



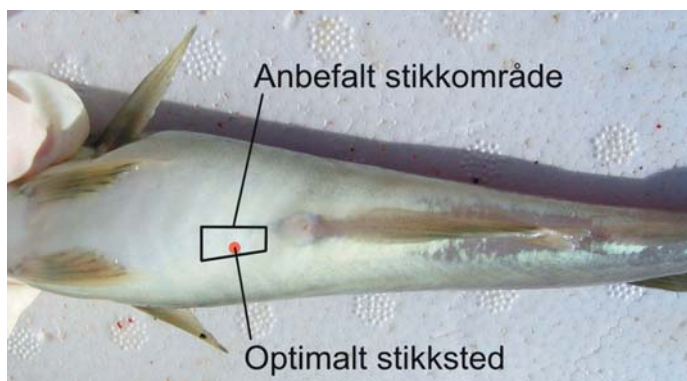
PHARMAQ

Særtrykk

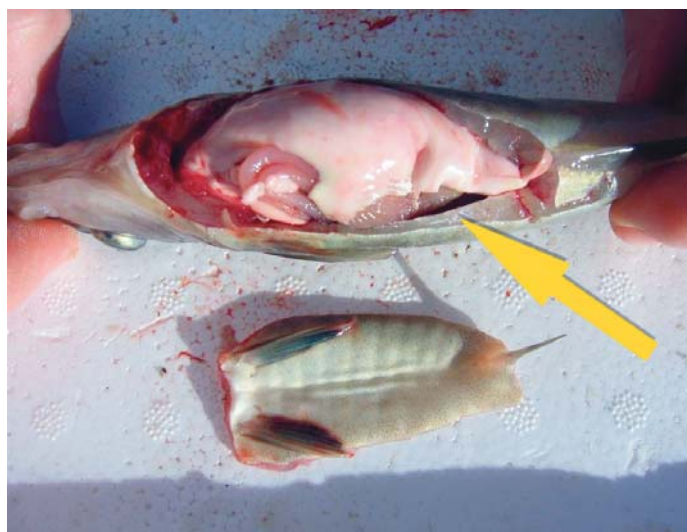
Bieffektvurderinger hos torsk (*Gadus morhua*) etter stikkvaksinering - bruk av en vurderingskala tilpasset til torsk

Claudia Maira, PHARMAQ AS
Yngve Lystad, PHARMAQ AS
Merethe Bjørgan Schrøder,
Norges Fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø
Vera Lund, Fiskeriforskning
Bjarnheidur Gudmundsdottir, Institute for
Experimental Pathology, University of Iceland





Anbefalt stikksted hos torsk



Anbefalt stikksted sett fra innsiden



Deponering av vaksine



Vesikler, innkapsling av vaksine

Bieffektvurderinger hos torsk etter stikkvaksinering – bruk av en vurderingsskala tilpasset torsk

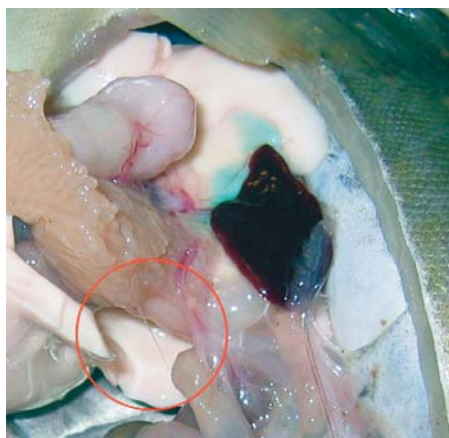
Oppdrett av atlantisk torsk er en voksende næring i Norge, og det forventes at flere bakterielle og virusbaserte sykdommer vil skape problemer i fremtiden. Det sykdomsfremkallende agens kan være kjent, ha opprinnelse fra andre arter, være mer virulent og/eller være et nytt patogen.

**CLAUDIA MAIRA, YNGVE LYSTAD, PHARMAQ AS,
MERETHE BJØRGAN SCHRÖDER, NORGES FISKERIHØGSKOLE, UNIVERSITETET I TROMSØ
VERA LUND, FISKERIFORSKNING
BJARNHEIDUR GUDMUNDSDOTTIR, INSTITUTE FOR EXPERIMENTAL PATHOLOGY, UNIVERSITY OF ICELAND**

Bærekraftig oppdrett av atlantisk torsk betinger utvikling av effektiv sykdomskontroll. I dag forårsaker vibriose store tap innen torskeoppdrett, og vaksiner som beskytter mot sykdommen gjennom hele livssyklus en nødvendig.

Vaksiner med oljeadjuvans gir en langtidsbeskyttelse mot sykdom, men slike vaksiner vil indusere bieffekter i form av adhesjoner og pigmentering i bukhulen hos vaksinert fisk.

En forutsetning for utvikling av oljebaserte vaksiner til torsk, vil være sikkerheten ved bruk av slike vaksiner i form av akseptable bieffekter etter vaksinering. Hos torsk er leveren dessuten av økonomisk verdi, og av



Score 1, få tråder av bindevev mellom lever/pylorusblindsekker

den grunn må skader på dette organet som følge av vaksinerings, unngås.

For å unngå disse følgeskadene på lever og andre vitale organer, er det svært viktig å injisere vaksinen i riktig stikkpunkt.

Tidligere studier med oljebaserte vibriosevaksiner til torsk, viser at disse vaksinerne inducerer en akseptabel bieffektprofil hos torsk. Reaksjonen i bukhulen etter vaksinasjon av torsk ser ut til å være forskjellig sammenlignet med salmonider. Hovedkarakteristika etter vaksinasjon av torsk er at vaksinen kapsles meget raskt inn i bukhulen, og at tilstedeværelse av adhesjoner mellom organer og bukvegg er mindre uttalt enn hos salmonider. Utviklingen av pigmentdannelse (melanin) på organer og i muskulatur, som observeres hos salmonider, observeres vanligvis ikke hos torsk.

Flere feltforsøk var nødvendig for å vurdere sikkerhet (adhesjoner og pigmentering), etter vaksinerings med en oljebasert vibriosevaksine. I starten ble bieffekter evaluert ved ulike tidspunkt etter vaksinerings ved bruk av den opprinnelige Speilbergskalaen (Midtlyng et al., 1996). Imidlertid viser registrerte observasjoner gjennomført på torsk, at en ny og spesifikk skala for vurdering av bieffekter hos torsk er nødvendig. PHARMAQ har derfor utarbeidet en ny bivirkningsskala tilpasset bivirkningsreaksjoner i torsk. Grunnlaget og vurderingen for denne skalaen blir presentert her.

Oversikt over feltforsøk

I det følgende gis en oversikt over bieffektsresultatene fra feltstudier etter stikkvaksinerings med en oljebasert- og en vannbasert vibriosevaksine fra PHARMAQ. Et innledende sikkerhetsforsøk ble gjennomført i et semi-kommersielt anlegg, og deretter ble syv feltforsøk/studier igangsatt ved kommersielle anlegg for å evaluere sikkerhet og effekt av vaksinen. Noen av forsøkene er ikke avsluttet ennå, men de preliminare dataene inkluderer resultater fra 2,5 til 18 måneder etter vaksinerings. Forsøkene vil fortsette frem til slakt av fisken.



Score 2, løse tråder over flere organer

Geografisk strekker forsøkene seg fra Rogaland i sør til Møre og Romsdal i nord.

De fleste forsøkene er startet ved påvekstlokalteter for deretter å bli overflyttet til rene matfisk/produksjonslokalteter. Fra 100 000 til 170 000 fisk per gruppe har vært vaksinert med de to vaksinerne i hvert feltforsøk. Vaksineringsen er gjennomført ved ulike årstider. Vekten ved vaksinerings har variert fra 29 gram til 250 gram i de ulike forsøkene. Registrert temperatur ved vaksinerings har vært mellom 7°C og 16°C.

Anbefalt injeksjonssted

En stor del av bukhulen på torsk er fylt av leveren. Av den grunn er det en utfordring å injisere vaksinen uten at leveren treffes av nålen ved deponering av vaksinen. Anbefalt injeksjonssted er av den grunn plassert på fiskens høyre side med injeksjon inn mot tarmområdet, se bilder 1, 2 og 3.

Anbefalt stikksted: Nålen injiseres på fiskens høyre side, langs en tenkt linje mellom gattåpningen og finnebase av brystfinnen (pectoral finne), en halv- til en hel bukfinnelengde foran gattåpningen.

Vurdering av bieffekter etter vaksinerings

Vurderingen av bieffekter er gjennomført av PHARMAQ-personell og / eller veterinær eller fiskehelsebiolog fra den aktuelle fiskehelsetjenesten.

Ved evalueringen ble bukhulen visuelt delt inn i 3 regioner som for salmonider. En fremre region 1, en bakre region 2 og en nedre region 3.

I motsetning til for salmonider, som injiseres i region 3, vil et sidestikk som anbefalt hos torsk, gi en injeksjon i region 2.

Gjennomsnittresultater per vaksinegruppe / anlegg vises i Tabell 3. Totalt er 1161 fisk undersøkt frem til nå. Av disse ble 669 fisk vaksinert med oljebasert vaksine og 492 fisk med en



Score 3, bindevevsdannelser som er relativt fast bundet mellom bukvegg og organene eller mellom flere organer

TABELL 1
Vaksinasjonstidspunkt og størrelse ved vaksinerings

Forsøk	Vaksinerings	Snittvekt ved vaksinerings
Innledende forsøk*	12. jul. 2004	36 gram
1	1. mar. 2005	60 gram
2	1. apr. 2005	30 gram
3	28. nov. 2005	250 gram
4	15. feb. 2006	52 gram
5	10. mai. 2006	35 gram
6	22. jun. 2006	29 gram
7	12. jun. 2006	50 gram

*I semi-kommersielt anlegg.

TABELL 2
Bukhulens inndeling

Region 1	Øvre del av lever, svelg, magesekk og fremre del av svømmeblære
Region 2	Tarmområdet, pylorus/blindsekker
Region 3	Nedre del av lever ned mot buk.

vannbasert vaksine. Som forventet viste fisk vaksinert med oljebasert vaksine en høyere score ved vurdering av adheranser enn fisk vaksinert med vannbasert vaksine. Selv om den oljebasert vaksinen inducerer høyere score, var bieffektprofilen etter vaksinerings fullt ut akseptabel.

Som følge av adheranser inn i bukhulen, fikk all evaluert fisk en score som varierte mellom 0 og 3 vurdert ved ulike tidspunkt etter vaksinerings. Den høyeste gjennomsnittscoren registrert ved evalueringene var 1,8 på adheranse-skalaen.

Hovedfunnet ved evaluering av vaksinert torsk var at vaksinen raskt kapsles inn i bukhulen, allerede etter 4–5 dager. Disse er synlige som små vesikler (blærer) varierende fra 1–5 mm. Adheranser ble hovedsakelig observert

mellom tarm, blindsekker og magesekk og mellom lever og bukvegg.

Tilstedeværelse av adheranser mellom organer og bukvegg er ikke vanlig så lenge injeksjonen av vaksinen er foretatt innenfor det anbefalt injeksjonsområde. Adheranser som strekker seg fra bukvegg inn mot lever evt. andre organer, er i de aller fleste tilfeller konsentrert rundt stikkstedet.

Utviklingen av pigment på organer og i muskulatur som ofte observeres hos salmonider, er i praksis ikke-eksisterende hos torsk.

Synlige rester av oljebasert vaksine reduseres signifikant fra 3 uker til 12 uker etter vaksinasjon, og det er ikke vanlig å finne vaksinerester ved evaluering ved senere tidspunkt.

Når det gjelder vurdering av selve adheransene etter vaksinerings, ble det gitt score 1 til fisk som hadde kun noen få tråder av bindevev mellom lever/pylorusblindsekker, lever/bukhinne eller lever/tarm. Score 2 ble gitt til fisk som hadde løse tråder over flere organer. Score 3 ble brukt når det var såpass sterk binding at en del av leveren løsnet og fulgte med bindevevet. Score 3 bør også gis dersom bukhinnen skades når man løsner bindevevet fra bukveggen.

Adheranser der andre organer enn lever og bukhinnen løsner er ikke observert.

Score 4, 5 og 6 er ikke observert på torsk etter vaksinerings med oljebasert- eller vannbasert vaksine. Beskrivelsen, i den nye bieffektsskalaen for torsk, er av den grunn definert relativt likt det som er gjeldende praksis for vurdering av bieffekter hos salmonider ved hjelp av Speilberg score (Midtlyng et al, 1996).

Melanin ble ikke observert i nevneverdig grad. Bukhinnen er hos torsk naturlig melaninfarget, og de få observasjonene av melanin har vært knyttet til bindevevstråder som har løsnet noe fra bukhinnen. Noen dendrittiske forgreininger rundt adheranseområdet på bukhinnen kunne også ses.

Basert på PHARMAQs erfaring bør vurdering av bieffekter på torsk foretas etter en egen skala. Speilbergskalaen, (Midtlyng et. al.; 1996) brukt på laks er modifisert av PHARMAQ, og tilpasset torsk for en bedre vurdering av bieffekter etter vaksinerings for denne arten.

Følgende bieffektsskala for torsk er laget av PHARMAQ og medarbeidere, basert på data fra observasjoner og registreringer under semi-intensive produksjonsbetingelser og ved kommersielle forhold i feltforsøk.

Feltstudiene er ikke avsluttet og den siste evalueringen vil bli foretatt ved slaktetidspunkt ca. 24 måneder etter vaksinerings. Vår erfaring med salmonider viser at graden av vaksine-bieffekter kan øke frem til 6–9 måneder etter vaksinerings. Etter 6–9 måneder vil graden av bieffekter avta eller forbli på samme nivå. Det gjenstår å se om den samme utviklingen av vaksine-bieffekter også vil sees på torsk.

TABELL 4
Adheransescore for torsk vaksinert i bukhulen

0	Ingen synlige forandringer i bukhulen
1	Få tynne bindevevstråder, oftest lokalisert til et lite område, som oftest nær stikksted. Svært lett å løse.
2	Spredte bindevevsdannelser, rundt og mellom organer, eller mer lokaliserte fastheftinger rundt et lite område. Bindevevstråder kan være knyttet til bukvegg, men løsner lett.
3	Bindevevsdannelser som er relativt fast bundet mellom bukvegg og organene eller mellom flere organer. Lever kan derimot bli ødelagt ved obduksjon, men andre organer vil ikke skades. Kan også observeres som gråaktig bindevevshinne over organene, spesielt i tarmområdet. Svømmeblæren kan være festet til organene.
4	Kraftige bindevevsdannelser i og rundt organene. Som grad 3, men mer uttalt. Granulomer kan påvises i mindre områder. Sammenvoksningene mellom forskjellige organer og bukvegg lar seg vanskelig løsne uten å skade disse. Organene kan være sammenloddet i en «pakke».
5	Svært kraftige sammenvoksninger som omfatter flere organer. Tilstedeværelsen av større granulomer i organ og til dels granulomatøse sammenlodninger mellom organpakke og bukvegg. Bukhinne og evt. filet skades ved fjerning av organer.
6	Som grad 5, men enda mer alvorlig. Hvis det er mulig å fjerne organer, vil det gi tydelige skader på fileten.

TABELL 3
Vurderingstidspunkt og snittscore for adheranser pr vaksinegruppe

Forsøksnr: Innl. forsøk	Måneder Etter vaksinerings	Oljebasert vibriosevaksine			Vannbasert vibriosevaksine		
		Antall	Adheranse Gjennomsnitt- score	Melanin	Antall	Adheranse Gjennomsnitt- score	Melanin
1	3	60	1,3	0	30	0,05	0
	6	58	1,3	0	71	0,7	0
2	12	61	1,3	0	30	0,8	0
	4	50	1,5	0	30	0,3	0
	13	20	1,6	0	10	0	0
3	18	13	1,3	0	9	0,2	0
	2,5	30	1,8	0	30	0	0
4	10	30	0	0	81	0	0
	5	20	1,8	0	20	0,1	0
5	4	30	1,3	0	13	0	0
	10	30	1,3	0	10	0	0
6	4	57	1,3	0	10	0,1	0
	7	32	1,3	0	17	0,8	0
	12	20	1,1	0	10	0,25	0,1
7	3	31	1,2	0	30	0,1	0
	5	30	1,5	0	30	0,2	0
	3	33	1,2	0	6	0,2	0
Total	5	41	1,1	0	30	0,3	0
	12	23	1,5	0	25	0,5	0
Total		669			492		

Samarbeidspartnere

Arthur Lyngøy (tidl. Nordvest Fiskehelse)
Grete Hansen Aas – Møreforskning
Stein Erik Solevåg – Høgskolen i Ålesund
Anne Stene- Høgskolen i Ålesund
Liv Birte Rønneberg – Fiske-Liv
Dag Markeng – Fiske-Liv
Roger Kvalsund – Nordvest Fiskehelse
Ellen Marie Sætre – Nordvest Fiskehelse

Jan Arne Holm – Fjord-lab
Bjarnheidur Gudmundsdottir –
University of Iceland
Merethe Bjørgan Schrøder – Norges
fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø
Vera Lund – Fiskeriforskning
Svein Alexandersen – PHARMAQ
Karl Fjell – Bioserv