



Viðauki 6. Tillögur faghóps 5: Heilbrigðismál í þorskeldi

Unnið af faghópi 6, en í honum eru Árni Kristmundsson, Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir og Sigurður Helgason (formaður), Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum.

Aðrir sem tóku þátt í vinnu faghópsins: Agnar Steinarsson, Hafrannsóknastofnunin, Bergljót Magnadóttir, Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum, Bernharð Laxdal, Vistor hf., Gísli Jónsson, dýralæknir fisksjúkdóma, Landbúnaðarstofnun, Helene Liette Lauzon Matis ohf., Matthías Eydal, Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum, Mattías Oddgeirsson, Hafrannsóknastofnunin, Sigríður Guðmundsdóttir, Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum, Snorri Gunnarsson, Akvaplan Niva, Sævar Ásgeirsson, Brim fiskeldi ehf., Valdimar Ingi Gunnarsson, Fiskeldishópur AVS, Þórarinn Ólafsson, Hraðfrystihúsið Gunnvör hf.

Fundurinn var haldinn þriðjudaginn, 23.okt., klukkan 13:00-16:00 á Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, v/Vesturlandsveg, 112 Reykjavík.

Í inngangserindi var gefið yfirlit um helstu sjúkdóma sem íslenskt þorskeldi hefur átt við að stríða á undanförunum árum og gerður samanburður við ástand í helstu samkeppnislöndum, þ.e. í Noregi, Skotlandi og Kanada (austurströnd).

Sjá þar um eftirfarandi samantekt:

Helstu sjúkdómavandamál í íslensku þorskeldi:

Bakteríur:

Aeromonas salmonicida subsp. *achromogenes* (okkar meginvandamál)

Vibrio anguillarum (fylgir allfast á eftir)

Yersinia ruckeri

Sníkjudýr:

Loma branchialis

Helstu sjúkdómavandamál í Noregi, Skotlandi, Kanada-austurströnd):

Veirur:

Nodaveirusýkingar (Kanada-austurströnd; Noregur, Skotland)

Bakteríur:

Aeromonas salmonicida subsp. *achromogenes* (Kanada-austurströnd; Noregur-vaxandi vandamál)

Vibrio anguillarum (Noregur, Kanada-austurströnd, Skotland)

Francisella-sýkingar (Noregur)

Moritella viscosa (Noregur-vaxandi vandamál)

Sníkjudýr:

Loma branchialis (Kanada-austurströnd)

Caligus sp. (Skotland)

Þessu næst fjölluðu sérfræðingar á Keldum um þau verkefni sem þeir telja brýnust nú um stundir, þ.e. a) um grunnrannsóknir á ónæmiskerfi þorsks og b) þróun á bóluefni gegn kylaveikibróður í þorski. Að lokum var rætt um nauðsyn bættrar aðstöðu til að ala þorsk í smitfríu umhverfi og til að gera smittilaunir, en það er forsenda þess að árangur náist í rannsóknnum um fyrrgreind verkefni.

Grunnrannsóknir og hagnýt verkefni

Með hliðsjón af núverandi þekkingu á eðli og tíðni smitsjúkdóma í íslensku þorskeldi, þá var það samdóma álit fundarmanna að brýnast sé nú að beina sjónum að langtímarannsóknarvinnu til þróunar bóluefna gegn bakteríusýkingum, einkum kylaveikibróðurbakteríunni. Forsenda bóluefnarannsókna er aukinn skilningur/þekking á ónæmisviðbrögðum þorsks gegn ólíkum smitefnum. Til að þetta megi verða þarf m.a. að tryggja góða aðstöðu til sýkingartilrauna svo og stöðugt framboð af heilbrigðum seiðum. Á því hefur orðið endurtekinn og alvarlegur misbrestur, sem hamlar nú mjög þessum rannsóknum. Vegna þess gætir nú æ meir þeirrar tilhneigingar að velja rannsóknarverkefni þar sem ekki reynir á þessa sérbúna aðstöðu. Þetta er augljóslega stórvarasöm þróun.

Önnur mikilvæg nálgun að forvörnum er bæling smitefna (baktería), sem byggir á því að þróa umhverfisvæn forvarnarlyf. Verkefni sem beinlínis snýr að frumeldinu væri að þróa aðferðir til að minnka örveruálag í eldiskerum. Að lokum skal bent á kynbótastarf til þess að auka sjúkdómsþol gegn vissum smitefnum.

Eftirtalin atriði telur faghópurinn brýnust úrlausnar efni á sviði heilbrigðis í íslensku þorskeldi. Bera þar hæst rannsóknir á ónæmisfræði og bóluefnum. Eins og segir hér á undan þá er forsenda þessa að fyrir hendi verði viðunandi aðstaða til þess að halda tilraunafisk og gera sýkingartilraunir svo og að aðgengi að heilbrigðum tilraunafiskum verði tryggt.

Bæta aðstöðu til sýkingartilrauna í Sandgerði og tryggja jafnframt stöðugildi fyrir einn fiskeldisfræðing

Hér er einungis miðað við þarfir til sjúkdómarannsókna hvers konar. Það tekur til rýmis, kerafjölda, aðgengis að fersku vatni og sjó, hitastýringu á eldisvökva svo og sótthreinsun affallsvökva.



Verkefnin þurfa m.a. að spanna a) tímabundna einangrun innfluttra tegunda, b) fiskahald til grunnrannsóknna á sviði ónæmisfræði, c) tilrauna með bóluefni, d) sýkingartilraunir ýmis konar.

Mikilvægt er að með einhverjum hætti sé unnt að tryggja starfsmann, helst með fiskeldisfræðimenntun til að annast tilraunadýrin frá degi til dags. Aukin umsvif annarra rannsóknarhópa með tilraunadýr auðveldar væntanlega samnýtingu þessa starfsmanns. Tilraunir og hvers konar vinna með smitefni kallar á strangar verklagsreglur er lúta að umhirðu dýranna.

Tryggja stöðugt framboð á heilbrigðum þorskeiðum, a) til áframeldis vítt um land og b) til rannsókna

Á undanförnum misserum hefur mikil vinna og fjármagn verið lagt í tilraunir á sviði ónæmisfræði svo og bóluefna- og sýkingartilrauna. Oftar en ekki hafa þær tilraunir skaðast eða beinlínis mistekist vegna tíðra sýkinga í fiskum sem fengnir hafa verið til tilraunanna. Helstu ástæður þessa eru, að okkar hyggju, þær að til þess er ætlast að Tilraunastöð Hafrannsóknarstofnunarinnar á Stað sinni hvoru tveggja að taka í stöðina villitegundir ýmsar til tilraunaeldis, ásamt því að ala seiði til áframeldis og dreifingar vítt um land. Úr villifiskunum hefur svo smit borist í aliseiðin. Að líkindum hefur smit einnig borist í stöðina með eldisvökva, en á því hefur nú verið ráðin bót.

Grunnrannsóknir á ónæmiskerfi þorsks

Mikið er enn ólært um ónæmiskerfi þorsksins, sem er harla frábrugðið þeirra tegunda sem við höfum helst fengist við til þessa. Ónæmiskerfi þorsks er að því leyti óvenjulegt að hann myndar lélegt eða ekkert sérvirkt mótefnasvar og ónæmisvarnir hans eru fyrst og fremst ósérvirkar og frumubundnar. Orsakir þessa galla á sérvirku mótefnasvari eru ekki enn kunnar en ljóst að hefðbundin bólusetningaefni og aðferðir duga yfirleitt ekki í þorski. Það er því nauðsynlegt að rannsaka ónæmiskerfi þorsks frekar og samspil við sýkil. Það þarf að leita leiða til að örva sérvirka þætti og/eða hefta þætti sem kunna bæla sérvirkt mótefnasvar.

Þróun bóluefna (með áherslu á Asa fyrst í stað)

Kýlaveikibróðir af völdum bakteríunnar *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* hefur reynst okkur skæðastur sjúkdóma í þorskeldi til þessa og liggur beint við að byrja að vinna með hana í rannsóknum tengdum þróun á bóluefnum í þorski. Auk þess er nú á Keldum yfirgripsmikil þekking á bakteríunni tengd rannsóknarvinnu þar um langt árabíl. Eðlilegt er að jafnhliða grunnrannsóknum á ónæmiskerfi þorsksins sé unnið á þessu sviði.

Bæta sjógæði í eldiskerum, einkum á frumfóðrunarstigi

Þessi þáttur fellur undir faghóp um seiðaeldi.

Þróun umhverfisvænna forvarnarlyfja

Vegna vaxandi vandamála tengdum sýklalyfjapoli bakteríustofna er mikil þörf fyrir þróun nýrra lyfja eða meðferðar, sem ekki myndar lyfjapol. Bakteríudrepandi peptíð framleidd af örverum eða öðrum lífverum eru dæmi um efni sem geta verið áhugaverð. Þróun á notkun bætibaktería í eldiskerfum sem halda sýkjandi bakteríum í skefjum er dæmi um áhugaverða aðferð. Einnig er vaxandi áhugi á efnum sem hindra sýkingarmátt baktería. Dæmi um slík efni eru hindrar á þéttiskynjun (quorum sensing) baktería.

Ýmsir ónæmisörvar hafa einnig verið reyndir í eldi m.a. lírfueldi (1) og eru nokkur efni til á markaði ýmist sem fæðubótarefni eða baðefni t.d. MacroGard® og Aquasol. Það mætti prófa þessi efni og önnur skipulega á fyrstu stigum þorskeldis og kanna áhrif á lifun, vöxt og sjúkdómsþol.

Æskilegt er að sýklalyfjanotkun verði algerlega útrýmt úr þorskeldinu.

Ferðastyrkir til samskipta við erlenda vísindamenn um sameiginleg úrlausnarefni

Brýnt er að hvetja til samvinnu við rannsóknarhópa í nágrannalöndum okkar er vinna á þessu sviði. Tryggja ætti fjármagn til samskipta; svo sem funda og einnig um einstök verkefni.

Rétt er að benda á nauðsyn umræðu um ætlaða gagnsemi og raunhæfi þess að halda árgöngum aðskildum í eldisstöð (strandeldis- og/eða kvíastöð); og að ala einungis eina fisktegund á hverjum stað

Fisktegundir eru misnæmar fyrir hinum ýmsu tegundum sýkla. Í sambýli fisktegunda getur ein fisktegund reynst smitberi sýkils án þess að valda þeirri tegund sýki. Frá henni getur síðan smit borist í sambýlistegundina og reynst henni skæð ef smitnæmi er þar fyrir hendi.

Á sama hátt er mikilvægt að huga að þeim möguleika að aðskilja árganga í eldi, beinlínis til að skera á hugsanlega smitdreifingu milli árganga sömu tegundar.

Í lokuðum eldiseiningum er hætta á smitdreifingu sýkla jafnan mest með flutningi lifandi fiska milli stöðva. Þar sem eldisrýmið er opnara, t.d. í kvíum eða að yfirborðsvatni / sjó er hleypt beint í stöð þá má gera ráð fyrir því að vissir sýklar berist einnig á þann hátt beint í stöð. Sumar tegundir sýkla, t.d. kýlaveikibróðurbakterían, eru í ýmsum tegundum villifiska allt í kringum landið og hefur því reynst erfitt að halda alifiskum smitfríum í opnum eldis-



kerfum.

Rannsóknasvið 1. Rannsóknir á frumubundnu ónæmissvari þorsks

Einkennandi viðbragð þorsks við bakteríusýkingu er myndun bólguhnúða (granuloma) þar sem átfrumur dragast að sýklinum, og ásamt bandvefsfrumum afmarka hann og umlykja, og hefta þannig útbreiðslu hans. Þetta ferli hefur ekki verið rannsakað á sameindafræðilegum grunni.

Áhugavert verkefni væri að rannsaka ferlið með ónæmisvefjagreiningu með hjálp mótefna gegn þáttum eins og IgM, complementþættinum C3, bráðaprótínunum CRP-PI og PII, apolipoprotein A-I og haemoglobin. Þetta eru mótefni sem hafa verið framleidd að Keldum í ýmsum rannsóknaverkefnum á ónæmiskerfi þorsks. Rétt er að vekja athygli á að þetta verkefni mundi tengjast og nýta efnivið úr öðru verkefni þar sem gerður verður samanburður á viðbrögðum þorsks og bleikju við mótefnavökum kýlaveikibróður bakteríunnar (sjá rannsóknasvið 2).

Áhugavert væri einnig að kanna, við myndun bólguhnúða, hvaða boðefni beina þessum frumum að sýklinum en rannsóknir á boðefnum (cytokinum) þorsks er svið sem er brýnt að efla. Ekki er ólíklegt að hér liggi a.m.k. að hluta til skýringin á lélegu sérvirku svari þorsks. Til þess að rannsaka boðefni og frumubundið ónæmissvar þorsks þyrfti að bæta lítillega aðstöðu við að halda lifandi fiska á Keldum svo og tækjabúnað og ber þar hæst skort á frumuflæðisjá sem er lykiltæki í rannsóknum af þessu tagi.

Rannsóknasvið 2. Samanburðarrannsókn á hýsilsvari þorsks og bleikju gegn sýkingu bakteríunnar *Aeromonas salmonicida* undirteg. *achromogenes* og AsaP1 neikvæðu stökkbrigði hennar

Þorskur og bleikja eru þær tegundir sem mest áhersla er lögð á í fiskeldi á Íslandi í dag. Bakterían *Aeromonas salmonicida* undirteg. *achromogenes* (Asa) er sú baktería sem mestum skaða hafur valdið í íslensku fiskeldi og er kýlaveikibróðir stórt vandamál í þorskeldi. Vel gengur að bólusetja laxfiska gegn sýkingu bakteríunnar en hins vegar hefur gengið illa að bólusetja þorsk gegn kýlaveikibróður (2). Rannsóknir benda til þess að munur sé á hýsilsvari þorsks og lax gegn sýkingu bakteríunnar (3). Áhugavert er að kanna nánar mun á hýsilsvari þorsks og laxfiska gegn sýkingu Asa með þróun þorska bóluefnis að markmiði. AsaP1 er próteinasi og mikilvægur sýkiþáttur sem bakterían seytir. Rannsóknir hafa sýnt að AsaP1 neikvætt stökkbrigði bakteríunnar hefur minnkaða sýkingarhæfni í laxi, en vex eins og æxli í ýmsum líffærum fisksins án greinanlegs hýsilsvars. Rannsóknir benda einnig til þess að þorskur svari eitrinu á annan hátt en lax (4). Markmið verkefnisins er að afla nýrrar þekkingar varðandi samspil sýkils

og hýsils og nota *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* sýkingu í bleikju og þorski sem módel. Áhersla verður lögð á að greina eðli mismunar í ónæmissvari þorsks og bleikju með kýlaveikibróður eða sýkingu neikvæða stökkbrigðis bakteríunnar.

Fiskurinn verður sýktur með baðsmitun og sýnum safnað á mismunandi tímum frá upphafi sýkingar. Bæði verður safnað blóðsýnum og vefjasýnum, sem notuð verða í ýmsar rannsóknir. Áætlað er að gera vefjameinafræðilegan samanburð, samanburð á mótefnasvari og samanburð á tjáningu ónæmistengdra gena.

Samvinna verður við dýralæknaháskólann í Osló varðandi vefjameinafræðilegar rannsóknir.

Rannsóknasvið 3. Þróun á bóluefni gegn kýlaveikibróður í þorski

Kýlaveikibróðir er mesta sjúkdómsvandamálið í þorskeldi á Íslandi, á austurströnd Kanada og í norður Noregi. Íslenskar og erlendar rannsóknir hafa sýnt að laxabóluefni verja þorsk ekki gegn kýlaveikibróður (2). Einu þorskabóluefnin sem eru á markaði eru gegn víbríuveiki. Aðstaðan í þorskeldi er því svipuð þeirri sem var í laxeldinu um 1990 fyrir tíma bóluefna með olíuónæmisglæðum. Ljóst er að forsenda þess að unnt verði að þróa góð þorskabóluefni gegn kýlaveikibróður er augin þekking á bakteríunni sem sjúkdómnum veldur og ónæmissvari hýsilsins. Raðgreining genamengja örvera og hýsla þeirra eru öflug tæki til slíkra rannsókna. Búið er að raðgreina kýlaveikibakteríuna *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmenicida* og röðin er nú öllum opin á veraldarvefnum (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=genomeprj&cmd=search&term=Aeromonas%20salmonicida>). Kýlaveikibróðurbakterían *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* er af sömu tegund þó undirtegundin sé önnur. Raðgreining á genamengi þorsks er líka vel á vegi og niðurstöður hennar settar fram á aðgengilegan hátt á netinu (<http://www.codgene.com/>). Sérfræðingar á Keldum hafa mikla þekkingu á eiginleikum kýlaveikibróðurbakteríunnar og ónæmiskerfi þorsks og því góðan grunn til að vinna að öflugum rannsóknum á fræðasviðinu.

Rannsóknarverkefni þar sem erfðatækni væri notuð til að greina samspil sýkils og hýsils við þróun kýlaveikibróður í þorski væri liður í að þróa bóluefni gegn sjúkdómnum. Um er að ræða verkefni þar sem mikilvægt er að eiga samstarf við erlenda aðila s.s. bóluefnisfyrirtæki.

Rannsóknasvið 4. Aðstaða til að ala þorsk í smitfríu umhverfi og til að gera smittilaunir

Með hliðsjón af núverandi þekkingu á eðli og tíðni smitsjúkdóma í íslensku þorskeldi er brýnast að beina sjónum að rannsóknarvinnu til þróunar bóluefna gegn



bakteríusýkingum, einkum kýlaveikibróður-bakteríunni. Einu þorskabóluefnin sem nú eru á markaði eru gegn vibríuveiki og virkni þeirra er takmörkuð (2). Forsenda bóluefnarannsókna er góð grunnþekking á eiginleikum og samspili sýkils og hýsils. Ennfremur aðstaða til sýkingartilrauna og stöðugt framboð af heilbrigðum þorskseiðum. Slík aðstaða er ekki fyrir hendi á Íslandi í dag.

Á rannsóknasetrinu í Sandgerði er fyrir hendi ófullkomin aðstaða til sýkingartilrauna en nægt húsrými og nóg af góðum sjó. Áhugi er fyrir hendi fyrir uppbyggingu á góðri aðstöðu og notkun hennar hjá Sandgerðisbæ, Keldum, HÍ og Náttúrufræðistofu Reykjaness, Fræðasetrinu í Sandgerði og BIOICE (Botndýr á Íslandsmiðum). Teikningar og drög að kostnaðaráætlun liggja fyrir, en fjármagn skortir til að uppbygging geti átt sér stað. Auk aðstöðu er nauðsynlegt að stöðugildi fyrir einn fiskeldisfræðing til að annast tilraunafisk verði tryggt.

Sett verði upp tvískipt einangruð aðstaða þar sem unnt er að ala fisk í smitfríu umhverfi og gera smittilaunir. Búnaður fyrir hitastýringu á vatni er til staðar í Sandgerði en uppsetningu hans er ekki lokið. Mikilvægt er að sá búnaður verði til staðar svo hægt sé að vinna tilraunir við mismunandi hitastig.

R&Ð verkefni sem eingöngu verður unnið af Íslendingum.

Heimildir

1. Magnadóttir, B., Guðmundsdóttir, B.K., Lange, S., Bambir, S.H., Steinarsson, A., Oddgeirsson, M., Bowden, T., Bricknell, I., Dalmo, R., Guðmundsdóttir, S. 2006. Immunostimulation of cod (*Gadus morhua* L.) larvae and juveniles. *Journal of Fish Diseases* 26:147-155.
2. Guðmundsdóttir, B. K., and B. Björnsdóttir. 2007. Review Vaccination against atypical furunculosis and winter ulcer disease of fish. *Vaccine* 25:5512-5523.
3. Magnadóttir, B., S. H. Bambir, B. K. Guðmundsdóttir, L. Píllström, and S. Helgason. 2002. Atypical *Aeromonas salmonicida* infection in naturally and experimentally infected cod, *Gadus morhua* L. *Journal of Fish Diseases* 25:583-597.
4. Árnadóttir, H. 2006. Role of the AsaP1 exotoxin of *Aeromonas salmonicida* in bacterial virulence. M.Sc. University of Iceland, Reykjavík.