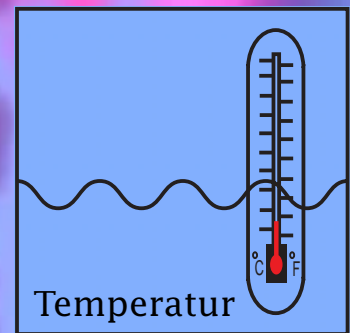
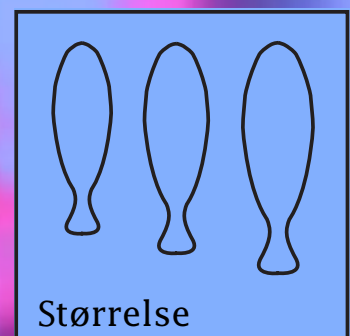


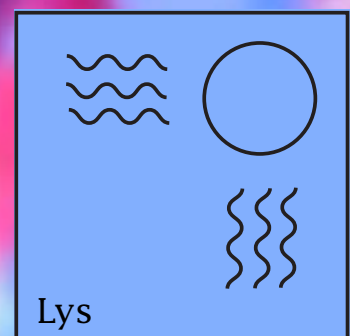
# Vaksinasjonsstrategi for reduserte bivirkninger



Betydningen av temperatur,  
fiskestørrelse og lys for utvikling  
av bivirkninger etter vaksinerings  
av Atlantisk Laks



Resultater fra et forskningsprosjekt  
mellom Intervet Norbio og  
Havforskningsinstituttet,  
Matre Havbruksstasjon



# Fokus på vaksinasjonsstrategi

Dagens vaksinasjonsstrategier er hovedsaklig basert på vaksiners egenskaper knyttet til oppbygging- og varighet av immunitet. Lite forskning er gjort for å tilpasse en helhetlig vaksinasjonsstrategi som også inkluderer en redusert risiko for utvikling av bivirkninger etter vaksiner.

Som forventet medførte overgangen fra vannbaserte til oljebaserte vaksiner en økende grad av bivirkninger. Fra de første vaksiner til dagens vaksiner er det utført et optimaliseringsarbeid for å forsøke å redusere bivirkningene. Feltefaringer avslørte imidlertid at vaksineuavhengige faktorer også spilte en vesentlig rolle for utvikling av bivirkninger. Ny kunnskap om de enkelte faktorene og samspillet mellom dem vil være avgjørende for ytterligere å kunne redusere risikoen for avvikende bivirkninger etter vaksiner.

Intervet Norbio innledet derfor et forskningssamarbeid med Havforskningsinstituttet, Matre Havbruksstasjon i 1997. Forskningsprosjektet pågår fremdeles, og er beregnet avsluttet i 2003. Målsetningen med prosjektet er å identifisere og bygge opp ny kunnskap knyttet til risikofaktorer for utvikling av bivirkninger. Basert på den nye kunnskapen håper vi å komme frem til en optimal vaksinasjonsstrategi for god effekt og reduserte bivirkninger.

Resultatene som er fremkommet så langt er utført på 1-års smolt og vaksinert med samme vaksine (som ikke lenger er for salg). Forsøkene har blitt gjennomført i industriell skala ved Matre Havbruksstasjon. Det er benyttet et stort antall fisk slik at resultatene skal være mest mulig representative for

vanlige produksjonsforhold. Pågående og nye forsøk både på 0-års- og 1-års smolt vil komplettere de allerede foreliggende resultatene på et senere tidspunkt. I denne brosjyren er det presentert utdrag fra fem avsluttede forsøk.

Betydningen av følgende vaksineuavhengige faktorer er undersøkt:

Tidspunkt for vaksiner	(Time-98)	Side 3
Temperatur kort tid etter vaksiner	(Temp-98)	Side 4
Temperatur lang tid etter vaksiner	(Temp-99)	Side 5
Størrelse ved vaksiner	(Size-98)	Side 6
Lys etter vaksiner	(Growth-97)	Side 7

Samarbeidspartnere ved Matre Havbruksstasjon har vært forsker Arne Berg, leder for Matre Havbruksstasjon Tom Hansen og hovedfagsstudent Eva-Kristine Hansen, Universitetet i Bergen.

## Hva er «Speilberg score»?

Vurdering av bivirkninger etter vaksiner foretas etter et "score"-system som er utviklet og beskrevet av veterinær Lars Speilberg. Det er en gradering av bivirkningene på en skala fra 0 til 6, hvor 0 er ingen bivirkninger og 6 er den alvorligste graden av bivirkninger. Alvorlighetsgraden er beskrevet i forhold til omfanget av

sammenvoksninger av indre organer, pigmentering og granulomdannelse i bukhulen. Bestemmelse av "Speilberg score" er en subjektiv vurdering som bør utføres av en trent person. Det er også viktig at den samme personen foretar alle evalueringene (uten å vite gruppetilhørigheten) ved behov for gjentatte uttak i et sammenligningsforsøk.

# Tidspunkt for vaksinerings

Seks fiskegrupper fra samme populasjon ble vaksinert på forskjellige tidspunkt. I perioden august-98 til mars-99 ble fiskegruppene vaksinert med seks ukers mellomrom. I dette forsøket er det ikke satt fokus på spesielle faktorer, men oppsettet vil fange opp effekten av alle faktorer som varierer som en funksjon av tid. Tidspunktet for vaksinerings er relevant for når man vaksinere 1-års smolt.

Resultatene viste at vaksinerings i august-98 ga høyest bivirkninger, mens vaksinerings i mars-99 ga lavest bivirkninger. Det var en gradvis nedgang i bivirkningsprofilen fra de tidligst vaksinerte til de senest vaksinerte. Dette forsøket gir en klar indikasjon på at grupper fra samme utgangspopulasjon, men vaksinert på ulike tidspunkt utvikler signifikant forskjellige bivirkningsprofiler. For å komme videre i arbeidet, ble det fokusert på de tre faktorene som viste størst naturlig variasjon i relasjon til tid:

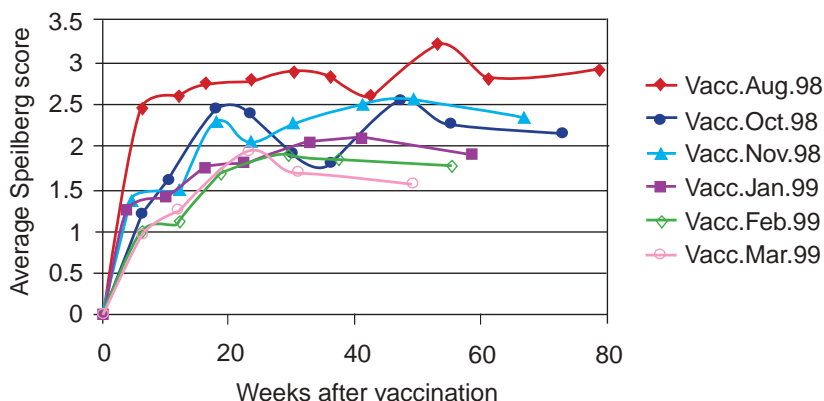
- temperatur
- fiskestørrelse
- lys

Dette er faktorer som i stor grad også er kontrollerbare med dagens teknologi i oppdrettsnæringen.

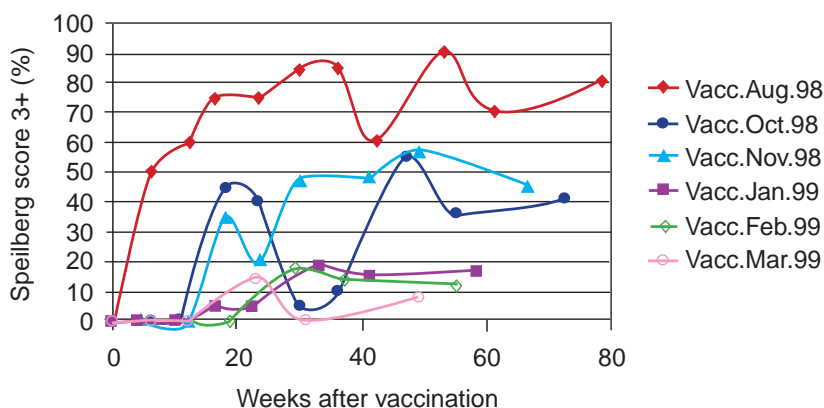
## Oppsummering

Vaksinerings på seks ulike tidspunkt fra august 1998 til og med mars 1999, med sjøsetting i mai 1999, resulterte i en gradvis nedgang i bivirkninger med lavest bivirkningsprofil for fiskegruppen vaksinert i mars.

Forsøksbeskrivelse	Time-98 VAO 98/004					
Målsetning	Undersøke betydningen av vaksinasjonstidspunkt for utvikling av bivirkninger					
Vaksinasjonstidspunkt	Aug.98	Okt.98	Nov.98	Jan.99	Feb.99	Mar.99
Størrelse ved vaksinerings	43 g	85 g	102 g	127 g	154 g	179 g
Temperatur (gj. snitt.) de første 2 ukene etter vaksinerings	14 °C	11 °C	7 °C	7 °C	7 °C	7 °C
Sjøsettelsestidspunkt	Mai 99					
Bivirkninger evaluert	Til og med 49-79 uker etter vaksinerings					



Bivirkningsutvikling relatert til tidspunkt for vaksinerings.



Frekvens av høye bivirkninger (fra "Spielberg score" 3 og oppover) relatert til tidspunkt for vaksinerings.

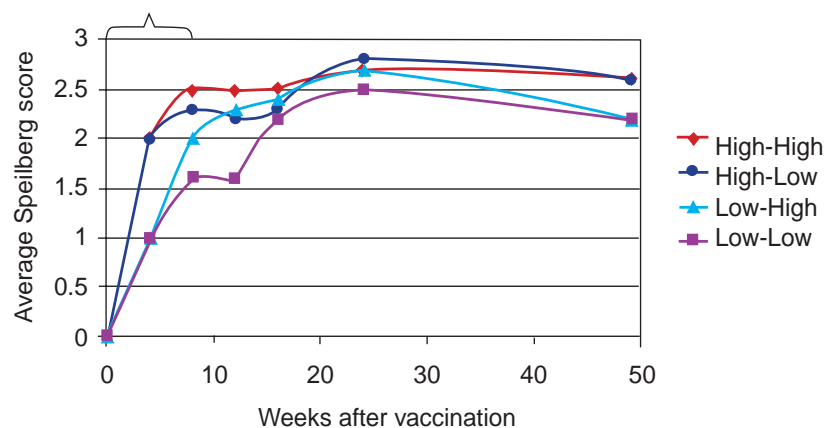
# Temperatur kort tid etter vaksinerings

Fire fiskegrupper ble vaksinert under ulike temperaturregimer. To grupper ble vaksinert ved 13 °C, mens de to resterende gruppene ble vaksinert ved 6 °C. Etter fire uker med disse temperaturene ble den ene gruppen, vaksinert ved 13 °C satt ned på 6 °C og den ene gruppen, vaksinert ved 6 °C satt opp på 13 °C. Som kontroll fortsatte gruppene, henholdsvis vaksinert ved 13 °C og 6 °C videre på samme temperatur. Etter ytterligere fire uker på de nevnte temperaturer, ble alle gruppene satt på samme temperatur.

Gruppen som hadde gått på kontinuerlig høy temperatur utviklet høyest bivirkninger, mens gruppen som hadde gått på kontinuerlig lav temperatur hadde lavest bivirkninger. Det var også en tendens til lavere bivirkninger ved "vårtemperaturregime" (Lav-Høy) i forhold til "høsttemperaturregime" (Høy-Lav). Disse forskjellene i bivirkningsgrader mellom gruppene var størst åtte uker etter vaksinerings, men avtok utover i forsøksperioden etter at alle gruppene hadde gått på samme- og forholdsvis høy temperatur.

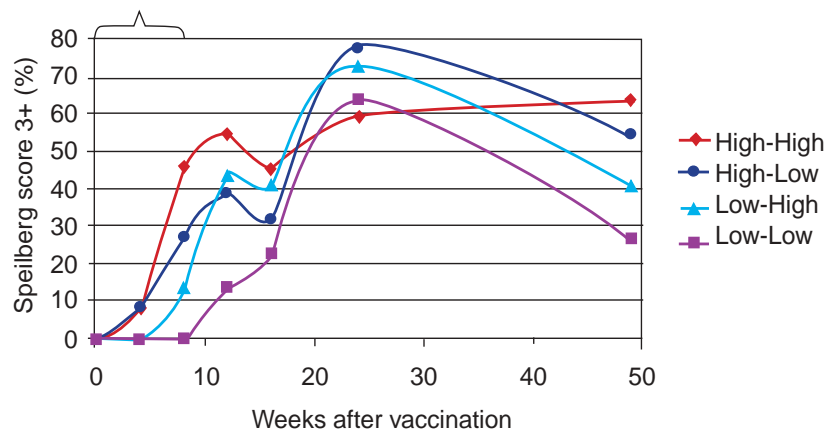
Forsøksbeskrivelse	Temp-98 VAO 98/001
Målsetning	Undersøke betydningen av ulike temperaturregimer kort tid etter vaksinerings for utvikling av bivirkninger
Vaksinasjonstidspunkt	Mars 98
Sjøsettelsestidspunkt	Mai 98
Størrelse ved vaksinerings	87 g
Tidspunkt for temperatur-differensiering	0-8 uker etter vaksinerings
Temperaturgrupper	Høy-Høy: 13 °C i 8 uker Høy-Lav: 13 °C i 4 uker, 6 °C i 4 uker Lav-Høy: 6 °C i 4 uker, 13 °C i 4 uker Lav-Lav: 6 °C i 8 uker
Bivirkninger evaluert	Til og med 49 uker etter vaksinerings

Temperature differentiation



Bivirkningsutvikling relatert til temperatur kort tid etter vaksinerings.

Temperature differentiation



Frekvens av høye bivirkninger (fra "Spielberg score" 3 og oppover) i relasjon til temperatur kort tid etter vaksinerings.

## Oppsummering

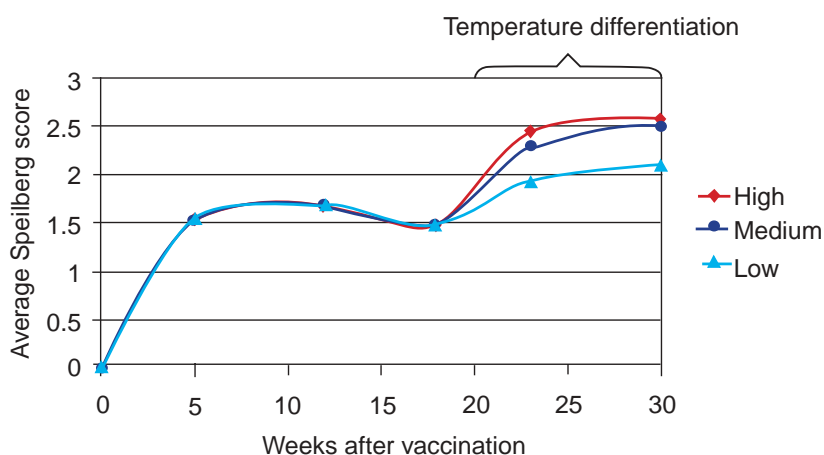
Fire ulike temperaturregimer i tidsrommet 0-8 uker etter vaksinerings, resulterte i en klar sammenheng mellom temperatur og utvikling av bivirkninger. Lave temperaturer ga lave bivirkninger, og høye temperaturer ga høyere bivirkninger.

# Temperatur lang tid etter vaksining

Tre fiskegrupper ble gitt ulike temperaturregimer lang tid etter vaksining. Frem til og med 20 uker etter vaksining gikk forsøkspopulasjonen ved samme temperatur. Etter dette tidspunktet ble populasjonen delt inn i tre grupper som i 10 uker gikk på henholdsvis 13-, 7- og 5 °C.

I dette tilfellet var det ikke forskjell i grad av bivirkninger mellom gruppene som henholdsvis gikk på 13 °C og 7 °C. Gruppen som gikk på 5 °C hadde imidlertid lavere bivirkninger enn de gruppene som hadde gått på høyere temperaturer.

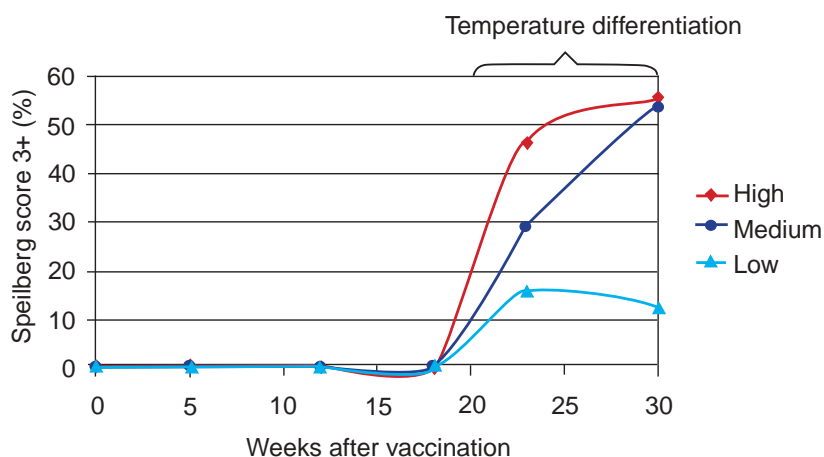
Forsøksbeskrivelse	Temp-99 VAO 99/001
Målsetning	Undersøke betydningen av ulike temperaturregimer lang tid etter vaksining, for utvikling av bivirkninger
Vaksinasjonstidspunkt	Oktober 98
Sjøsettelsestidspunkt	April 99
Størrelse ved vaksining	81 g
Tidspunkt for temperatur-differensiering	20-30 uker etter vaksining
Temperaturgrupper	Høy: Gj. snitt 13 °C Middels: Gj. snitt 7 °C Lav: Gj. snitt 5 °C
Bivirkninger evaluert	Til og med 30 uker etter vaksining



Bivirkningsutvikling relatert til temperatur lang tid etter vaksining.

## Oppsummering

Tre ulike temperaturregimer i tidsrommet 20-30 uker etter vaksining, resulterte i en klar sammenheng mellom temperatur og utvikling av bivirkninger. Den laveste temperaturen ga lave bivirkninger, mens høyere temperatur ga høyere bivirkninger.



Frekvens av høye bivirkninger (fra "Spielberg score" 3 og oppover) i relasjon til temperatur lang tid etter vaksining.

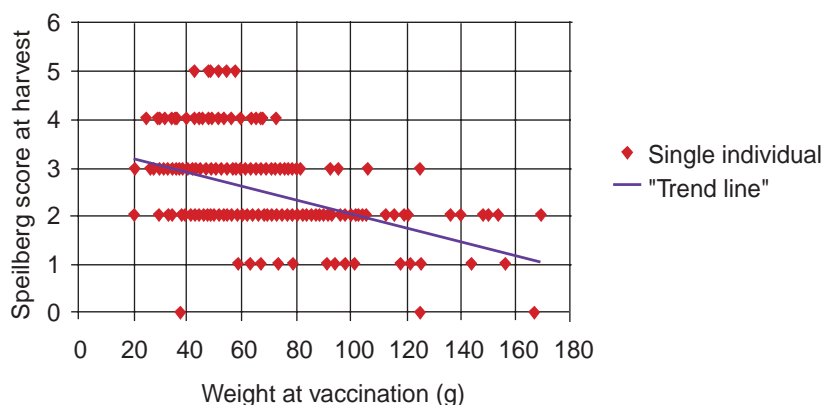
# Størrelse ved vaksinerings

En normalfordelt populasjon ble vaksinert og individmerket, slik at hver fisk kunne identifiseres gjennom hele forsøksperioden. Observasjoner på slaktelinjen kunne dermed bli relatert til størrelse ved vaksinasjonstidspunktet.

Resultatene viste en klar sammenheng mellom størrelse ved vaksinerings og grad av bivirkninger ved slakt. De minste fiskene ved vaksinerings hadde de høyeste bivirkningene. Dette indikerer at den variasjon i bivirkninger man ofte finner ved slaktelinjekontroll, kan relateres til vaksinerings av populasjoner med stor variasjon i størrelse.

Det som ofte er mest interessant å vite med hensyn til størrelse, er hvor minimumsstørrelsen for vaksinerings ligger. I dette forsøket ble det vanskelig å finne minimumsstørrelsen siden populasjonen var normalfordelt, og følgelig inneholdt få individer i de minste (og største) størrelsesintervallene. Det er derfor planlagt å gjennomføre lignende forsøk i neste prosjektperiode for å få mer eksakt dokumentasjon på dette området.

Forsøksbeskrivelse	Size-98 VAO 98/002
Målsetning	Undersøke betydningen av størrelse ved vaksinerings, for utvikling av bivirkninger
Vaksinasjonstidspunkt	November 98
Sjøsettelsestidspunkt	Mai 99
Størrelse ved vaksinerings	20-168 g, Gjennomsnitt: 58 g
Bivirkninger evaluert	Til og med 88 uker etter vaksinerings



Bivirkninger ved slakt relatert til størrelse ved vaksinerings.

## Hvordan er bivirkningsutviklingen i en populasjon av 1-års smolt?

Utvikling av bivirkninger etter vaksinerings er en dynamisk prosess. I den første fasen etter vaksinerings (de første 1-3 månedene) vil sammen-voksningene være svake- og diffust spredt i bukhalen. I den mellomste fasen (3-12 måneder etter vaksinerings) blir sammenvoksningene sterkere- og mer organisert i spesielle områder i bukhalen. I denne fasen vil bivirkningene være på sitt

høyeste nivå. I den siste fasen (mer enn 12 måneder etter vaksinerings) vil det foregå en heling, og grad av bivirkninger reduseres. Sesongvariasjoner som følge av endringer i temperatur vil også gi svingninger i bivirkningsnivå gjennom produksjonstiden. Grad av bivirkninger som registreres i den siste delen av mellomfasen, vil gi et bilde på hva en kan forvente på slaktelinjen.

### Oppsummering

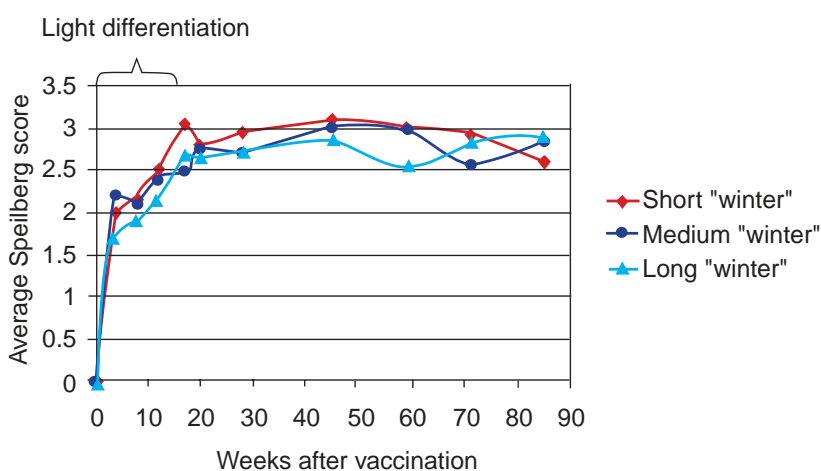
Vaksinerings av en individmerket populasjon resulterte i en klar sammenheng mellom størrelse ved vaksinerings og utvikling av bivirkninger. Økende størrelse medførte lavere bivirkninger ved slaktetidspunktet.

# Lys etter vaksineri ng

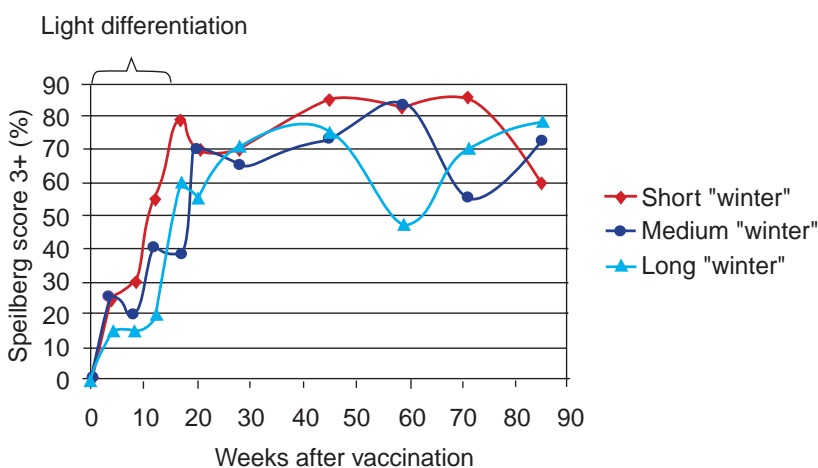
Tre fiskegrupper ble gitt ulike lysregimer i en periode på 16 uker etter vaksineri ng. Først fikk gruppene 24 timer lys pr. døgn i henholdsvis 10, 6 og 2 uker etter vaksineri ng. Etter dette fikk de i nevnte rekkefølge redusert daglengde (12 timer lys pr. døgn) i henholdsvis 6-, 10- og 14 uker.

Den gruppen som bare fikk 12 timer lys pr. døgn i 6 uker (kort "vinter") utviklet høyest bivirkninger, mens gruppen som fikk 12 timer lys pr. døgn i 14 uker (lang "vinter") utviklet lavest bivirkninger. Gruppen som fikk 12 timer lys pr. døgn i 10 uker (middels "vinter") hadde et bivirkningsforløp midt i mellom de andre to gruppene. Forskjellen mellom gruppene var størst i ferskvannsfasen (under perioden med lysdifferensiering). Etter dette ble forskjellen mellom gruppene mindre, men lys må sies å ha en viss betydning for utvikling av bivirkninger.

Forsøksbeskrivelse	Growth-97 VAO 97/001
Målsetning	Undersøke betydningen av lys etter vaksineri ng for utvikling av bivirkninger
Vaksinasjonstidspunkt	Oktober 97
Sjøsettelsestidspunkt	April 98
Størrelse ved vaksineri ng	58 g
Tidspunkt for lysdifferensiering	0-16 uker etter vaksineri ng
Lysgrupper	Kort "vinter": 24 timer lys/døgn i 10 uker, 12 timer lys/døgn i 6 uker Middels "vinter": 24 timer lys/døgn i 6 uker, 12 timer lys/døgn i 10 uker Lang "vinter": 24 timer lys/døgn i 2 uker, 12 timer lys/døgn i 14 uker
Bivirkninger evaluert	Til og med 85 uker etter vaksineri ng



Bivirkningsutvikling relatert til lys etter vaksineri ng.



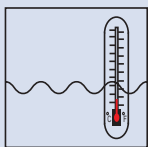
Frekvens av høye bivirkninger ("Spielberg score" 3 og oppover) relatert til lys.

## Oppsummering

Tre ulike lysregimer i tidsrommet 0-16 uker etter vaksineri ng resulterte i en svak sammenheng mellom lys og utvikling av bivirkninger. Lang "vinter" ga lave bivirkninger, mens kort "vinter" ga høyere bivirkninger.

# Anbefalt vaksinasjonsstrategi

## Temperatur

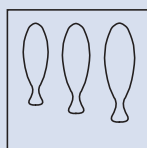


Vanntemperatur er en faktor som har stor betydning for graden av

bivirkninger etter vaksinerings. Vaksinen vil av fisken oppfattes som et fremmed stoff som den forsøker å uskadeliggjøre. Immunsystemet induserer en betennelsesreaksjon som er en viktig del av immunitetsoppbyggingen, men den samme reaksjonen vil også kunne gi bivirkninger som et ledd i å eliminere/innkapsle vaksinen. Ved høy temperatur vil den initielle betennelsesreaksjonen både være kraftig og inntre hurtig. Dette resulterer i en rask oppbygging av immuniteten, men også en økt risiko for at betennelsesreaksjonen manifesterer seg som avvikende bivirkninger. Konsekvensen av høy temperatur i den første fasen etter vaksinerings har større betydning for bivirkningsnivået enn høy temperatur senere i produksjonen. Basert på de foreliggende resultater presentert i denne brosjyren, men også andre forsøk, bør man

unngå å vaksinere ved temperaturer over 9 °C. Optimalt bør vaksineringsen foregå ved stabilt lave temperaturer og uten store svingninger i den etterfølgende perioden. Etter en tid med stabile temperaturer, kan den gradvis økes.

## Størrelse

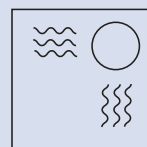


Fiskestørrelse ved vaksinerings er den andre faktoren som har stor påvirkning på

nivå av bivirkninger. I forsøkene som er utført så langt, ble det benyttet en vaksine som erfaringsmessig var knyttet til en høy risiko for bivirkninger. Basert på de foreliggende resultater, kan man eliminere majoriteten av "Speilberg score" 3, 4 og 5 ved å vaksinere fisk over 70 gram. Resultatene viste også at det er viktig å sortere fisken godt før vaksinerings. I en usortert fiskepopulasjon med tilfredsstillende gjennomsnittsvekt, kan man likevel risikere at en stor del av fisken har for lav vekt. Sammenhengen mellom størrelse ved vaksinerings og

utvikling av bivirkninger vil være en generell mekanisme hos produkter basert på vann i olje emulsjoner. Men produktets egenskaper vil være bestemmende for anbefalinger med hensyn til minimusstørrelse ved vaksinerings. Ved bruk av dagens vaksiner vil man trolig kunne vaksinere mindre fisk enn 70 gram uten stor risiko for avvikende bivirkninger. Dette vil dokumenteres i oppfølgende forsøk ved Matre Havbruksstasjon.

## Lys

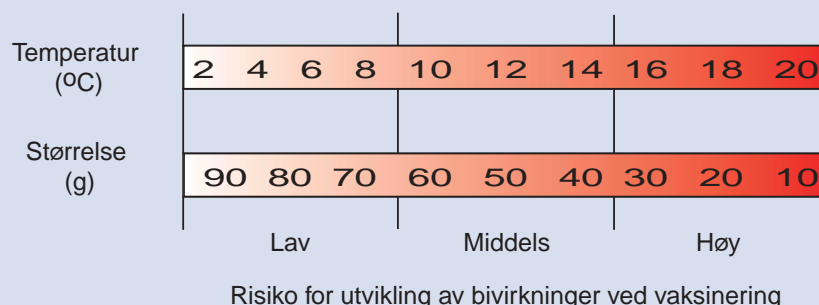


Lys har mindre betydning for utvikling av bivirkninger sammenlignet

med temperatur og størrelse ved vaksinerings. Ved ulike lysregimer vil de endokrinologiske prosessene påvirkes. Lyset vil blant annet fremskynde smoltifiseringen og veksthastigheten. Det er imidlertid ikke utført tilstrekkelige forsøk på nåværende stadium til å angi i hvilken grad dette har betydning.

## Vaksinering av 1-års smolt anbefales utført:

- ved stabilt lave vanntemperaturer
- på en godt sortert populasjon med høyest mulig gjennomsnittsvekt



Vaksinering innenfor de oppgitte rammene av lav risiko og tildels middels risiko, vil være en god forsikring mot utvikling av høye bivirkninger. Man vil få en gradvis additiv/synergistisk negativ effekt ved å foreta vaksinerings i retning mot høyrisikoområdene. De oppgitte intervallene gjelder for en vaksinetypen som hadde høy risiko for utvikling av bivirkninger. For andre vaksinetypen må grensene for risikoområdene tilpasses spesielt.