stor variasjon i overlevelse og årsak til dødelighet mellom ulike utsett og ulike anlegg, at det er mulig å ha gode registreringer på merdnivå, men også at store grupper av rensefisk kan dø eller forsvinne uten at det var mulig å finne sikre årsaker til dette tapet. På bakgrunn av resultatene fra prosjektet og erfaringsdata fra deltakerne anbefaler vi at det innføres stopp i bruk av artene rødnebb / blåstål og gressgyllt som rensefisk.

Arbeidspakke 2: Utvikling av smitte modeller på oppdrettet berggyllt (hovedansvar VI)

Hovedmålet med denne arbeidspakken var å utvikle smitte modeller for viktige bakterielle agens i oppdrettet berggyllt. Samtidig ble det samlet inn og typet flere bakterieisolat for å opprettholde oversikten over feltsituasjonen. Hovedleveranser var smitte modeller og rapporter og publikasjoner hvor disse beskrives.

Smitte modeller er et nødvendig verktøy innen vaksineutvikling for å teste effekten av eksperimentelle vaksineformuleringer. I utgangspunktet skulle vi utvikle smitte modeller med atypisk *Aeromonas salmonicida* og *Vibrio splendidus*. Mens arbeidet med *Aeromonas salmonicida*

pågikk viste annen forskning og diagnostikk at *Vibrio splendidus* sannsynligvis ikke er en viktig primærpatogen for berggylt. Det ble derfor besluttet å jobbe med *Vibrio anguillarum* i stedet.

Oppdrettet berggylt ble smittet med to stammer atypisk *Aeromonas salmonicida* som begge var isolert fra berggylt med høy dødelighet i felt. Forsøkene viste at begge stammene induserte dødelighet på et nivå som er egnet for vaksineuttesting når de ble injisert i buken på fisken, men bare en av stammene indusert høy nok dødelighet når smitten ble overført fra fisk som hadde blitt injisert med bakterier (kohabitering). For lav dødelighet i smitte modeller gjør det vanskelig å skille effektive vaksiner fra dårlige, men 100 % dødelighet gjør det umulig å kalkulere beskyttelsen fra vaksinen nøyaktig, og det blir dermed vanskelig å sammenligne grupper.

Vaksine blir injisert i bukhulen på fisk, og vaksinen blir værende der som et depot. Dette betyr at bukhulen har høy immunologisk aktivitet etter vaksinerings. Når man smitter fisk ved injeksjon på samme sted, vil man ofte se en mer effektiv eliminering av smitten enn dersom man hadde smittet på en annen måte. Det betyr at man kan overvurdere effekten av vaksinen ved å bruke injeksjon i bukhulen som smittevei. Samtidig er det ofte tilfelle at injeksjon i bukhulen er eneste metode som gir en smitte modell med tilstrekkelig høy dødelighet. Atypisk *Aeromonas salmonicida* ble reisolert fra død fisk og funnet i vevslesjoner ved immunhistokjemi. Vi konkluderer med at de beskrevne modellene, og spesielt kohabiteringsmodellen, er lovende for testing av vaksiner mot atypisk *Aeromonas salmonicida* i berggylt.

To stammer *Vibrio anguillarum* serotype O1, en isolert fra oppdrettslaks og en fra villfanget berggylt ble testet. Bare laksestammen induserte dødelighet på et nivå som er egnet for vaksineuttesting når de ble gitt ved injeksjon i bukhulen. Bad- og kohabitantsmitte resulterte i ingen eller lav dødelighet og er derfor å betrakte som uegnet for bruk i vaksinetesting. *Vibrio anguillarum* ble reisolert fra all død, smittet fisk som ble undersøkt. Vi konkluderer med at injeksjonsmodellen er lovende for testing av vaksiner mot *Vibrio anguillarum* i berggylt.

Fisken ble oppbevart i smittelaboratoriet på samme temperatur som den hadde gått på da den ble hentet fra oppvekstanlegget. 1 uke før smitte ble temperaturen gradvis øket til 15 °C. Denne temperaturøkningen kan ha vært avgjørende for at modellene virket.

Arbeidspakke 3: Utvikling av smitte modeller på oppdrettet rognkjeks (hovedansvar UiB)

Hovedmålet med denne arbeidspakken var å utvikle smitte modeller for viktige bakterielle agens i oppdrettet rognkjeks. Hovedleveranser var smitte modeller og rapporter og publikasjoner hvor disse beskrives. Det har blitt utviklet smitte modeller mot *Vibrio anguillarum*, atypisk *Aeromonas salmonicida* og en stamme *Pasteurella* sp. isolert fra rognkjeks.

Vibrio anguillarum (isolat 8752) gav passende dødelighet ved badsmitte, men noe høy dødelighet ved stikksmitte. Smitten gav høy dødelighet ved forholdsvis lav vanntemperatur. Siden utbrudd av vibriose i felt gjerne starter på våren/forsommeren, bekrefter dette at høy vanntemperatur ikke er avgjørende. Kohabitering resulterte i svært lav dødelighet. Årsaken til den lave dødeligheten blant kohabitantfisk kan skyldes lavt eller kortvarig smittepress, da nesten all stikksmittet fisk var død allerede etter en uke. Vi konkluderer med at spesielt badmodellen er lovende for vaksinetesting.

Smitte med atypisk *Aeromonas salmonicida* ble utført med 2 isolat. Det ene (8546) gav høy dødelighet ved stikksmitte, men denne dødeligheten var avhengig av temperaturøkning til 16 °C. Det andre isolatet (D5) gav høy dødelighet ved både stikk, bad og kohabitering uten behov for temperaturøkning. Vi konkluderer med at alle disse modellene kan brukes ved vaksineutvikling, og at dødeligheten er isolat- og temperaturavhengig.

Pasteurella sp. ble isolert fra naturlig smittet rognkjeks som ble tatt inn til et smitteforsøk. Fisken gjennomgikk smitteforløpet i laboratoriet med høy dødelighet (nesten 100 %) og bakterien ble isolert og karakterisert. Smitteforsøk viste at isolatet gav akutt sykdom med 100 % dødelighet etter stikksmitte, men vi klarte ikke å inducere dødelighet ved kohabitantsmitte. Enkelte kohabitantfisk hadde klare sykdomstegn ved forsøksslutt, og sannsynligvis tar det lang tid å utvikle denne

sykdommen ved kohabitantsmitte. Vi konkluderer med at stikkmittemodellen er lovende for vaksineutvikling, men den må forbedres siden alle grupper i våre forsøk fikk 100 % dødelighet. Sannsynligvis må smittedosen være lavere enn $2,5 \times 10^4$ koloniformende enheter som var den laveste dosen brukt i våre forsøk. Kohabitantsmitte tar sannsynligvis for lang tid til å være et praktisk alternativ, men det bør ikke utelukkes på det nåværende stadiet.

Samlet har vi oppnådd å fremskaffe dødelighetsprofiler ved ulike eksponeringer med alle de testede bakterietypene.

Arbeidspakke 4: Sammenstilling av kjent kunnskap (hovedansvar HI)

Leveransene i denne arbeidspakken var 2 oversiktsartikler, 1 som tar for seg organismer som gir sykdom hos leppefiskartene og 1 tilsvarende for rognkjeks. Det skulle også lages en populærvitenskapelig artikkel som tar for seg kunnskapsstatus om patogener i rognkjeks. Det er tidligere publisert populærfremstillinger av sykdommer hos leppefisk (se Norsk Fiskeoppdrett 2011 No. 6a "Rensefisk"). De 2 vitenskapelige manuskriptene er levert FHF, men de er ikke publisert ennå. Den populærvitenskapelig artikkelen er publisert

Oversikt over hovedleveranser og ringvirkninger av prosjektet

Hele prosjektet:	Sluttrapport Referat fra møter i prosjektet En rekke innlegg på fagkonferanser i prosjektperioden
Arbeidspakke 1:	Mal for helseregistrering av merdsatt rensefisk Sluttrapport med oversikt over dødelighetsårsaker Populærvitenskapelig artikkel: Dødelighet og dødelighetsårsaker hos rensefisk. Norsk Fiskeoppdrett 2014 - 8, side 36-40 Populærvitenskapelig artikkel: Viktige sykdommer hos rensefisk. Norsk Fiskeoppdrett 2014 - 9, side 48-40
Arbeidspakke 2:	2 rapporter om smitte modeller Manus til vitenskapelig artikkel
Arbeidspakke 3:	Rapport om smitte modeller Vitenskapelig artikkel: Alarcón, M., Gulla, S., Røsæg, M. V., Rønneseth, A., Wergeland, H., Poppe, T. T., Nilsen, H. & Colquhoun, D. J. (2015). Pasteurellosis in lumpsucker <i>Cyclopterus lumpus</i> , farmed in Norway. Journal of fish diseases. Vitenskapelig artikkel: Rønneseth, A., Ghebretnsae, D. B., Wergeland, H. I., & Haugland, G. T. (2015). Functional characterization of IgM+ B cells and adaptive immunity in lumpfish (<i>Cyclopterus lumpus</i> L.). Developmental & Comparative Immunology. Manus til vitenskapelig artikkel 3 skal leveres Populærvitenskapelig artikkel: Rognkjeksens helse - vaksinerer har startet. Norsk Fiskeoppdrett 2014-12, side 38-41
Arbeidspakke 4:	Manuskript om patogener på rognkjeks Manuskript om patogener på leppefisk Populærvitenskapelig artikkel: Sykdom og parasitter i vill og oppdrettet rognkjeks (2014). Fisken og Havet, Særnr. 1, 37.

I tillegg til de spesifikke leveransene har prosjektet bidratt til at kommersielle vaksineleverandører har startet utviklingen av vaksiner for rensefisk. Dette er sannsynligvis den mest verdifulle konsekvensen av prosjektet. Før prosjektet startet var det klart at rensefiskprodusentene anså

tilgjengeligheten av effektive vaksiner mot de vanligste sykdommene for å være en forutsetning for videre utvikling av industrien. Arbeidet har også dannet grunnlag for innvilgelsen av et toppforskerprosjekt fra Norges forskningsråd til Gyri T. Haugland ved Universitetet i Bergen.

Veterinærinstituttet er et nasjonalt forskningsinstitutt innen dyrehelse, fiskehelse, mattrygghet og dyrevelferd med uavhengig forvaltningsstøtte til departementer og myndigheter som primæroppgave. Beredskap, diagnostikk, overvåking, referansefunksjoner, rådgivning og risikovurderinger er de viktigste virksomhetsområdene.

Veterinærinstituttet har hovedlaboratorium i Oslo og regionale laboratorier i Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, med til sammen ca. 330 ansatte.

www.vetinst.no

Tromsø

Stakkevollvn. 23 b · 9292 Tromsø
9010 Tromsø
t 77 61 92 30 · f 77 69 49 11
vitr@vetinst.no

Harstad

Havnegata 4 · 9404 Harstad
9480 Harstad
t 77 04 15 50 · f 77 04 15 51
vih@vetinst.no

Bergen

Bontelabo 8 b · 5003 Bergen
Postboks 1263 Sentrum · 5811 Bergen
t 55 36 38 38 · f 55 32 18 80
post.vib@vetinst.no

Sandnes

Kyrkjev. 334 · 4325 Sandnes
Postboks 295 · 4303 Sandnes
t 51 60 35 40 · f 47 51 60 35 41
vis@vetinst.no

Trondheim

Tungasletta 2 · 7047 Trondheim
Postboks 5695 Sluppen · 7485 Trondheim
t 73 58 07 50 · f 73 58 07 88
vit@vetinst.no

Oslo

Ullevålsveien 68 · 0454 Oslo
Postboks 8156 Dep · 0033 Oslo
t 23 21 60 00 · f 23 21 60 01
post@vetinst.no

