

Lukka og semi-lukka teknologi for økt helse- og sykdomskontroll



Lill-Heidi Johansen
Avd. leder, Forebyggende Fiskehelse
CtrlAqua SFI
Nofima

sfi = Senter for
forskningsdrevet
innovasjon

Norges forskningsråd

CtrlAQUA

Avd. Forebyggende Fiskehelse

- Innovasjoner for å forebygge, detektere og kontrollere sykdom i lukka oppdrettssystemer
 - Styrke fiskens robusthet og sykdomsresistens med fokus på barrierefunksjoner og kardiovaskulær kapasitet
 - Bedre patogenkontroll og håndtering av sykdomsutbrudd
 - Utvikle nye eller forbedrede vaksiner og protokoller for patogener som representerer en spesiell risiko i lukka systemer

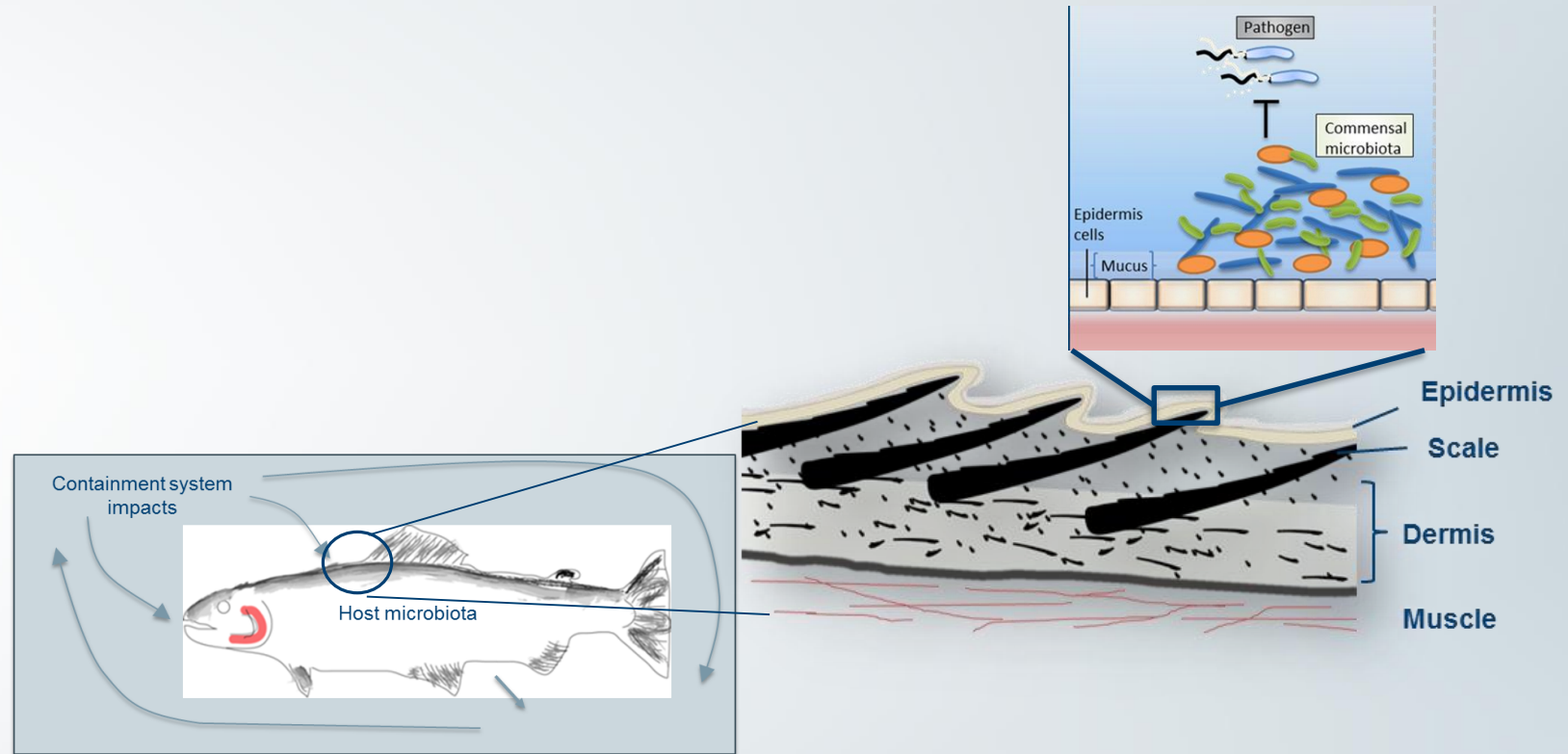


BARRIERE: Forstå mekanismene som kan forbedre fiskens robusthet

Nofima, prosjektleder Christian Karlsen, Partnere: Univ. i Gøteborg, Uni Research, Bergen

Fokus på:

- Mukus barriere
- Cellulær integritet
- Genregulering
- Immunaktivitet
- Mikrobielle interaksjoner



BARRIERE: Skjelltap og skinn-barrierefunksjon

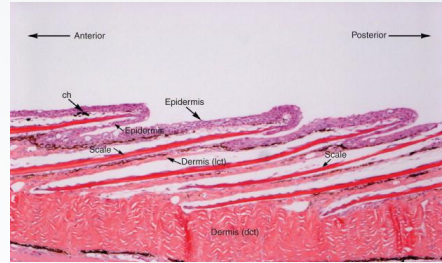
Forsøksoppsett



O. mykiss,

Behandlinger

Kontroll



Dermis + scale/epi/muc

Avskjellet



Dermis - scale/epi/muc

Skrapet

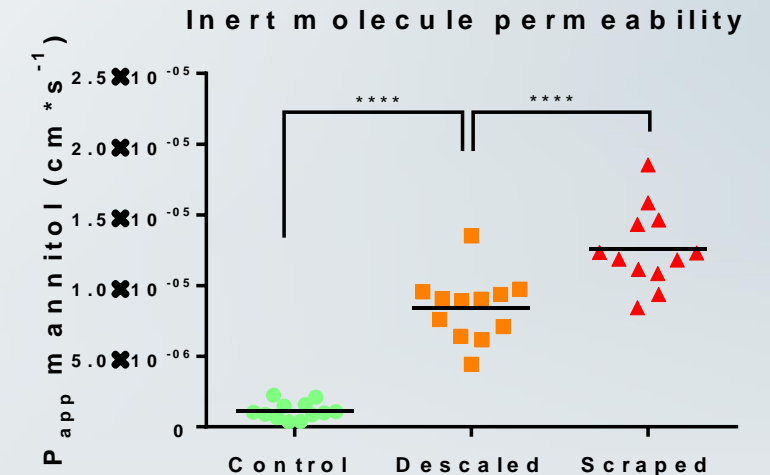
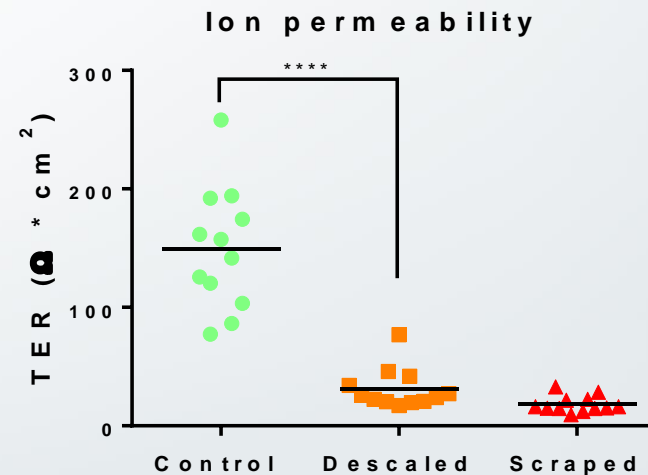


Dermis - scale/epi/muc

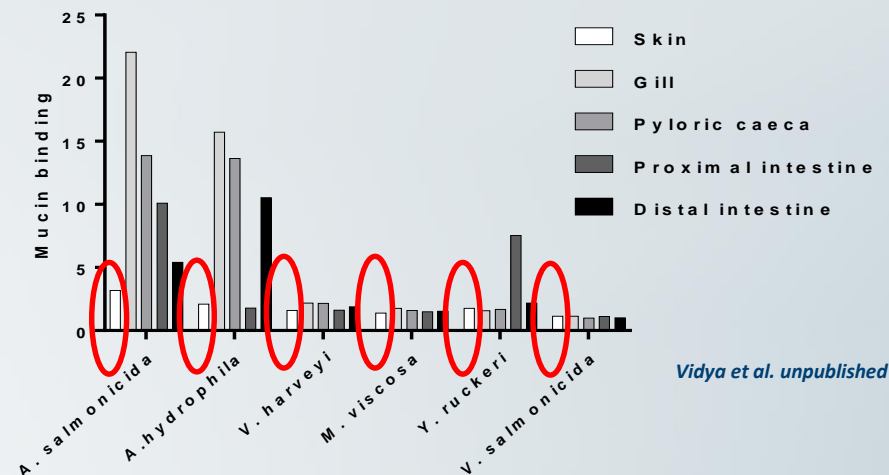
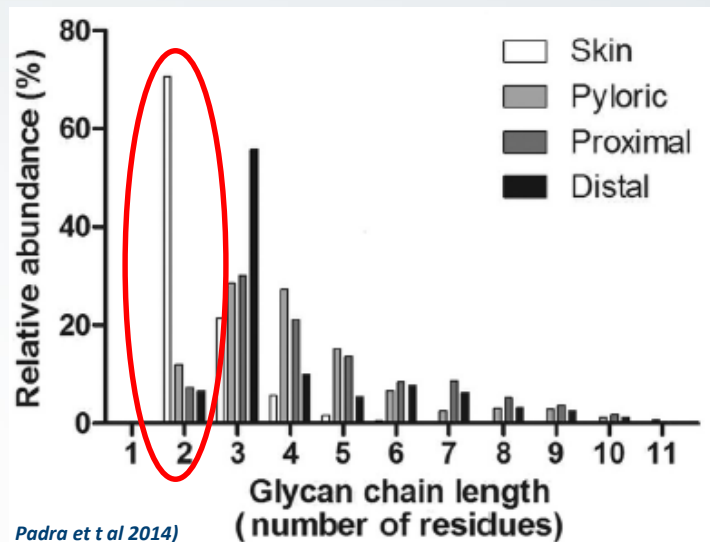
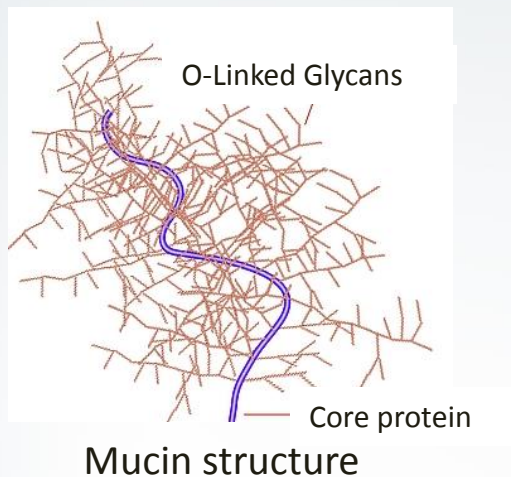
-Hovedbarrieren består av skjell, epidermis og mukus

-Skjelltap er tegn på redusert skinn-barrierefunksjon

-Tap av barrierefunksjon kan øke mottageligheten for bakterier



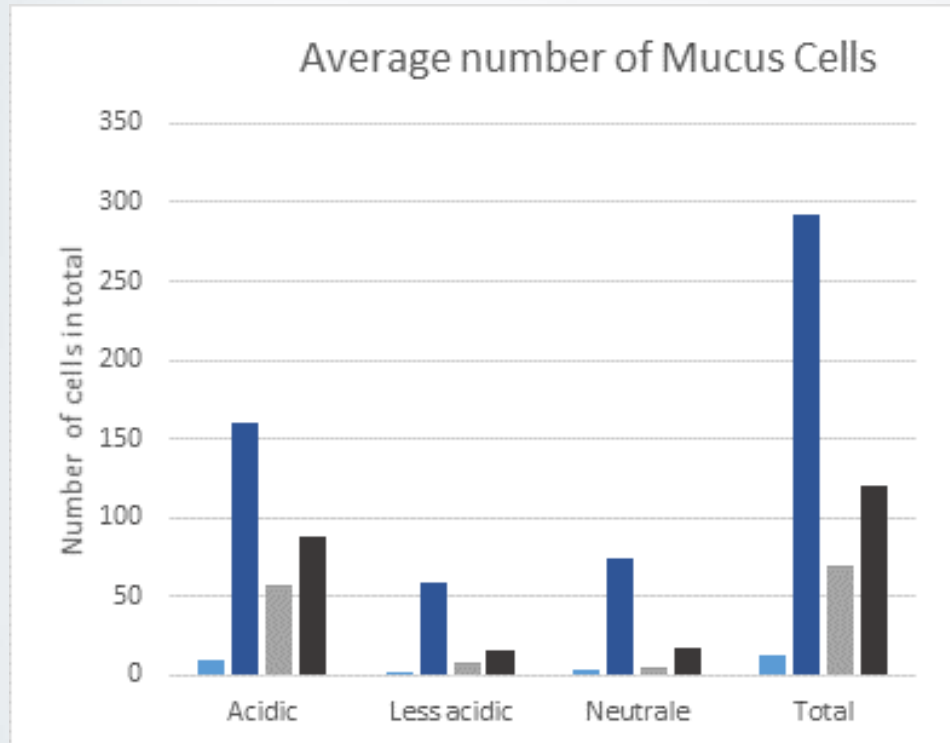
BARRIERE: Mucin glycosylering og bakteriell binding



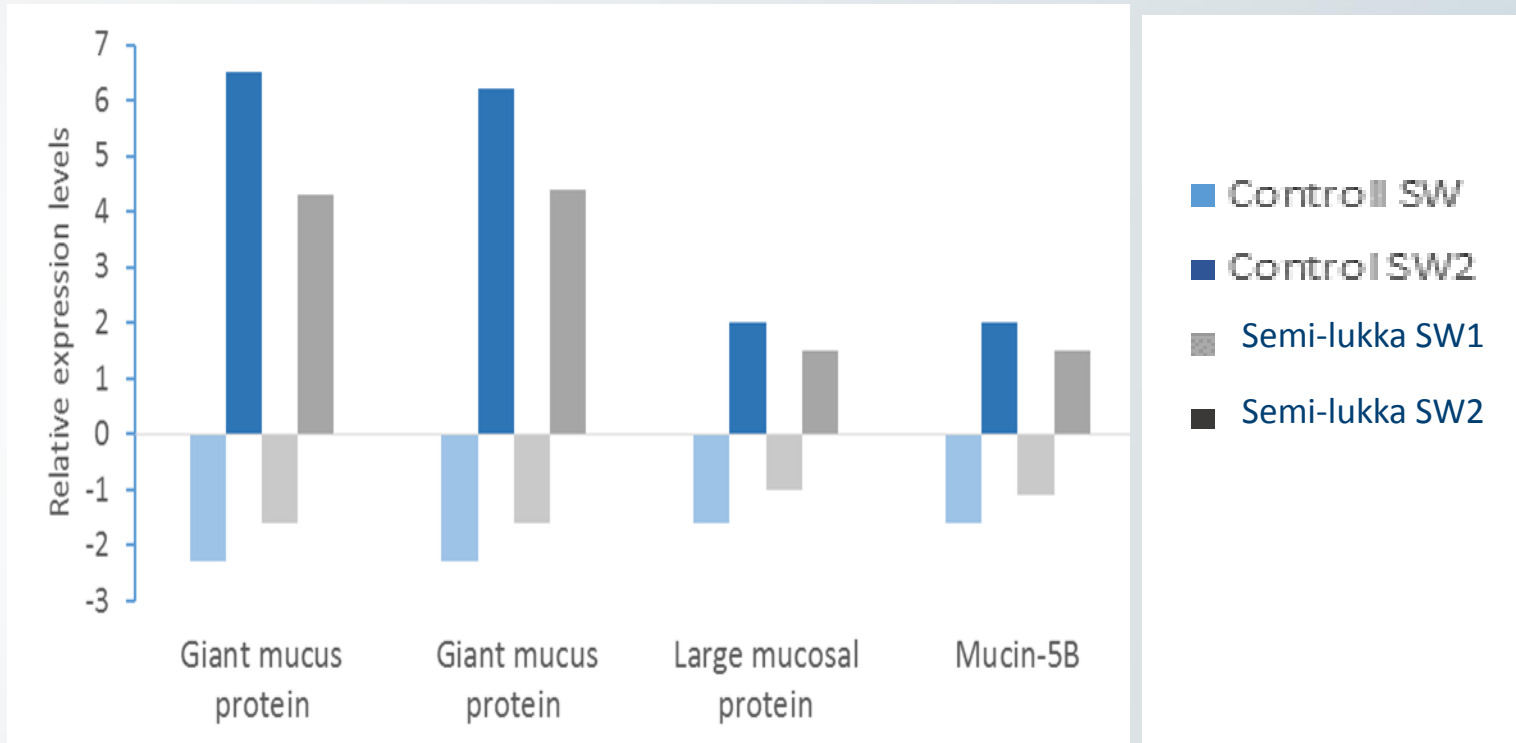
- Lav binding til korte skinn-muciner → vanskelig for bakterier å feste seg → bakterier vaskes bort
- Vannhastighet viktig for hvor mye bakterier som bindes til skinnet:
 - Høyere hastighet = lavere binding = mindre risiko for infeksjon
- Oppdrettsbetingelser og/eller fôr som fører til endringer på mucinenes glycanstrukturer kan styrke eller svekke mukusbarrieren

BARRIERE: Skinnmukus transformasjon skjer etter SV overføring

Histologi



Genanalyser (Microarray)



Mucus har en svært viktig barrierefunksjon - oppdrettsbetingelsene før og etter utsett bør optimaliseres for å ta vare på og utvikle dette.

MICROPARASITES: Mikroparasitter i lukka og semi-lukka systemer

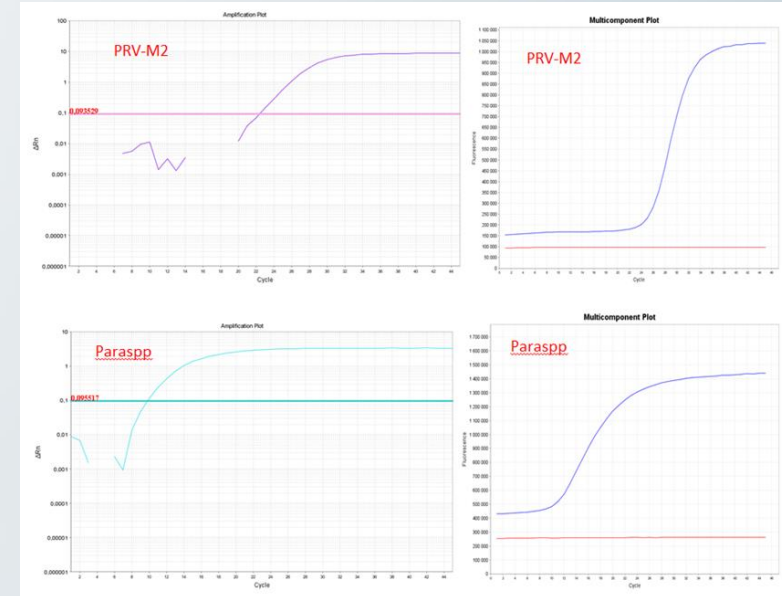
Univ. i Bergen, prosjektleder Are Nylund

Mål:

-Identifisere og karakterisere de viktigste kjente mikroparasittene i lukka og semi-lukka systemer:

- ✓ Kartlegging av diversitet, prevalens og mengde
- ✓ Kartlegging av smitteveier (introduksjon inn i lukka- og semi-lukka systemer)
- ✓ Utvikle metoder og teknologi for rask og spesifikk indentifikasjon av mikroparasitter
- ✓ Identifisering av mulige virulensmarkører

Primer / Probe	Sequence
PRV-M2-F	5'- CAA TCG CAA GGT CTG ATG CA -3'
PRV-M2-probe	FAM 5'- CTG GCT CAA CTC TC -3' MGB
PRV-M2-R	5'- GGG TTC TGT GCT GGA GAT GAG - 3'
Pox-MCP-F	5'- CAG AGG TTT TTC ATA CGC CAG AA-3'
Pox-MCP-probe	FAM 5'- TTA TAC ACC ATC ACA TTT GTG-3' MGB
Pox-MCP-R	5'- GAG GTC ACG GTG ATG ACA GAA C- 3'
PoxMcoP-F	5'- CCGTGGACGAAACCAACATT - 3'
PoxMcoP-probe	FAM 5'- AAA TCT GGA ATT CAA CAA AG - 3'
PoxMcoP-R	5'- CCC TGT CGT CTG GTG TGT CA - 3'
Ppetu-F	5'- GAT AAC CGT GGT AAA TCT AGA GCT AAT A - 3'
Ppetu-probe	FAM 5'- CTG GTT CTT TCG RGA GC - 3'
Ppetu-R	5'- TGG CAT TGG CTT TTG AAT CT - 3'
Paraspp-F	5'- TTG TCA GAG GTG AAA TTC TTG GAT T -3'
Paraspp-probe	FAM 5'- ATG AAA GAC GAA CTT CTG - 3'
Paraspp-R	5'- TGA AAA CAT CTT TGG CAA ATG C - 3'
PMCV-F	5'- AGG GAA CAG GAG GAA GCA GAA - 3'
PMCV-probe	FAM 5'- TGG TGG AGC GTT CAA - 3'
PMCV-R	5'- CGT AAT CCG ACA TCA TTT TGT GA - 3'
YerR-F	5'- GCG AGG AGG AAG GGT TAA GTG - 3'
YerR-probe	FAM 5'- TAA TAG CAC TGA ACA TTG AC - 3'
YerR-R	5'- CGG TGC TTC TGC TGC GAG TAA - 3'



MICROPARASITES:

Real time RT PCR analyser på vann og biofilm fra RAS - og semi-lukka systemer

Antall positive prøver fra karvegger (n=8)

	RNA	RNA 1+1	RNA 1+10	RNA 1+50
Nsp1 (SAV) (added control)	0	0	3	7
P. perurans	1	1	1	1
Perkinsela sp	2	3	4	3
Ca. S. salmonis	2	4	7	8
Vibrio spp	1	1	6	5
Aeromonas spp	0	0	0	0
Tenacibaculum spp	0	0	0	0
Pos Control, nsp1	Pos	Pos	Pos	Pos
Neg Control RNA	Neg	Neg	Neg	Neg
Neg Control	Neg	Neg	Neg	Neg

Erfaringer fra biofilmstudier ved bruk av real time RT PCR:

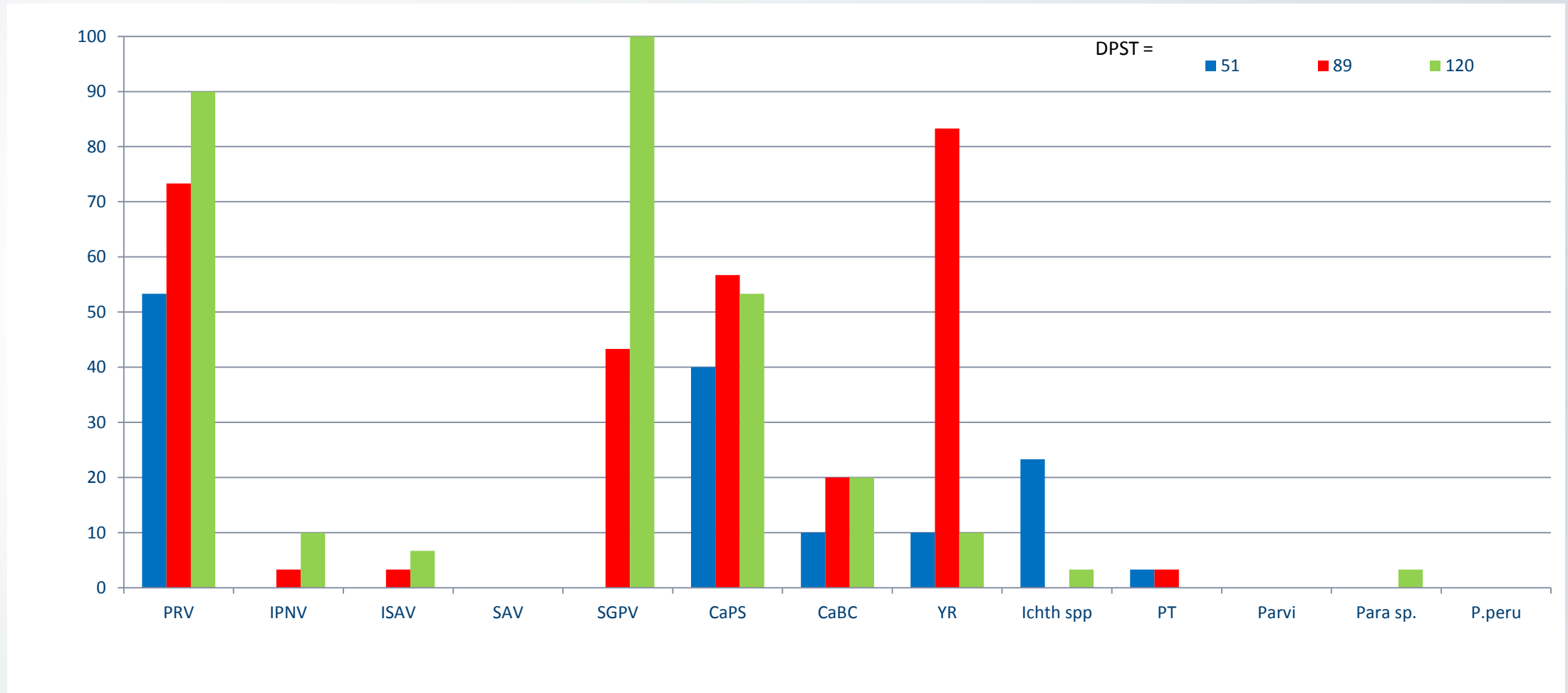
-Må optimaliseres for hver enkelt fasilitet og hvert enkelt prøvetakingstidspunkt;

-Kjenner ikke til hvordan biofilmer endres gjennom året og hvordan dette vil påvirke metodikk og analysere

-Anvendbarheten til real time RT PCR screening av biofimer?

Diversiteten til mikroparasitter i RAS – og semi-lukka systemer

DPST=days post sea transfer.

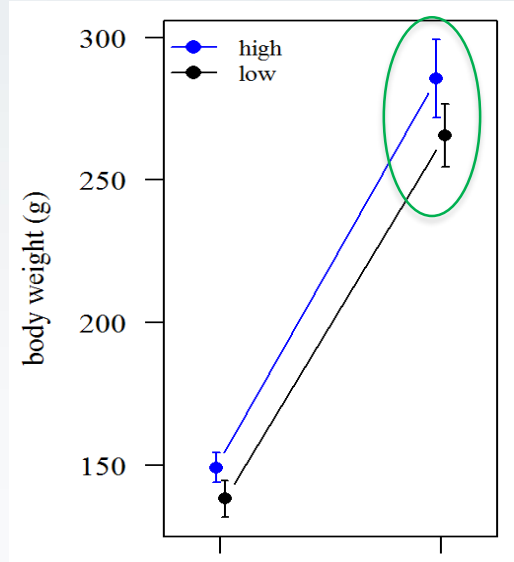


CARDIO: Optimal vannhastighet for post-smolt for bedre (hjerter-) helse

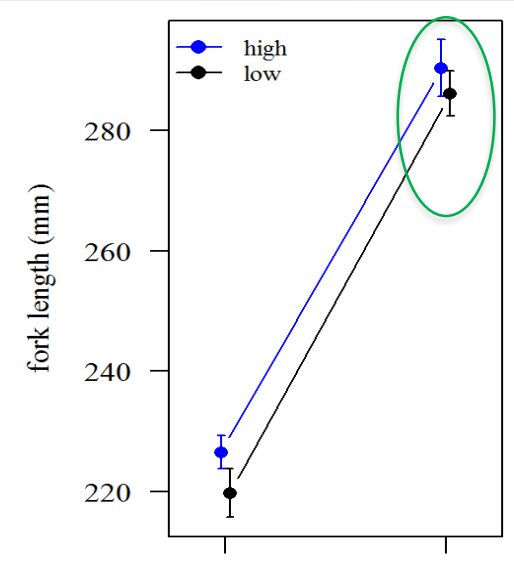
Økt vannhastighet testa i storskala ved smolt anlegg (MH)

Vannhastigheter:

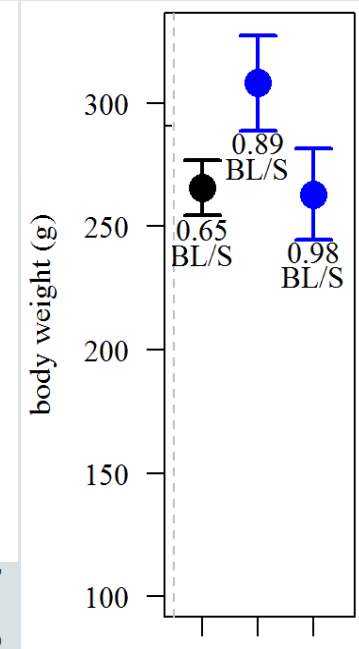
- Lav: ~0.6 KL per sek
- Høy: ~1.0 KL per sek



Okt 2016 April 2017
To faktor Anova: 0,0270
Vekt «Høy» gr: +7.74%



Okt 2016 April 2017
To faktor Anova: 0,0253
Lengde «Høy» gr: +2.29%



Kar 1 Lav
Kar 1 Høy
Kar 2 Høy

- Økt vannhastighet kan potensielt øke vekstraten til smolt
- Å finne (og å holde) korrekt vannhastighet er utfordrende
- For høye vannhastigheter vil nødvendigvis ikke gi positive effecter
- Nye forsøk med post-smolt igangsettes H-2017

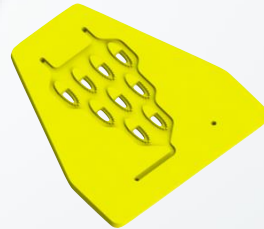
POCNAD- Point - of - care - nucleic - acid - diagnostics – on line pathogen monitoring and warning sensor

Oslofjord Ressurs Park AS, (ORP), Partner: Nofima

Utvikling av et analyseinstrument – lab on a chip – for automatisk og rask analyse av genaktivitet hos enhver celle , bakterie, eller virus som gir nøyaktig informasjon

2 patenterte teknologier:

Partikkel:
Raffinering
Separering



SepRef



Genanalyse:
Point of care
Lab on a chip

PocLoc

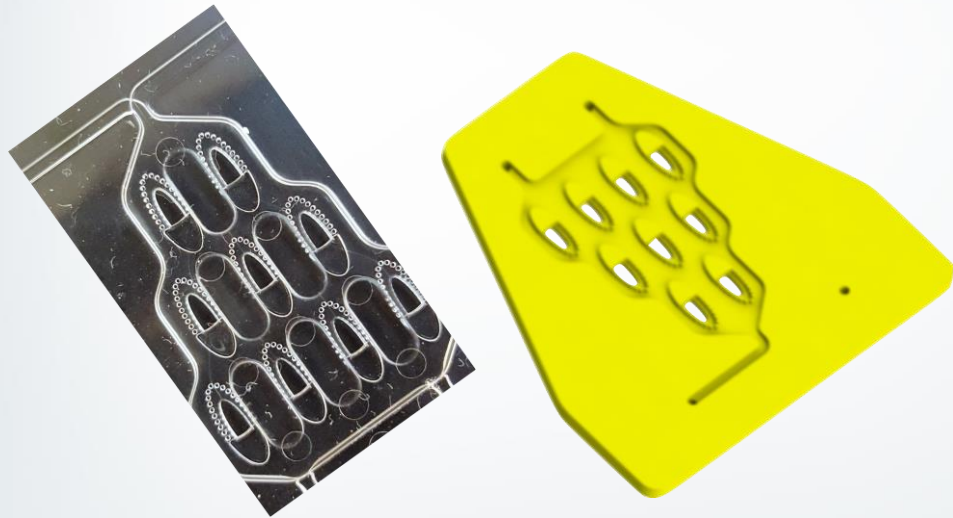
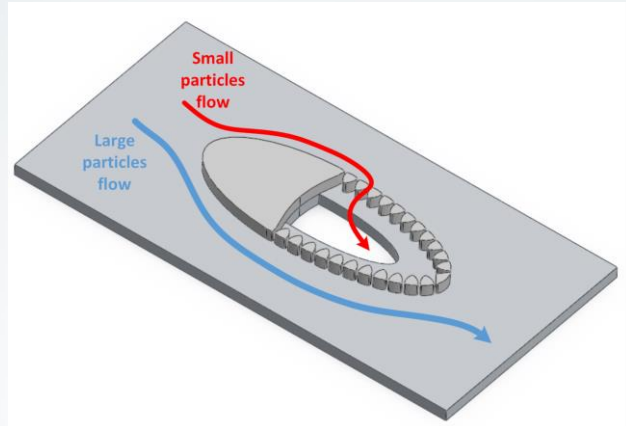
Potensiell betydning for fiskehelsen:

- Raskere deteksjon gir mulighet for raskere respons
- Mindre kostnader til behandling - gjennomføre tiltak kun ved behov
- Lave kostnader tillater hyppigere testing – kan følge utviklingen tettere og reagere mye raskere
- Ingen falske positive eller negative – mer sikre resultater
- Behøver ikke å ta ut store mengder fisk til testregimet

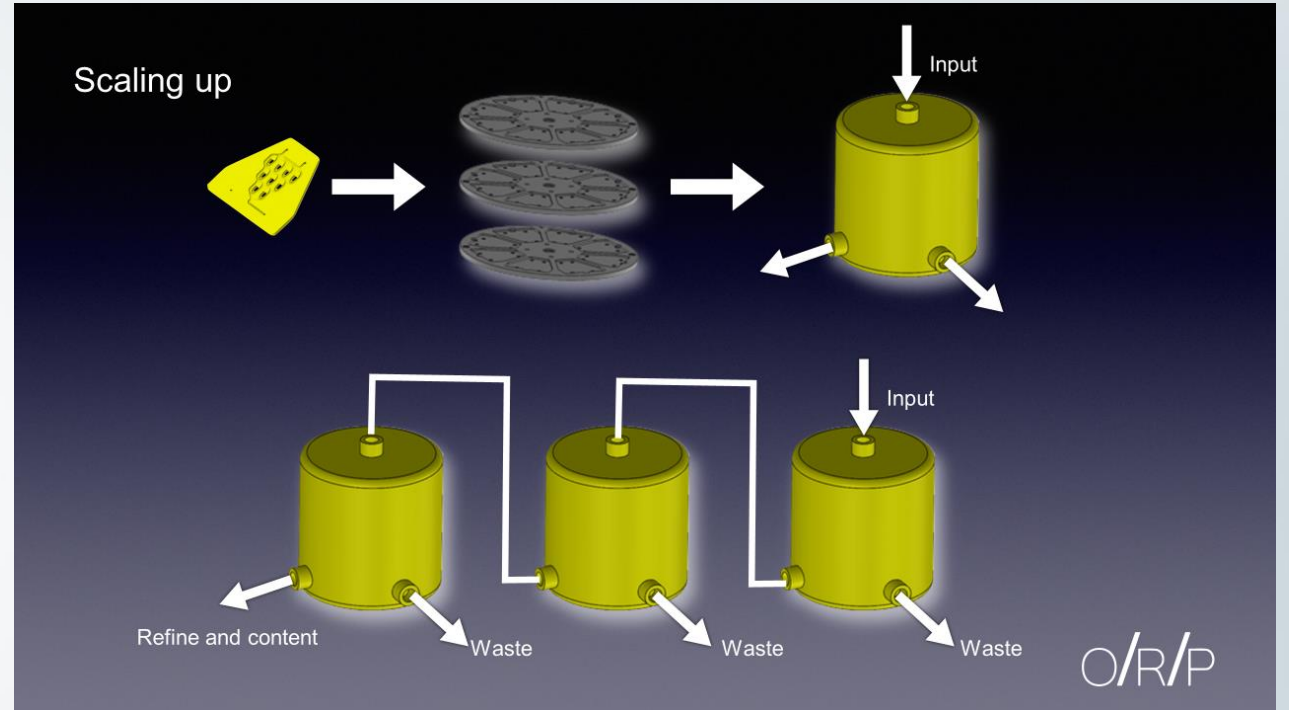


Poc LOC instrumentet med kassetten som inneholder alle komponenter nødvendig for NASBA analyse

Partikkel separasjonssystem:



Muligheter for oppskalering



POCNAD

- **Nofimas bidrag:**
- Støtte utviklingen og teste systemet
 - NASBA primer/probe design
 - Teste NASBA assays
 - Evaluere funksjonaliteten med prøver fra felt
- **Resultater (foreløpig):**
 - To NASBA primer/probes er lovende kandidater for SAV deteksjon
 - Multiplexing er mulig

