

# ***Prevent***

***Salmon louse – Prevention and Treatment***

**Hva er oppnådd til nå?**

**H. Craig Morton**



**INSTITUTE OF MARINE RESEARCH**  
**HAVFORSKNINGSINSTITUTTET**

# Partners

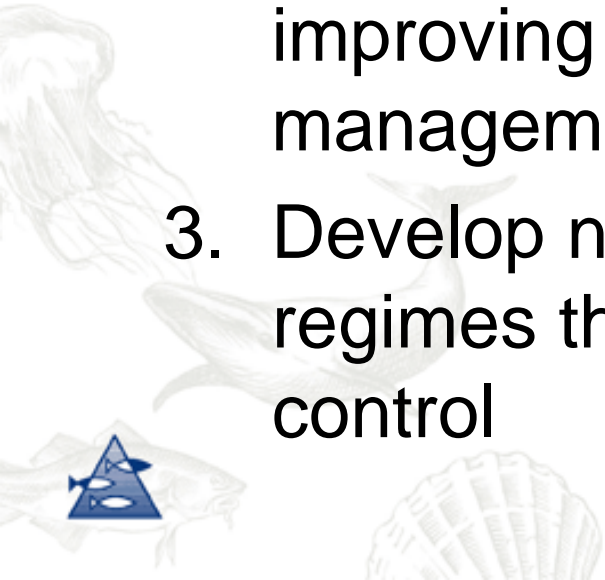
- **Havforskningsinstituttet (Institute of Marine Research, IMR)**
  - CIGENE
- **Universitetet i Bergen (University of Bergen, UoB)**
  - Sea Lice Research Center
  - University of Victoria
- **Veterinærinstituttet (National Veterinary Institute, NVI)**
  - NINA
  - Norwegian Computing Center
- **Norges veterinærhøgskole (Norwegian School of Veterinary Science, NSVS)**
  - VESO
  - Atlantic Veterinary College





# Summary of Tasks

1. Monitor the situation in order to enable governmental management to act according to the actual situation
2. Develop tools that will facilitate more detailed and thorough monitoring, thus improving the knowledge base for management decision makers
3. Develop new treatments and farming regimes that will bring the situation under control



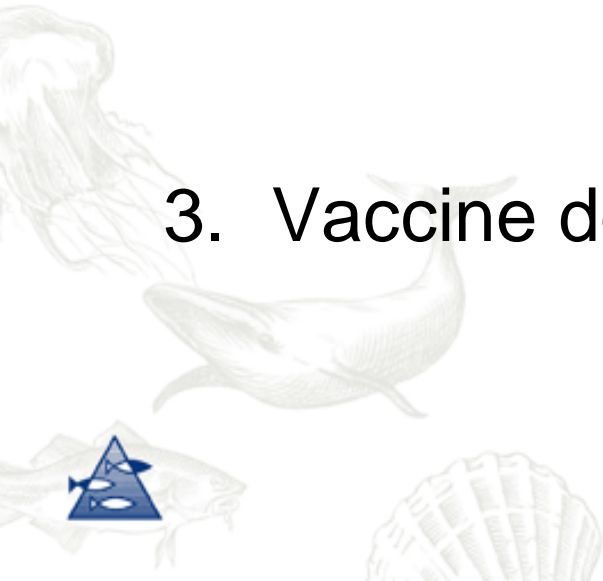
# Summary of Tasks

1. Better monitoring

2. Better tools

3. Vaccine development

Better management



# Summary of Tasks

## 1. Better monitoring

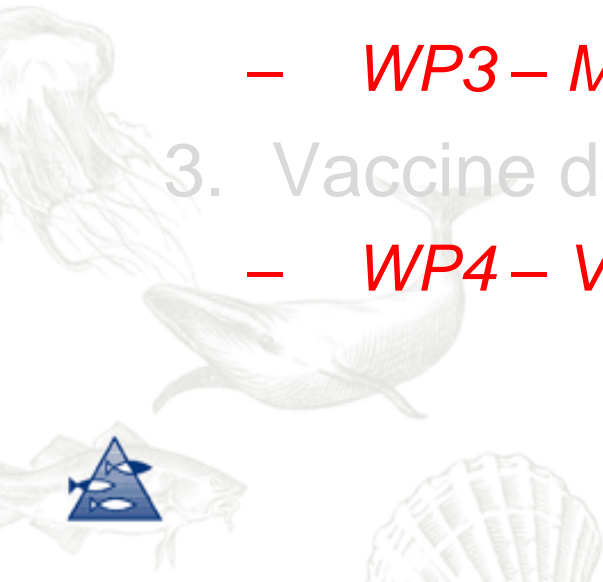
- *WP1 - Epidemiology*

## 2. Better tools

- *WP2 – Genetic markers*
- *WP3 – Mechanisms of drug resistance development*

## 3. Vaccine development

- *WP4 – Vaccine development*



# ***Task 1***

## ***Better monitoring***

### ***WP1 – Epidemiology***

***Leader – Peder A. Jansen (NVI)***



# WP 1 Epidemiologi

Hovedmålet er å utvikle en populasjonsdynamisk modell som dekker alle oppdrettspopulasjoner av laks

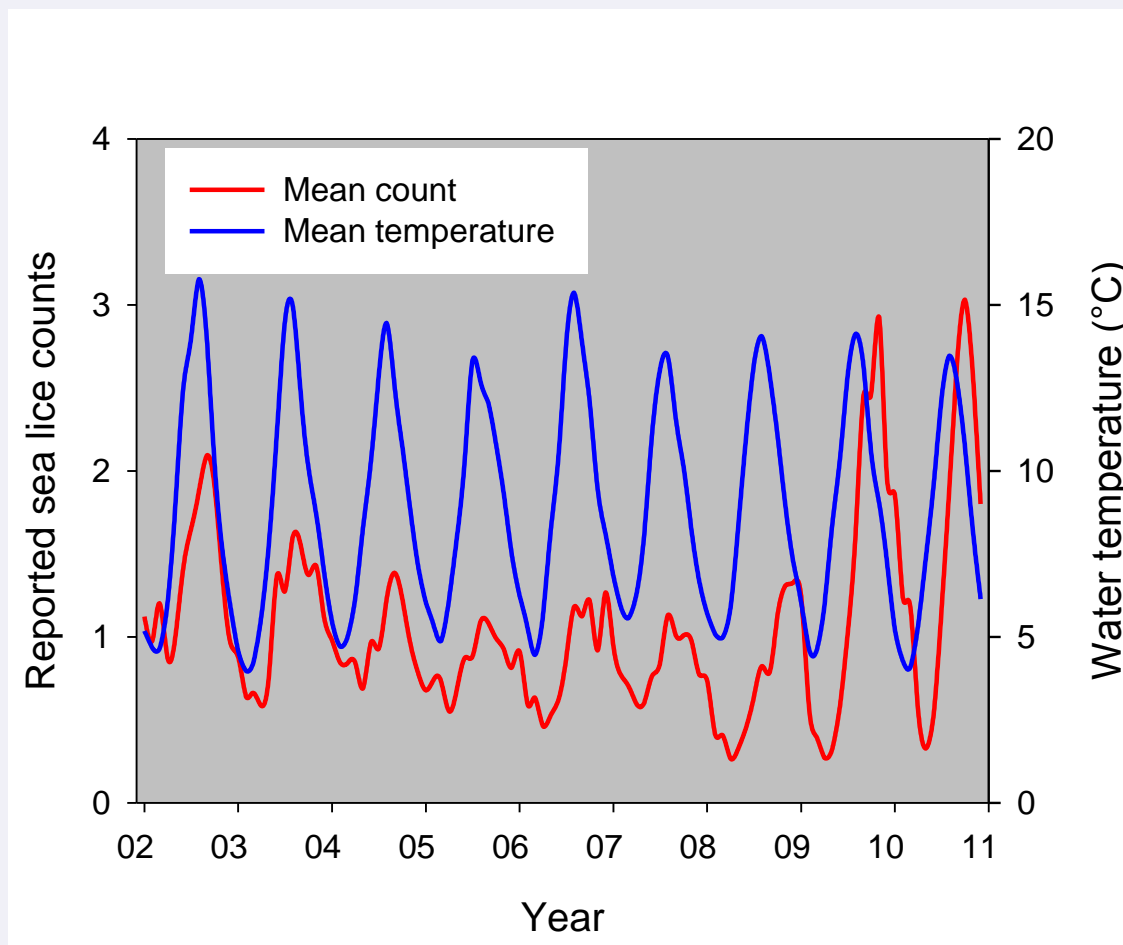
Delmål:

1. Estimere forekomst av ulike stadier av lakselus, og vise dette i kart på nett i nåtid og som fremtidsvarsel
2. Identifisere områder og lokaliteter med resistensproblemer
3. Initiere bruk av modellene til simulering av effekter av tiltak
4. Teste prediksjoner for spredning av lakselus med strømmodeller
5. Identifisere viktige kunnskapshull og databehov





# Grunnlaget for hele prosjektet: Hvilke faktorer er bestemmende for den røde linjen - rapporterte lusettall?

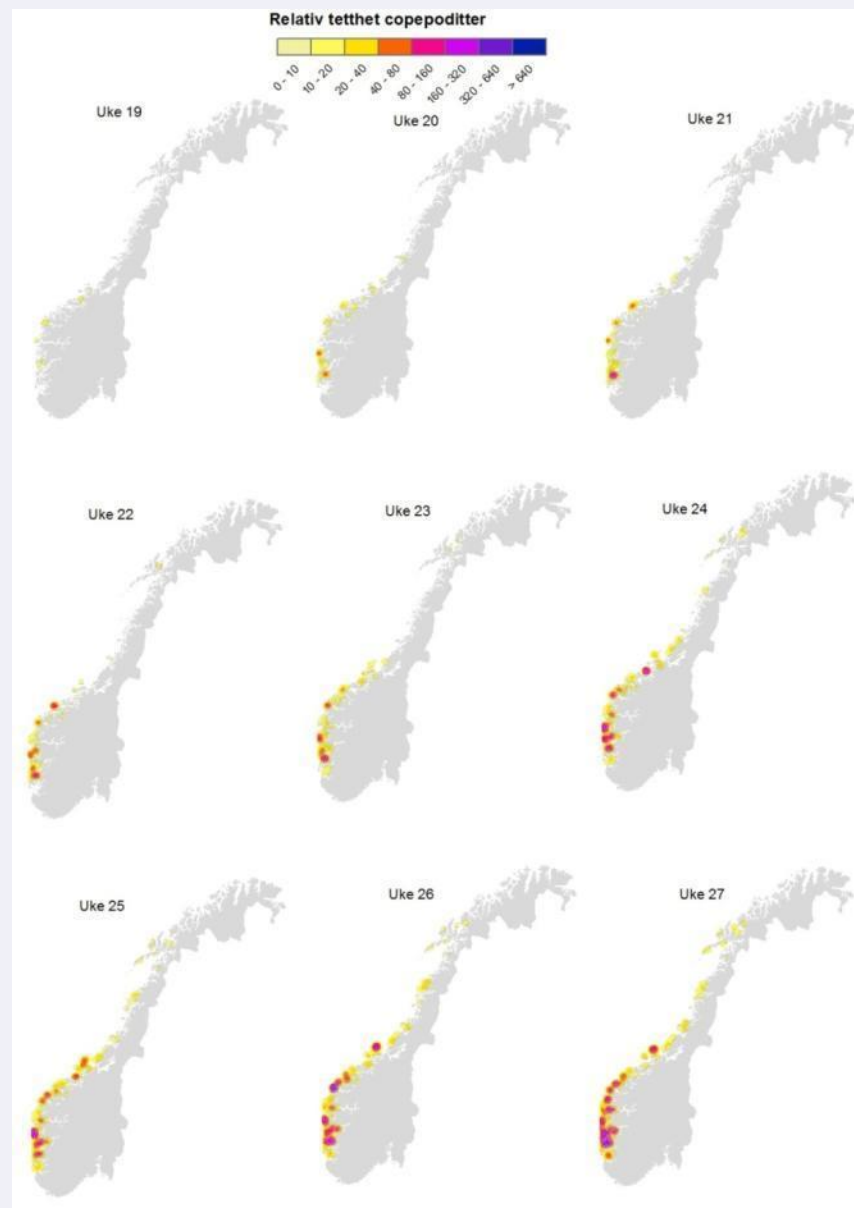
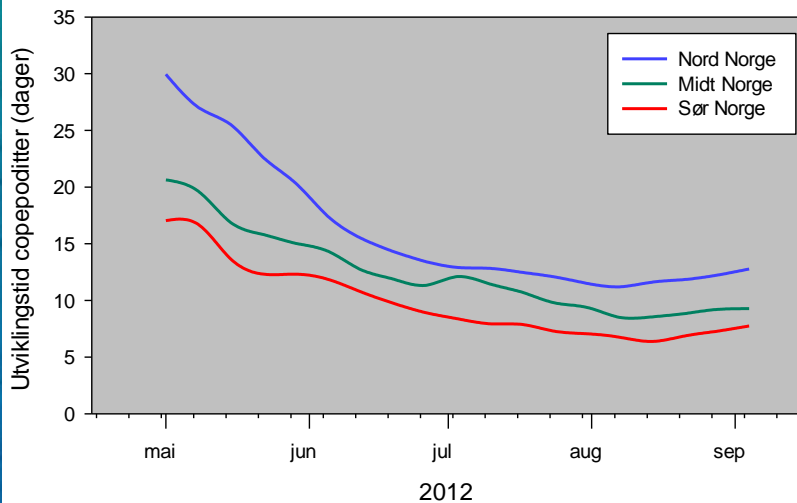
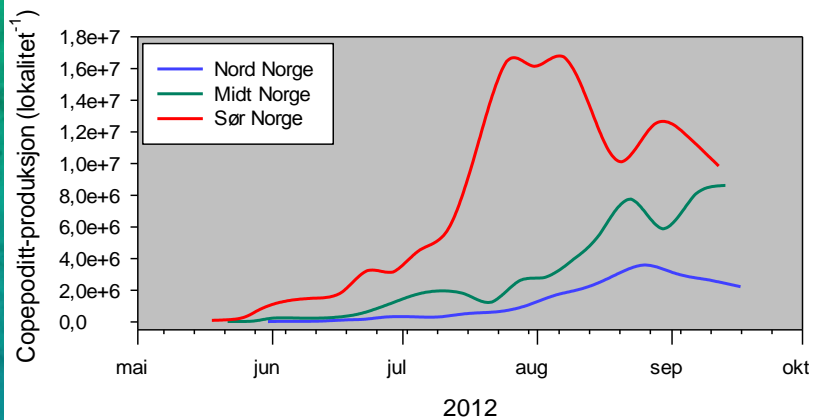


## **Sea lice as a density-dependent constraint to salmonid farming**

Peder A. Jansen<sup>1,\*†</sup>, Anja B. Kristoffersen<sup>1,4†</sup>,  
Hildegunn Viljugrein<sup>1,5</sup>, Daniel Jimenez<sup>1</sup>, Magne Aldrin<sup>2,6</sup>  
and Audun Stien<sup>3</sup>

- Fish density is the main determinant of sea lice abundance
- Analyses suggest that current management regimes will lead to increasing sea lice infection pressure in fish farms
- This will lead to more chemotherapeutic control and hence the risk of development and the spread of treatment resistance
- Regulations will need to go from a threshold defined for the average infection per fish to a threshold based on a measure of the spatial sea lice density.

# Modell for beregning av smittepress i reell tid er under utvikling og uttesting



# WP1 Epidemiologi: Foreløpige konklusjoner

Lokal tetthet av oppdrettslaks påvirker gjennomsnittlig luseinfeksjon, behandlingsfrekvens og bruk av leppefisk

Analyser av tidsseriedata gir estimat på den relative betydningen av ulike smittekilder og hvordan lokaliteter står i smittekontakt relativt til sjøavstand lokalitetene imellom

Modell for beregning av smittepress i reell tid er under utvikling og uttesting

# ***Task 2***

## ***Better tools***

***WP2 – Genetic markers***

***WP3 – Mechanisms of drug  
resistance development***

***Leader WP2 – Kevin Glover (IMR)***

 ***Leader WP3 – Tor E. Horsberg (NSVS)***

# ***WP2 – Genetic markers***

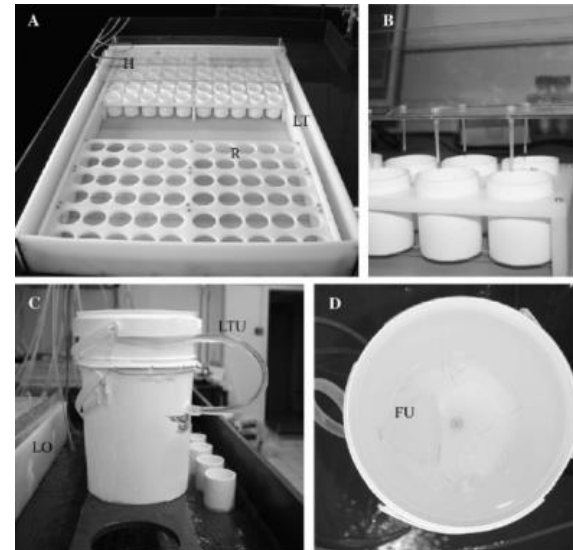
## Aims:

- To produce a large resource of SNP markers for *L. salmonis*
  - Identify 1000's of SNPs in lice (re-sequencing)
  - Produce a SNP chip
  - Produce a linkage map of lice genome (position of genes)
  - *Population genomics*
  - *Markers under selection*
- To study adaptation in the salmon louse
  - Produce an experimental pipeline
  - Study family variation in emamectin benzoate (EB) tolerance
  - *Study family variation in salinity and temperature tolerance*

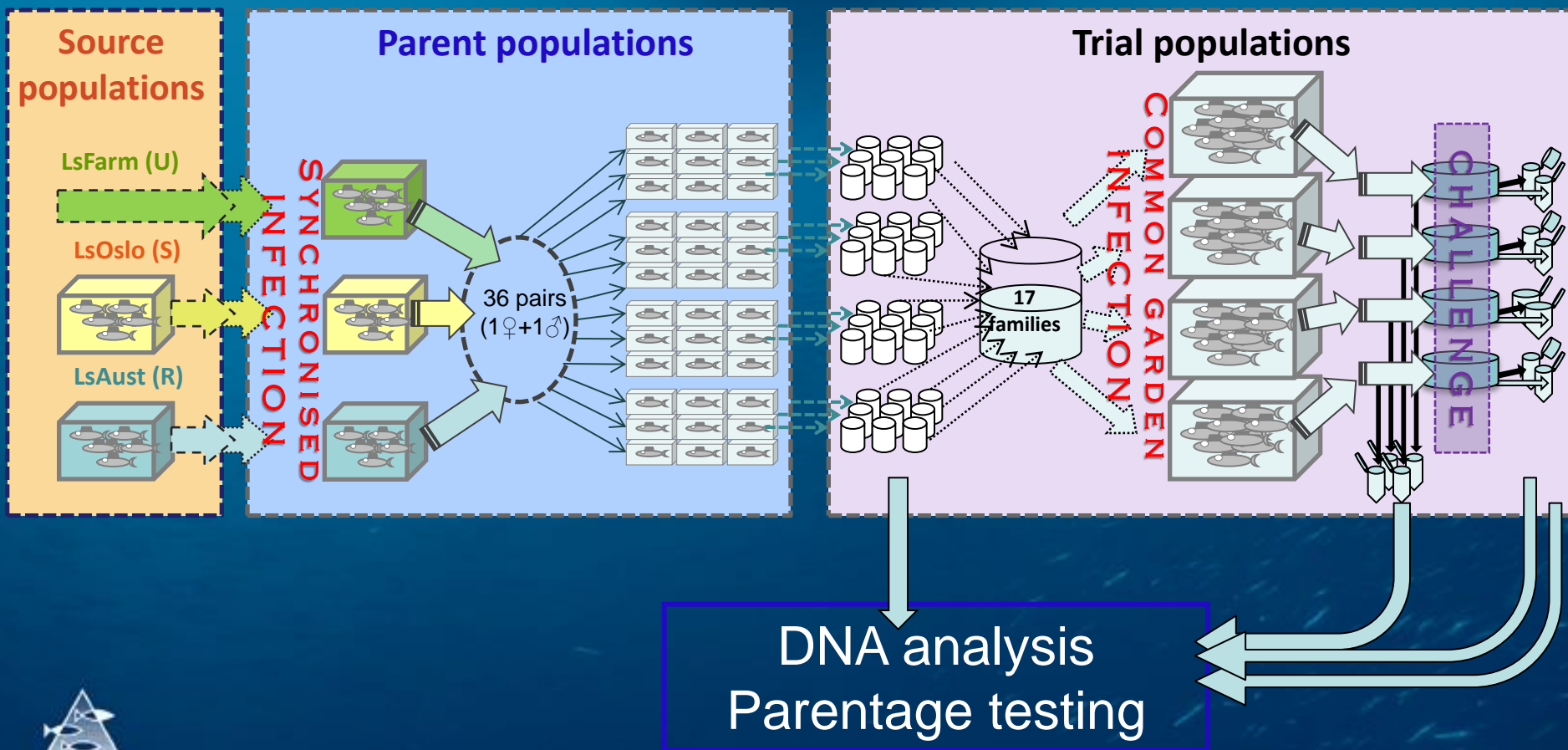


# Family sensitivity to EB

- 17 full sibling families from 4 groups of lice
  - 'Resistant' lab. strain
  - 'Sensitive' lab. strain
  - Hybrid between 'Resistant' and 'Sensitive'
  - Wild pop.- unknown resistance status



# Method development: Producing full-sibling lice families





# Conclusions from EB study:

1. Large inter-family variation in sensitivity to EB
2. Sensitivity to EB not correlated with infectivity – no apparent cost
3. Two out of seven *L. salmonis* families from the fish farm clearly displayed reduced sensitivity to EB



# Publications

1. Population genomics – 1 pop of lice or more in the Atlantic?
2. Linkage map – a contribution to the genome paper
3. Family variation in susceptibility to EB + bioassay consequences
4. 3 papers for experiments using family approach (salinity, temperature and host preferences)
5. Total 6 scientific papers



# ***WP3 – Resistance development and monitoring***

1. Utvikling av raske èn-dose bioassays for en enkel vurdering av lakselusas følsomhet mot de ulike behandlingsalternativene ”på merdkanten”
2. Utvikling av lab-baserte assays med høy kapasitet for å påvise biokjemiske / molekylærbiologiske markører for resistens i lakselus

# Utvikling av raske èn-dose bioassay

- Dagens bioassays
  - eksponere 120 preadulte parasitter for 6 konsentrasjoner av et lakselusmiddel
  - Det benyttes ulike protokoller for hvert middel
  - Undersøkelsene er arbeidskrevende og kan bare gjøres i laboratorium av trenet personale
- Forenklet bioassay
  - færre parasitter pr. middel som skal undersøkes
  - Protokollen er den samme for alle midler
  - Low-tech: trenges ingen spesielle ferdigheter for å lese av resultatet
  - Assayet utføres med en kontrollgruppe og to konsentrasjoner av behandlingsmidlet

# Utvikling av raske èn-dose bioassay

- Glass er det beste materialet for å utføre testene i
- Konsentrasjonene som best skiller resistente og følsomme populasjoner er bestemt og ferdig validert for azametifos (Salmosan), deltametrin (AlphaMax) og emamektin (SLICE)
- Publisert i J. Fish Dis.
- Konsentrasjoner som predikerer hvilken effekt man kan forvente av en behandling er bestemt, men ikke endelig validert
- Metoden er tatt i bruk av Mattilsynet i forbindelse med overvåkingsprogrammet for resistens i lakselus i 2013
- Metoden er også prøvd ut i Chile mot *C. rogercresseyi* med godt resultat

# Utvikling av høy-kapasitets lab-metoder for resistenspåvisning

- Lab-metoder kan ikke erstatte bioassays fordi de fordrer at resistensmekanismer er kjent, mens bioassays også kan brukes ved ukjent mekanisme
- Når mekanismene først er kjent kan det settes opp høy-kapasitets metoder som egner seg for overvåkingsprogrammer
- I regi av lakselussenteret (SLRC) er det påvist en mutasjon som forårsaker azametifosresistens
- To hurtigmetoder for påvisning er utviklet: Et High Resolution Melt assay (HRM) som brukes på NVH, og et Taq Man assay som firmaet PatoGen har satt opp
- Sistnevnte assay vil bli tilbudt næringen i løpet av 2013

# ***Task 3***

## ***Vaccine development***

### ***WP4 – Vaccine development***

#### ***Leaders***

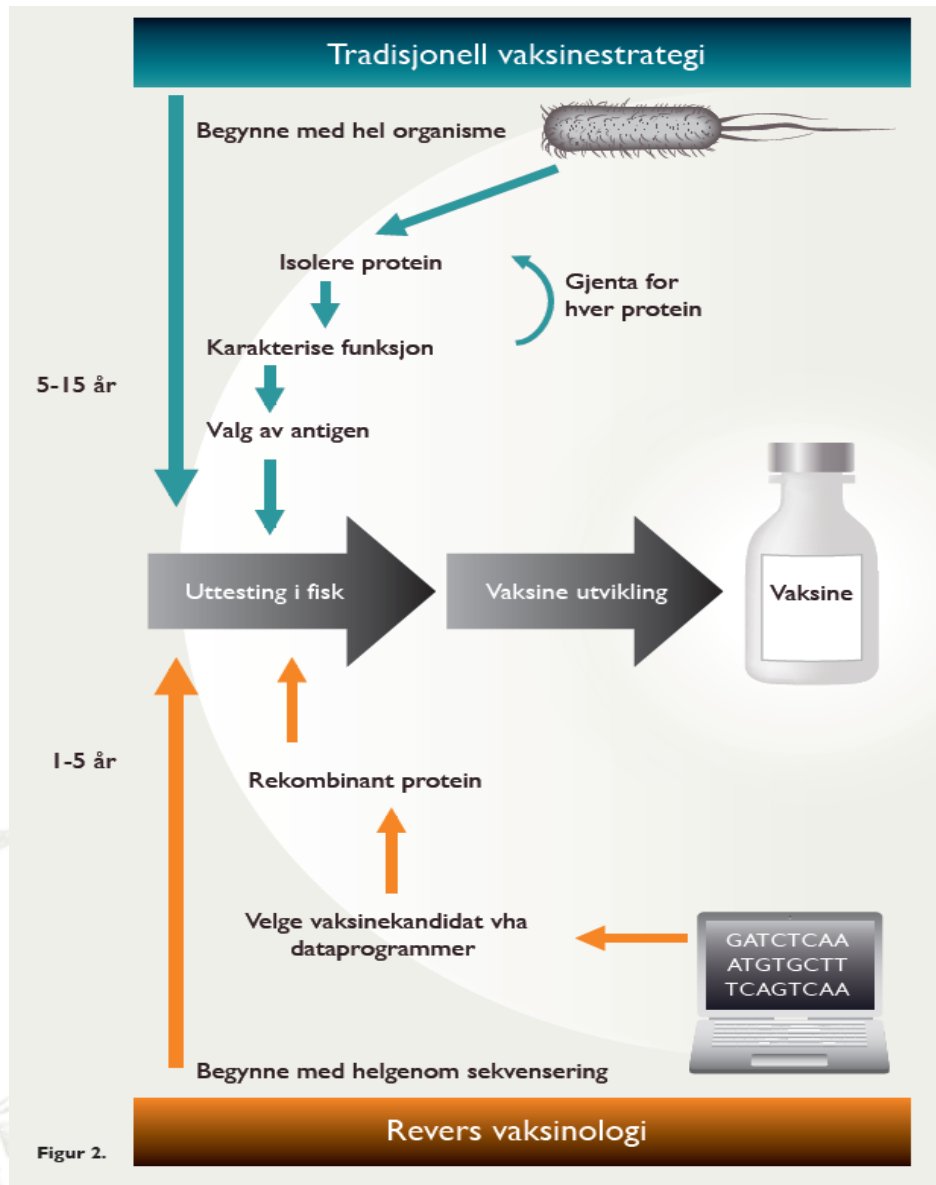
***Frank Nilsen (UoB)***

***Søren Grove (NVI)***

***Rasmus Skern-Mauritzen (IMR)***



# Reverse vaccinology

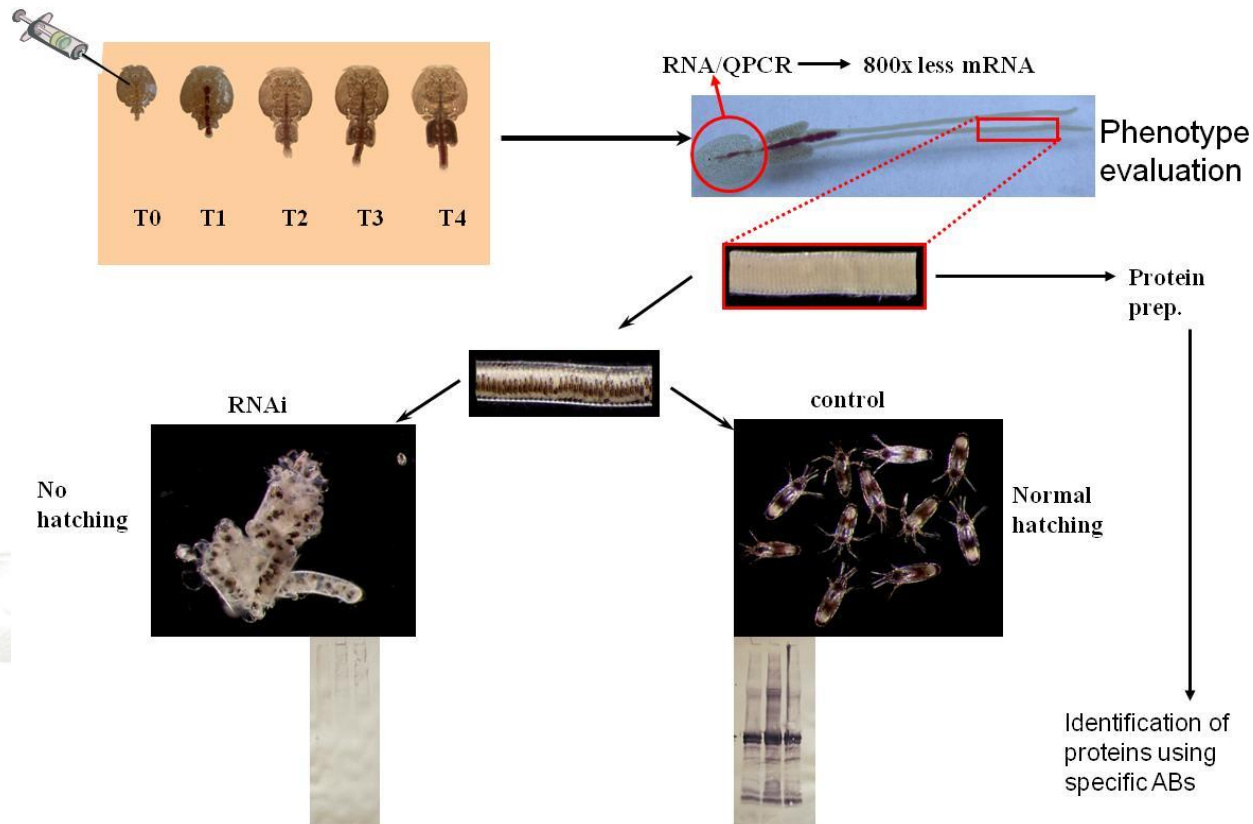


Figur 2.

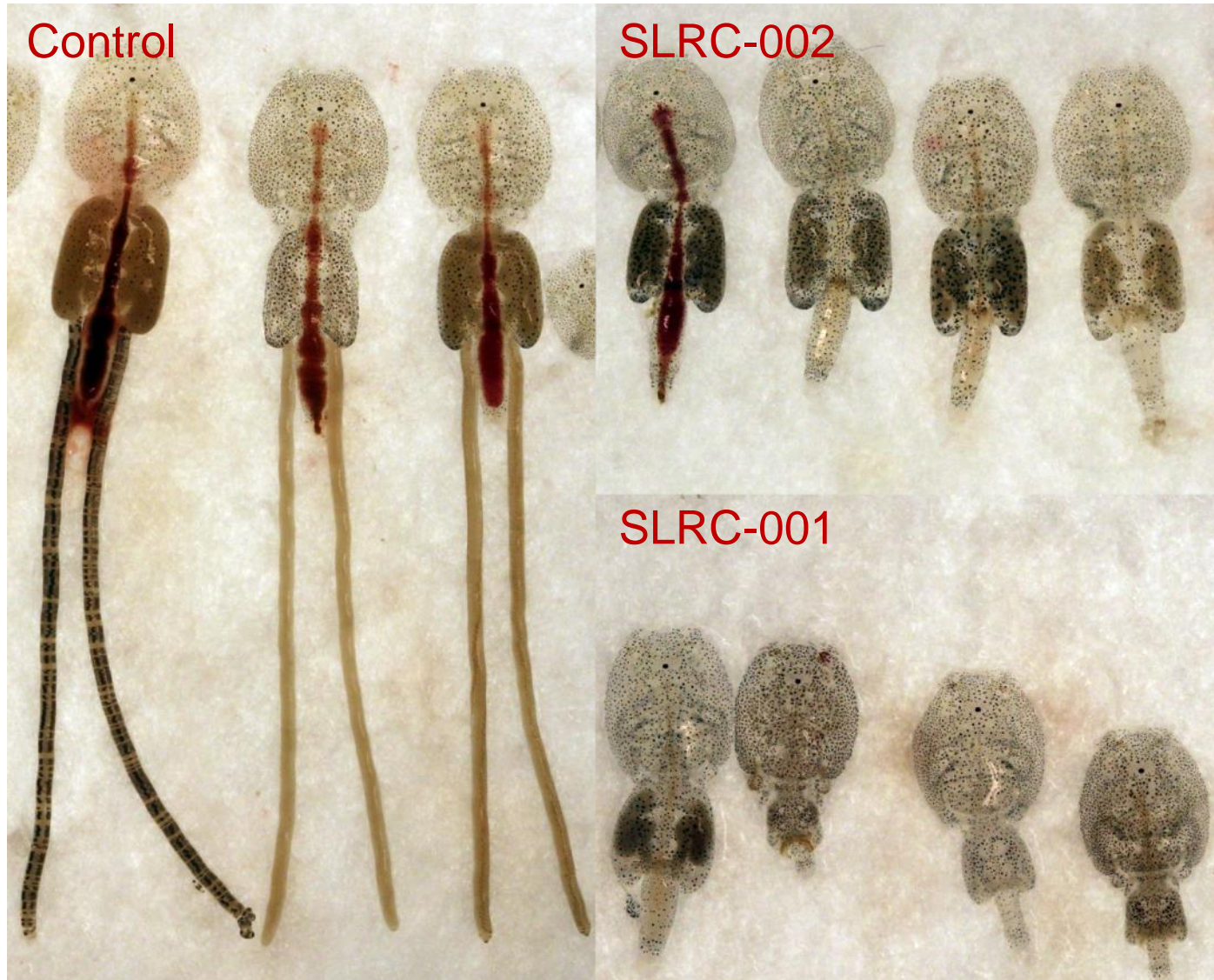


# Identification of vaccine candidates

- Salmon louse genome searching (vital processes)
- Previous literature on vaccine Ags (from comparable species?)
- qRT-PCR, ISH (how much, where, when..)
- Protein knockdown using RNA interference (RNAi)

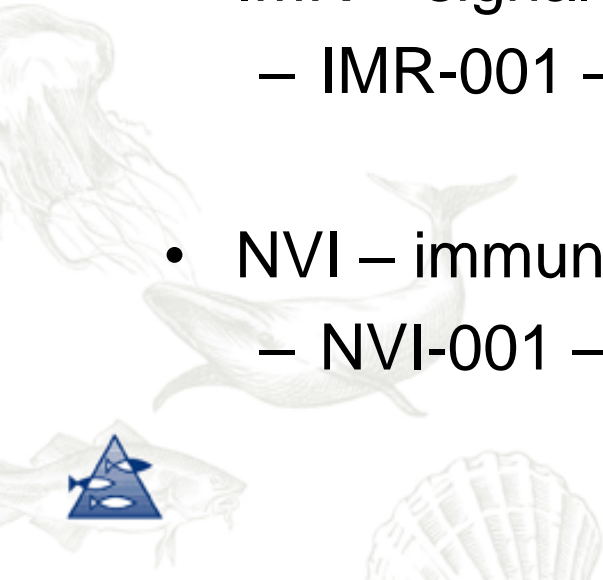


# Morphology of RNAi treated lice



# Vaccine candidates

- UoB – blood digestion
  - SLRC-001 – disrupted digestion and reproduction
    - also gives mortality
  - SLRC-002,-003,-004 – disrupted digestion and reproduction
- IMR – signal transduction in the gut
  - IMR-001 – disrupted reproduction
- NVI – immune-inhibiting molecules
  - NVI-001 – effects on reproduction



A black and white photograph of a clam shell. The shell is oval-shaped and shows concentric growth lines. A small, dark insect is perched on the upper left portion of the shell. The background is dark and out of focus.

*Thank you for  
your attention*