

Trination 2021: Fortsatt økende problemer med CMS

Trination-konferansen om samarbeid for utveksling av kunnskap om virussykdommene PD, CMS og HSMB, gjennomførtes på grunn av en annen virussykdom, COVID-19, for første gang digitalt i slutten på april. Som for forrige konferanse i Dublin 2019, er et av hovedtrekkene at CMS tiltar i betydning.

Av Tore Hovland, President Trination og Pål Mugaas Jensen, redaktør Norsk Fiskeoppdrett
tore@patogen.no

Oppdatering fra regionene

Skottland presentert av Eann Munro, Marine Scotland, Norge av Hilde Sindre, NVI og Irland av Susie Mitchell, Fish Vet Group.

Data for Skottland er hentet fra Scottish Salmon Producers Organization (SSPO) hvor månedlig dødelighet rapporteres og ekstra ordinær dødelighet rapporteres til Marine Scotland Fiskehelsetilsyn som del av Code of the Good Practice for Scottish Finfish Aquaculture (CoGP) hvor tilfeller med dødelighet over en gitt verdi skal meldes. For Irland hentes data fra oppdretterne, mens for innlegg om tingenes tilstand i Norge er Fiskehelserapporten hovedkilde.

CMS

Fellestrekk for de tre områdene er at CMS er økende, og fører til store biologiske og økonomiske tap. Hilde Sindre uttalte at CMS nå er en av de mest alvorlige virussykdommene i norsk oppdrett (se figur 1). I tillegg til at antall utbrudd øker, så øker også alvorlighetsgraden i utbruddene. De kommer tidligere og tapene er større. Lignende forhold ble rapportert fra Irland, Susie Mitchell la spesielt vekt på at de ser utbrudd på fisk tidligere i produksjonen, og at sykdommen da er mer akutt.

HSMB

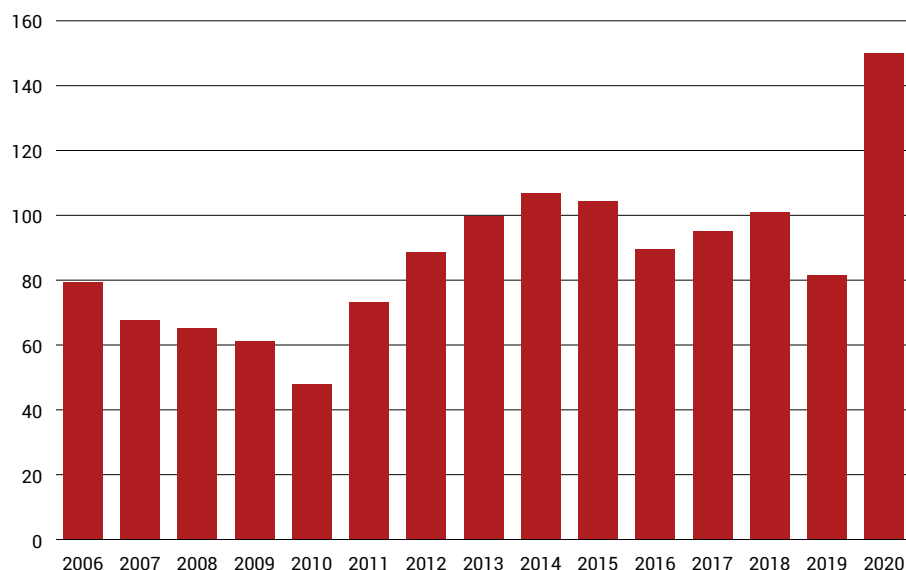
I motsetning til CMS ble det meldt om svært ulike erfaringer med HSMB. I Skottland er det siden 2019 bare to registrerte utbrudd og i Irland er klinisk HSMB påvist bare en gang, i 2015, dette til tross for at PRV-viruset er til stede. I Norge påvises sykdommen langs hele kysten.

PD

PD er til stede i alle tre områder, men det er ulike virusvarianter som påvises; i hovedsak SAV1 i Irland, men også SAV4 der gjennomsnittlig dødelighet viser en nedadgående trend i perioden 2013-2019. I Norge påvises SAV2 og SAV3 i to ulike geografiske områder. Hilde Sindre viste til at i Fiskehelserapporten omtales PD som den største årsaken til redusert tilvekst.

Etter innleggene ble det en diskusjon om tilgang på data, og hvor disse hentes fra. Det ble trukket spesielt fram den store fordel Norge har av at veterinærinstituttet samarbeider med private laboratorier for resultater presentert i Fiskehelserapporten.

Kun innlegget fra Skottland er delt via konferansens nettside.



Figur 1. Antall oppdrettslokaliteter i Norge med påvist CMS i gitt kalenderår. For perioden 2006-2019 er tallet basert på prøver sendt til Veterinærinstituttet (VI), for 2020 er tallet basert på samkjørte tall fra private laboratorier og VI. Kilde: Fiskehelserapporten 2020.

Epidemiologi og sykdomshåndtering

Som en introduksjon til temaet trakk Marian McLoughlin opp noen paralleller til COVID-19-pandemien, hva som forårsaket den raske spredningen, og hvilke tiltak som er gjort av overvåkning og bekjempelse. McLoughlin viste til generelle tiltak for å begrense en smittsom sykdom, og trakk spesielt fram hvordan COVID-19 har endret tidshorisonten for å utvikle en vaksine. Mens det tradisjonelt har tatt minst 4 år fra behov for en vaksine oppstår til et godkjent produkt er tilgjengelig, har vi nå flere vaksiner i bruk et år etter de første påvisninger av sykdommen. Hun viste til at i noen land har opp til 50 % av befolkningen fått første vaksinedose, men la vekt på at vi ikke kan anse noen individer som beskyttet mot sykdom inntil hele populasjonen er vaksinert.

I følge McLoughlin har fagmiljøer for fiskehelse kunnskap og ekspertise som kan bidra til å kontrollere en epidemi. Hun trakk her spesielt fram laboratorier med kapasitet til å gjøre PCR-tester. Hun viste også til at de åpninger som er gjort for å sikre raskere utvikling av vaksiner kan gi akvakulturnæringen håp om en mer effektiv vaksineutvikling i framtiden.

Link til presentasjonen: <http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/PD-Trination-Talk-2021-Marian-McLoughlin.pdf>

Juliane Sørensen, Technical University of Denmark

Hun viste resultater fra en epidemiologisk studie av PRV3 i Danmark, hvor viruset ble isolert fra 70 % av undersøkte anlegg. Både RAS- og gjennomstrømningsanlegg inngikk i undersøkelsen, men av de 10 anleggene hvor klinisk sykdom ble påvist var alle RAS-anlegg og regnbueørret. PRV3 er ikke et nytt virus, har vært i Danmark i alle fall siden 1995. Ingen virulensfaktor er funnet enda.

Virusisolater som ble undersøkt delte seg i to fylogenetiske grupper, hvor den ene gruppen bestod av norske isolater (PRV-3a) og den andre (PRV-3b) danske med innslag av chilenske, tyske og italienske isolater. At sykdom ble observert kun i RAS-anlegg kan tyde på

Trination-samarbeidet



TRINATION

- Tre nasjoner involvert; Norge Skottland og Irland
- Etablert i 2005 for å øke kunnskapsgrunnlaget ved felles formidling av nye resultater om PD
- Nå er agendaen utvidet til også å gjelde CMS og HSMB
- Møteplass for akademia, oppdrettere, leverandører av fiskehelse relaterte produkter og tjenester og myndigheter
- Ingen deltakeravgift på møtene; arrangementet finansieres av sponsormidler fra offentlige institusjoner og private selskaper
- Neste møte planlegges lagt til Skottland (Edinburgh) våren 2022
- Årets Trination-konferansen ble avholdt for første gang som digital konferanse den 21 og 22. april 2021. Det ble rekordoppslutning med 260 påmeldte.
- Presentasjoner fra årets konferanse er tilgjengelige på <http://trination.org/past-meetings/virtual-2021/> eller scan QR-koden under.



at det er en ekstern faktor involvert for sykdomsutvikling.

Link til presentasjon: http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/Sorensen_Trination-2021.pdf

Aase B. Mikalsen, NMBU

Mikalsen har gjennom helgenomsekvensering av PMCV-virus funnet at det er liten genetisk variasjon mellom ulike virusvarianter. I det samme arbeidet ble det fra CMS-syk fisk i felt isolert opp til syv ulike varianter av PMCV mellom individer innenfor et sykdomsutbrudd. Dette var gjennomgående i ulike sykdomsutbrudd, men hvorfor dette skjer er ikke klart. En mulig årsak er at viruset muterer hurtig gjennom infeksjonen og resulterer i en sky av varianter. Det kan også ha sammenheng med at en «sky» av ulike virusvarianter infiserer fisken, eller flere påfølgende infeksjoner med ulike virusvarianter.

Link til presentasjon: <http://trination.org/wp-content/uploads/2021/05/2104-Mikalsen-TRINation-2021-publish-version.pdf>

Interaksjoner mellom vert og patogen**Maria Dahle, NVI**

Dahle har undersøkt potensiale for kryssbeskyttelse etter vaksinerings med PRV type 1, 2 og 3. Det er PRV1 som forårsaker HSMB i atlantisk laks, mens PRV3 kan infisere laks uten å utvikle sykdom. PRV-3 induserer antistoffer som kryssbinder mot PRV-1 og 2. Videre beskytter en PRV-3 infeksjon både mot PRV-1 infeksjon og mot HSMB. PRV-3 er fortsatt til stede etter 18 uker, men med lav antiviral respons. En inaktivert PRV-1 vaksine gir delvis beskyttelse, men mekanismene er uklare.

Niccolò Vendramin, Technical University of Denmark

Gjennomgikk et smitteforsøk med PMCV på laks der det ikke ble observert klinikk eller redusert overlevelse. Det var store variasjoner i virusmengde i hjertevev. Videre ble det funnet hjertepatologi i samsvar med CMS hos både shedder- og kohabitantfisker kort tid etter infeksjon.

Øystein Wessel, NMBU

Holdt et innlegg der det ble konkludert at det er virulensforskjeller mellom PRV-1 isolater. Det ble funnet at norske feltisolater fra 2018 induserte lavere viral proteinmengde i blodceller, men høyere plasma viremi. Histopatologiske lesjoner forenelig med HSMB ble her funnet i hjerte. Til forskjell fra historiske norske- og canadiske isolater som bare ga milde hjertelæsjoner.

Link til presentasjonen: <http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/TriNation-2021-PRV-1-virulence-O-Wessel-0.6mb.pdf>

Utvikling av diagnostiske verktøy og tjenester**Mona Dverdal Jansen, Veterinærinstituttet**

Hun snakket om at feltevaluering av diagnostiske tester er essensielt for å sikre tillit til testens evne til å forutsi infeksjon- eller sykdomsstatus mht sensitivitet og spesifisitet for SAV-infeksjon og PD-sykdom hos oppdrettslaks. De evaluerte testers evne til korrekt å kunne påvise SAV eller resulterende sykdom vil være avhengig av infeksjonsstatus i den aktuelle populasjonen.

Link til presentasjon: http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/Jansen_PD_Dxtest_TriNat-2021.pdf

Lisa-Victoria Bernhardt, Veterinærinstituttet

Holdt innlegg om evaluering av en filtreringsmetode av sjøvann for påvisning av SAV fra norske lakseanlegg. Hun konkluderte med at metoden er kostnadseffektiv, tids- og ressursbesparende, samt er en dyrevelferdsmessig vennlig metode. Det ble fremhevet tidligere SAV-påvisning i sjøvann enn i fisk. Videre optimalisering og validering vil være nødvendig før implementering i SAV-overvåkingen.

Tabell 1. Kun gruppene vaksinert med Clynav var signifikant tyngre ved slakt sammenlignet med fisk som ikke var vaksinert mot PD. Kilde: Magnus Røsaegs innlegg på Trination 2021.

Vaccine group	Cage	Harvest period in 2019	RGI	Harvest weight	Norm. Harvest weight	No. Lice treatm.	Days starved	bFCR	Cum. mort	PD mort	Sup. grade
AJm6	1	14.06-06.11	95.0	4.99	5.17	3	38	1.22	10.0%	3.4%	98%
AJm6	2	01.11-18.11	91.8	5.18	4.52	4	42	1.27	8.6%	2.6%	98%
Clm6	3	14.06-03.07	96.9	3.69	5.78	1	27	1.10	13.2%	0.2%	98%
Clm6	4	12.08-19.10	96.3	5.11	5.60	2	27	1.18	6.0%	0.9%	98%
PDm6	5	24.10-04.11	94.7	5.30	5.12	4	31	1.26	9.5%	3.9%	98%
PDm6	6	24.10-24.11	94.9	5.69	5.15	3	37	1.24	7.5%	2.5%	98%

Janina Z. Costa, Moredun Research Institute

Holdt et innlegg om identifisering av serumproteiner fra laks med CMS i forsøk på å identifisere antatte biomarkørkandidater til bruk i utvikling av tidlig diagnostisering av CMS. Det er funnet 27 unike proteiner til CMS+ serum, derav 24 som er assosiert med hjertesykdom, 2 med cellestruktur og ett som har seksuell endokrin funksjon.

Link til presentasjon: <http://trination.org/wp-content/uploads/2021/05/Costa-et-al-trination-2021-002.pdf>

Jorge del-Pozo, The University of Edinburgh

Han snakket om bruk av hjerte-biomarkører som helsestyringsverktøy for tidlig diagnostisering av CMS hos laks. Det ble sett på skjelett-troponin C - skTnC og hjertemuskel-troponin C – cTnC i laks.

Konklusjon:

- Portabelt, pålitelig, billig assay for skTnC+cTnC -lett å implementere i felt
- cTnC er en biomarkør for subklinisk CMS -moderat til god på individnivå og veldig god på populasjonsnivå.
- skTnC er ikke en biomarkør for CMS

Link til presentasjon: http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/delPozo_PD-trination-21-Troponins-in-CMS.pdf

Claudia Marin Parra, MSD

Hun hadde et innlegg om fjernsupport av vaksinasjonskontroller der de ved hjelp av kameraoverføring via smart-briller, pc og mikrofon kan veilede personell på anlegget. Et alternativ når det ikke er mulig å foreta et fysisk besøk på anlegget.

Vaksineutvikling

Magnus Røsæg, Salmar

Røsæg presenterte resultater fra tre feltforsøk der effekt av kommersielt tilgjengelige vaksiner mot PD er sammenlignet. Det ble sett spesielt på de to nyeste vaksinene på markedet, AlphaJect micro 6 PD og Clynav. Forsøkene ble gjort på vårfisk i Salmar sine anlegg, og det ble påvist både SAV3 og SAV2 i løpet av perioden fisken stod i sjø. Ved slakt, i perioden juni til desember 2019, var det signifikante forskjeller mellom vaksinegruppene.

Kun gruppene vaksinert med Clynav var signifikant tyngre ved slakt sammenlignet med fisk som ikke var vaksinert mot PD (**tabell 1**). Gjennomgående var den Clynav-vaksinerte fisken 0,5 kg større enn ikke vaksinert fisk. Også for dødelighet var resultatene bedre for fisk vaksinert med Clynav, men med lav dødelighet i alle grupper var det kun i ett av forsøkene forskjellen var statistisk signifikant.

Link til presentasjonen: http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/Rosaeg_Effect_PD_MVR.pdf

Kimberly Veenstra, Friedrich Loeffler Institute

Hun viste resultater fra et forsøk med cellulære immunresponser hos regnbueørret etter vaksinerings med en inaktivert PD-vaksine med olje-adjuvans og smitte med SAV1 og 3. Resultatene viste økning i antistoffer, redusert patologi og virusmengde, men liten spesifikk cytotoxisk effekt.

Presentasjonen finner du her: http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/Trination_Veenstra.pdf

Marius Karlsen, Pharmaq

Karlsen viste resultater fra vaksineforsøk mot CMS. Han viste til at det er utfordrende å gjennomføre smitteforsøk og utvikle vaksine uten mulighet for å dyrke virus i cellekultur. Smitteforsøk må gjøres som injeksjonssmitte ved å injisere vev fra syk fisk. Det er vanskelig å sikre at dette vevet kun inneholder CMS-virus. Pharmaq arbeider med alternative vaksine teknologier, og på grunn av pågående patenteringsprosess (IPR) ble bare deler av tilgjengelig dokumentasjon vist.

Av de ulike vaksine kandidater som til nå er testet er det bare en som har vist positiv effekt. Effekt ble dokumentert 18 uker etter vaksinerings, og fisken som var vaksinert to ganger viste seg å være best beskyttet. Pharmaq mener at effekt er tilstrekkelig dokumentert, og jobber nå med sikkerhetsstudier.

Evaluerer av vaksiner

Effekt og bivirkninger av PD-vaksiner, Marius Karlsen Pharmaq

Pharmaq har sammenlignet grupper vaksinert med sin egen AlphaJect-micro 1PD og Clynav fra Elanco. I 3 ulike effektstudier med prøvetaking på ulike tidspunkt viste Clynav å gi bedre beskyttelse både i form av høyere CT-verdier og mindre vevskader i pankreas og hjerte.

Både AlphaJect micro 1PD og Clynav gir signifikant nivå av effekt mot SAV3 opptil 45 uker etter vaksinerings.

Ved undersøkelse av bivirkninger fra feltefaringer var det større problemer med ryggradsdeformiteter i form av virvler med såkalte «korsstingskader» i høstfisk enn vårfisk. Dette var relatert til fisk vaksinert med inaktivert PD-komponent.

Ragnar Thorarinsson, Elanco,

Han viste resultater fra feltforsøk der fisk vaksinert med to ulike PD-vaksiner; en syvkomponent oljebasert vaksine og en DNA-vaksine var undersøkt for korsstingsdeformiteter (figur 2) ved slakt.

Det var signifikant forskjell mellom gruppene, og fisk vaksinert med oljebasert PD-vaksine hadde både høyere andel fisk med korsstingsdeformiteter, og flere fisk med alvorlig grad av deformiteter. Grad evalueres ut fra andel virvler med deformitet. Skalaen går fra grad 0 til 4. Han viste også at det er en klar sammenheng mellom vektutvikling og deformiteter, der fisk med grad 4 i gjennomsnitt var 1,75 kg mindre enn fisk uten korsstingsdeformiteter.

Oppsummert viste Thorarinsson at korsstingsdeformiteter ikke bare er et velferdsproblem, men det har også stor økonomisk effekt.

Presentasjonen finner du her: <http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/Effect-of-PD-vaccines-on-cross-stitch-development-growth-and-economic-impact-Thorarinsson-et-al.pdf>

Ana Silva, Elanco

Silva viste forsøk som dokumenterte beskyttende effekt av Clynav ved SAV3-smitte 12 måneder etter vaksinerings.

Presentasjonen finner du her: http://trination.org/wp-content/uploads/2021/04/Ana-Silva_Presentation_-22April2021-compressed.pdf



Figur 2. Korsstingsdeformiteter er ikke bare et velferdsproblem, men det har også stor økonomisk effekt. Foto Grete Bæverfjord, hentet fra presentasjonen til Ragnar Thorarinsson.