

Vaksine mot lakselus – visjon eller fiksjon?

Øystein Evensen DVM PhD Professor ECAAH
NMBU Veterinærhøgskolen

FHF prosjekt 901566: Host immunity and skin microbiome interplay – importance for protection against sea lice infection in Atlantic salmon



Interessekonflikter

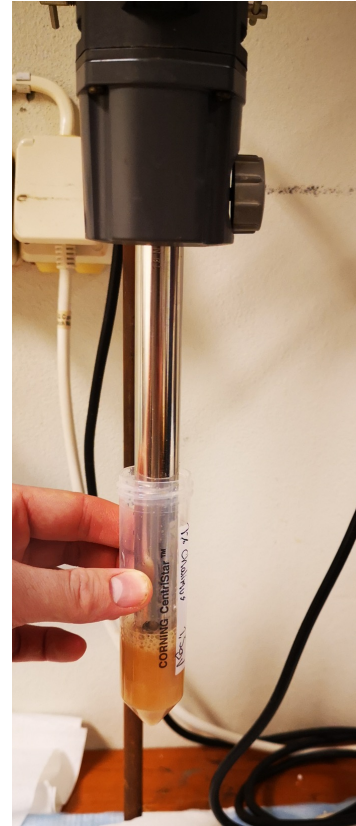
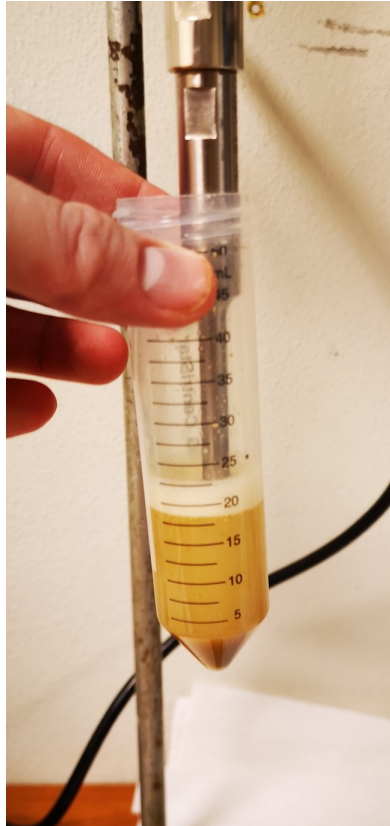
- Delvis prosjektstøtte fra industripartner (Virbac) til noen av studiene
- Patent (ØE) knyttet til forebyggelse av lakselus - *IgY antibodies for the prevention of sea lice infestation and infection, WO2017126977A1, 2016*
- Patent (Carpio & Gonzales): My32 nucleic acid and amino acid sequences, and vaccine to control sea lice infestations in fish

Revers vaksinologi

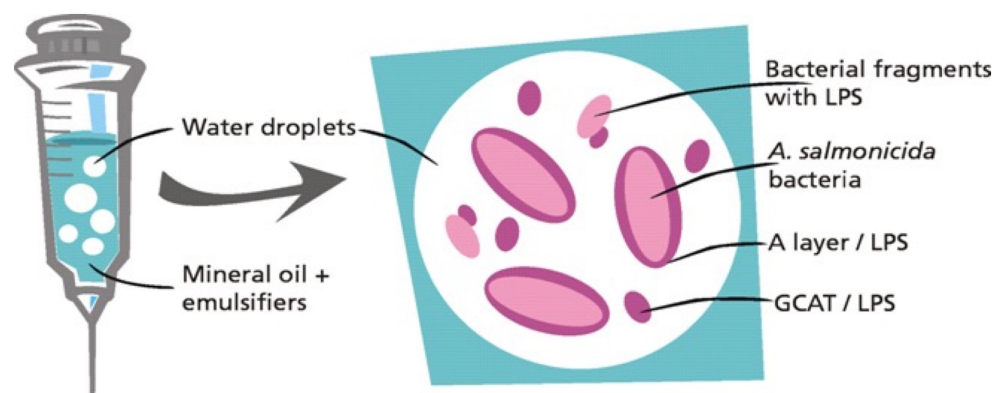
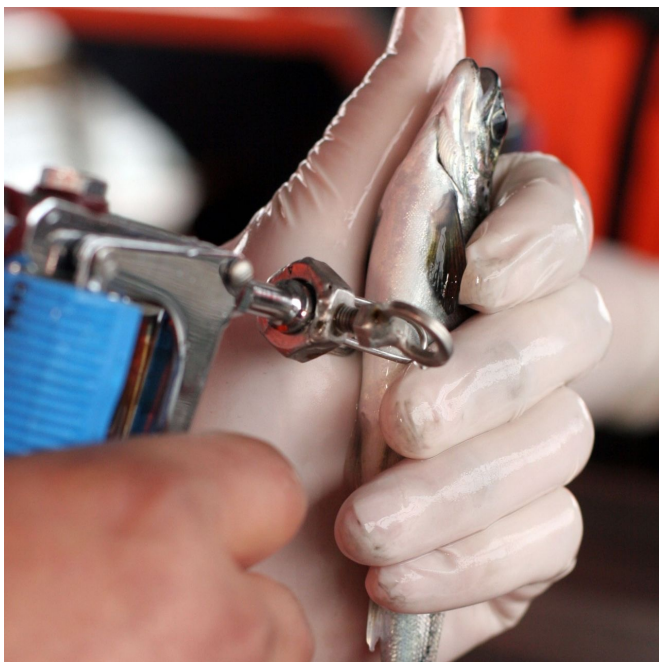
Heller enn å teste ut et opprenset antigen/ vaksinekomponent fra lakselus startet vi med hele lusa for å lage en vaksine







Ordinær vaksine og vaksinasjonsmetode (IP)





Hel-lus vaksine

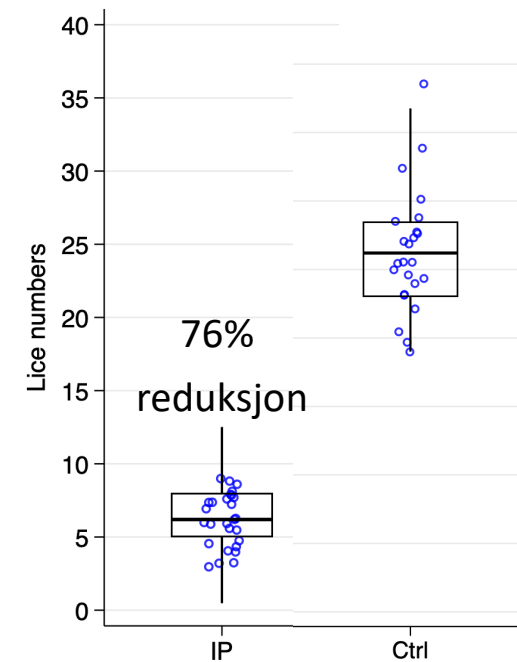
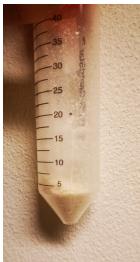
Hel-lus vaksine (oljebasert)

Atlantisk laks ($\approx 75\text{g}$, smolt) ble vaksinert med hel-lus antigener

Antigener fra luseegg, chalimus og voksne lus-stadier (hunn- og hannlus), blandes sammen i like forhold (vektbasert) (1:1:1 w/v; $300\text{ }\mu\text{g}$ totalt) i sterilt vann for formulering i vann-i-olje (ISA 763 VGA)

Smitte ble gjennomført ved bading i stillestående vann (i karene) i 30 minutter - 30 copepoditter/fisk i karet

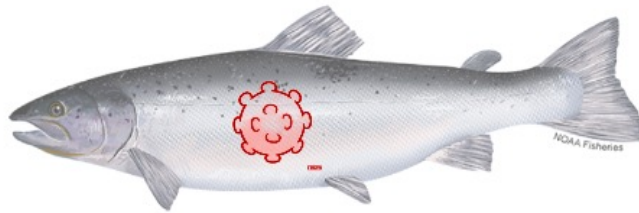
Telling av lus ble gjennomført 29 dager etter smitte





Luseantigener

0.5 $\mu\text{g/g}$



2.0 $\mu\text{g/g}$



Saltvann

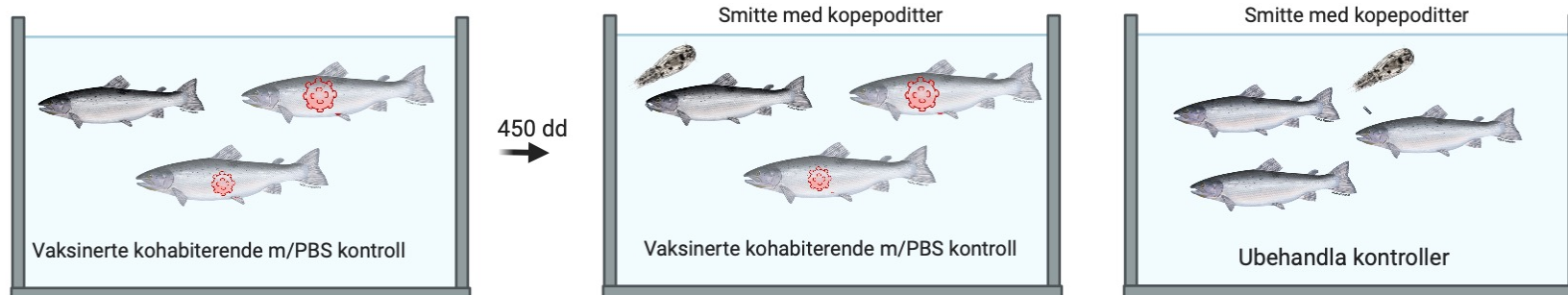
Hel-lus vaksine (oljebasert)

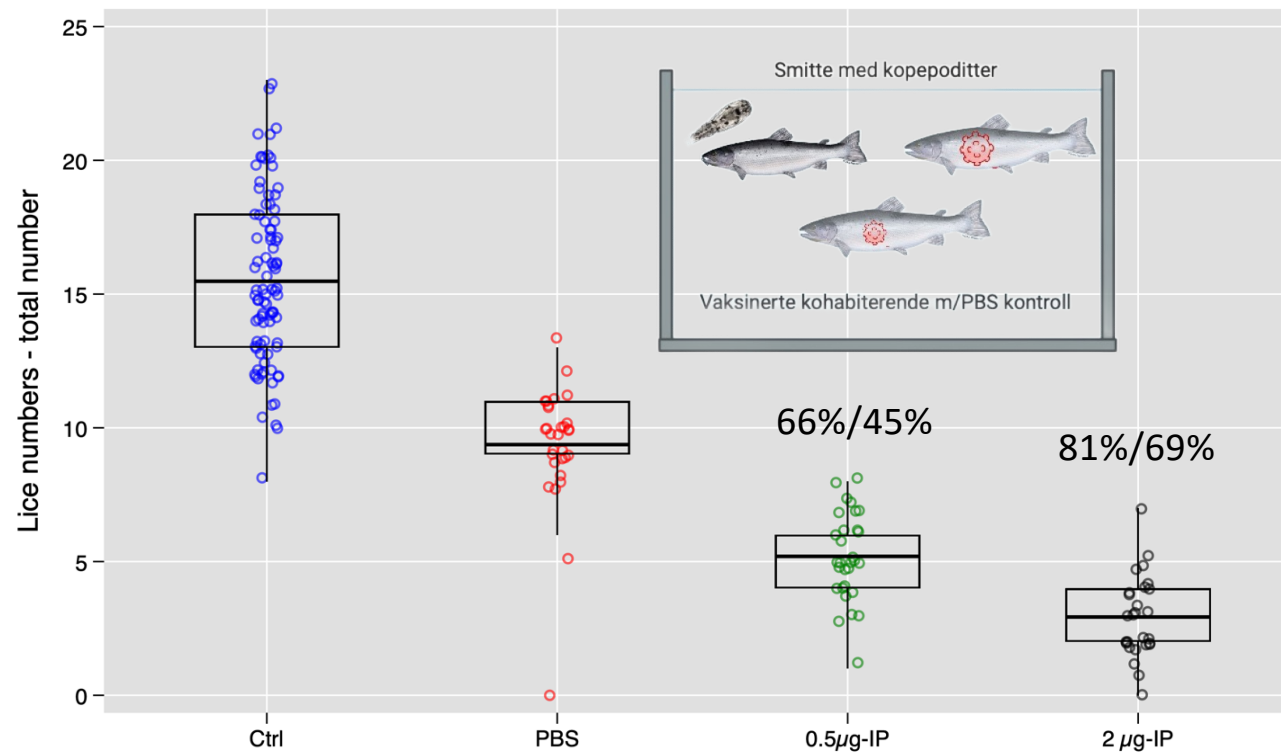
-effekt av dose og forsøksoppsett

Effekt av vaksinedose

luse-antigener fra alle utviklingsstadier

- Atlantisk laks ($\approx 150\text{g}$ gjennomsnittlig levende vekt, smolt) ble vaksinert med hel-lus antigener
- Vann-i-olje emulsjon, ISA763 VGA
- **Common-garden oppsett**
- 450 døgn grader og smitte med 20 Copepoditter
- Antall lus per fisk telles når vi når pre-adult stadium





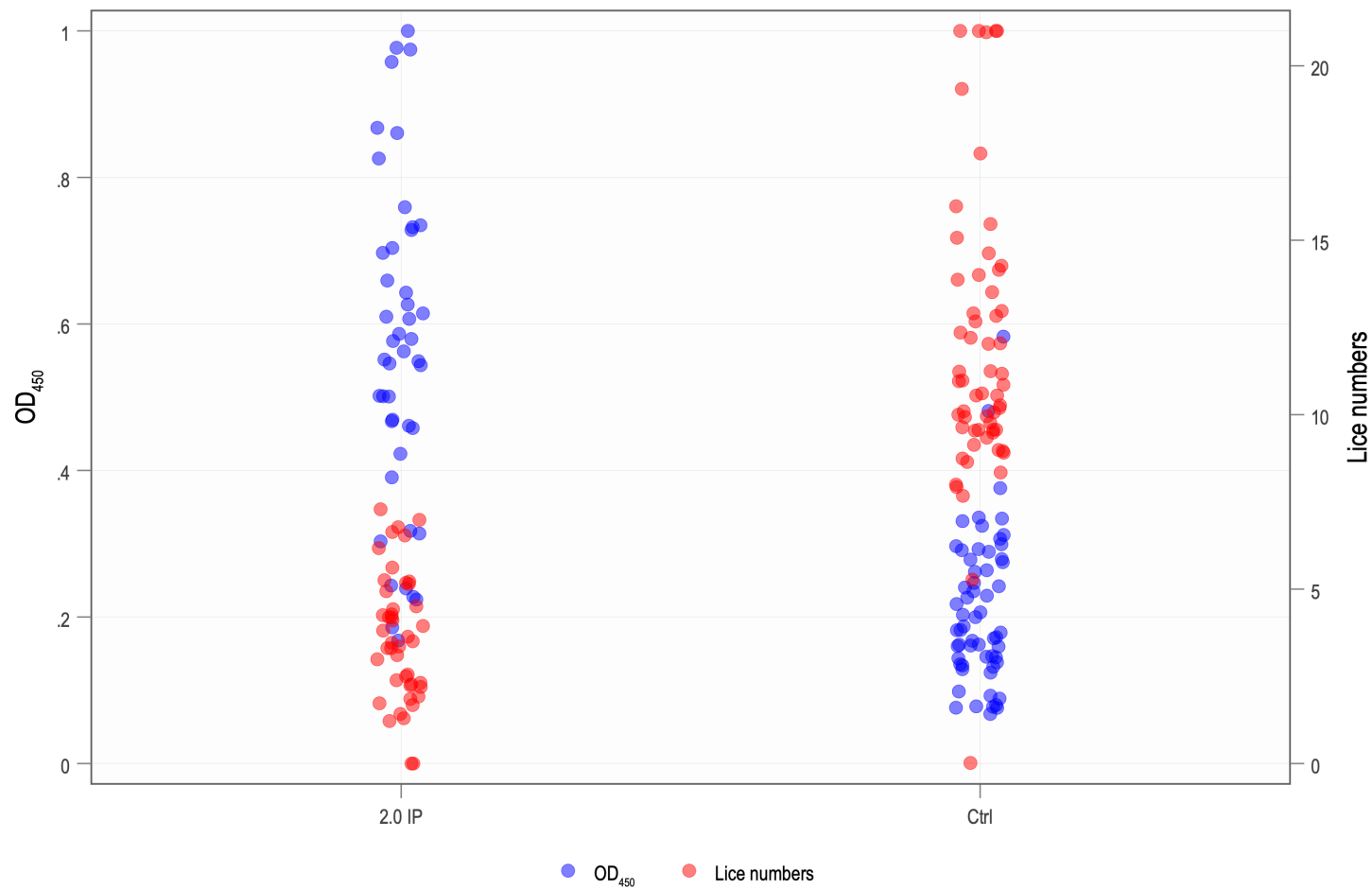
Cont	15.47778	.3307872
INJ-PBS	9.366667	.4220457
Inj-0.5	5.2	.2932184
Inj-2.0	2.925926	.2919915

Tank-variasjon

Gj. sn. lusetall

Cont#7	14.66667	.4228332	13.83219	15.50114
Cont#8	16.28889	.483696	15.3343	17.24348
INJ-PBS#1	10.2	.3545621	9.500259	10.89974
INJ-PBS#2	8.533333	.7162513	7.119787	9.94688
Inj-0.5#1	5.133333	.4963358	4.153798	6.112869
Inj-0.5#2	5.266667	.3304638	4.614485	5.918848
Inj-2.0#1	3.916667	.4166667	3.094361	4.738973
Inj-2.0#2	2.133333	.2737163	1.593145	2.673522

Sammenheng mellom antistoff-nivå og lusetall



Kommentarer

- For sammenlignbare grupper så samsvarer resultatene med tidligere forsøk
- En dose-respons effekt for fiskegrupper som har blitt vaksinert med ulike antigendoser og som holdes i samme kar - styrker validiteten til resultatene
- PBS-injisert fisk som holdes sammen med vaksiner fisk har lavere nivå av lus tilskrives en type flokk-immunitet



—

Hel-lus vaksine (oljebasert) Adminstrasjonsmåte (ip vs. sc)

Grupper (vaksinerte og kontroll)

Ulike leveringsmåter

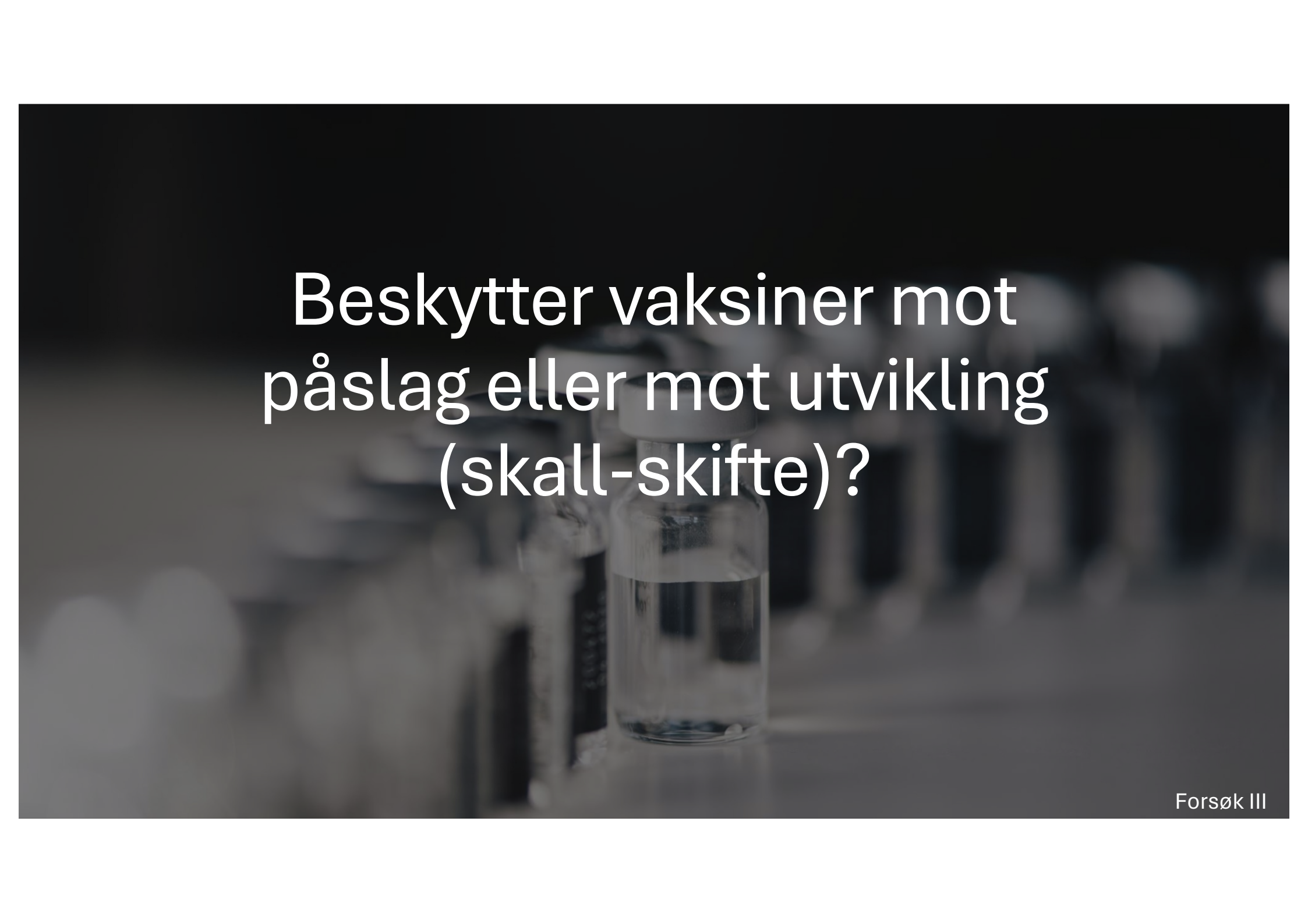
Atlantisk laks (60g, parr)

- vaksinert med ulike vaksineformuleringer, vann-i-olje baserte emulsjoner
- to ulike doser og to ulike leveringsmåter (ip og sc)

Vaksiner / antigen kombinasjoner	Leveringsmåte (modalitet)	Dose	Antall fisk pr gruppe
Gr 1	Intraperitoneal (IP)	2.0 µg/g levende vekt (lv)	60
Gr 2	Subcutant (SC)	2.0 µg/g lv	60
Gr 4	IP	0.2 µg/g lv	60
Gr 5	SC	0.2 µg/g lv	60
Gr 7	IP	PBS	60
Gr 8	SC	PBS	60

Resultat (preadult – 28 dager etter smitte)

Grupper	Leveringsmåte (modalitet)	Dose	Lusetall	Reduksjon (%)
Gr 1	IP	2.0 µg/g	2.9	76.5
Gr 2	SC	2.0 µg/g	2.3	81.3
Gr 4	IP	0.2 µg/g	6.2	49.7
Gr 5	SC	0.2 µg/g	5.3	57.1
Gr 7	IP	PBS	13.4	-
Gr 8	SC	PBS	11.3	-



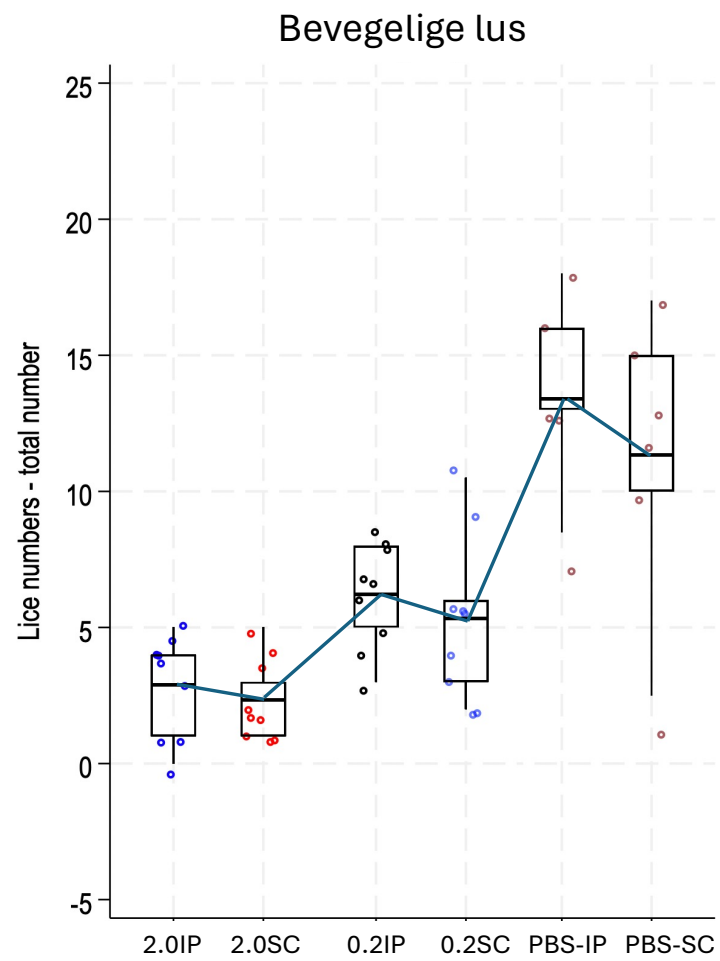
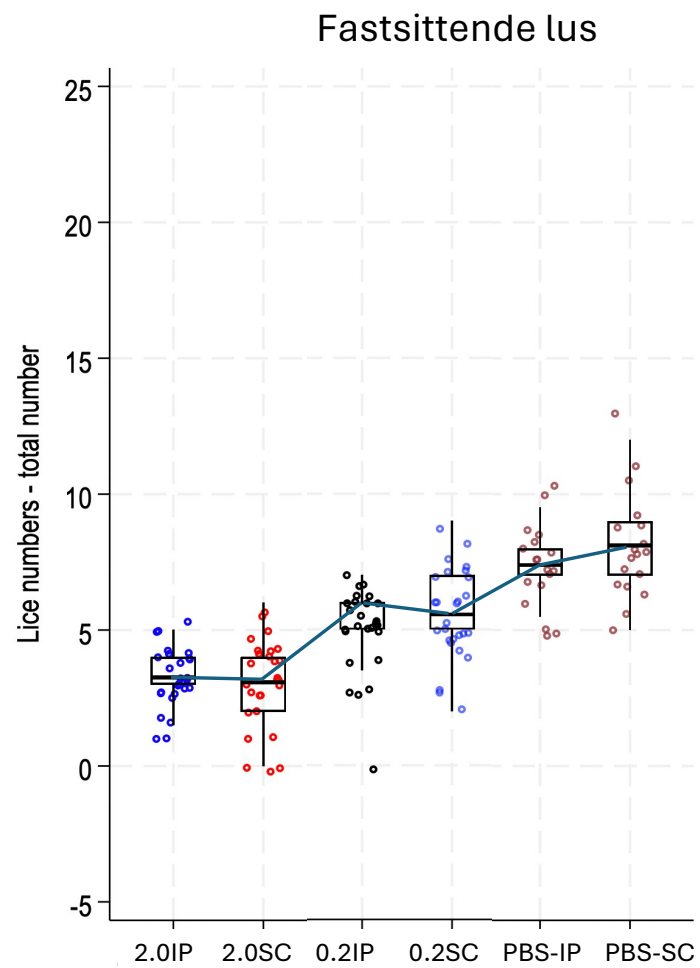
Beskytter vaksiner mot
påslag eller mot utvikling
(skall-skifte)?

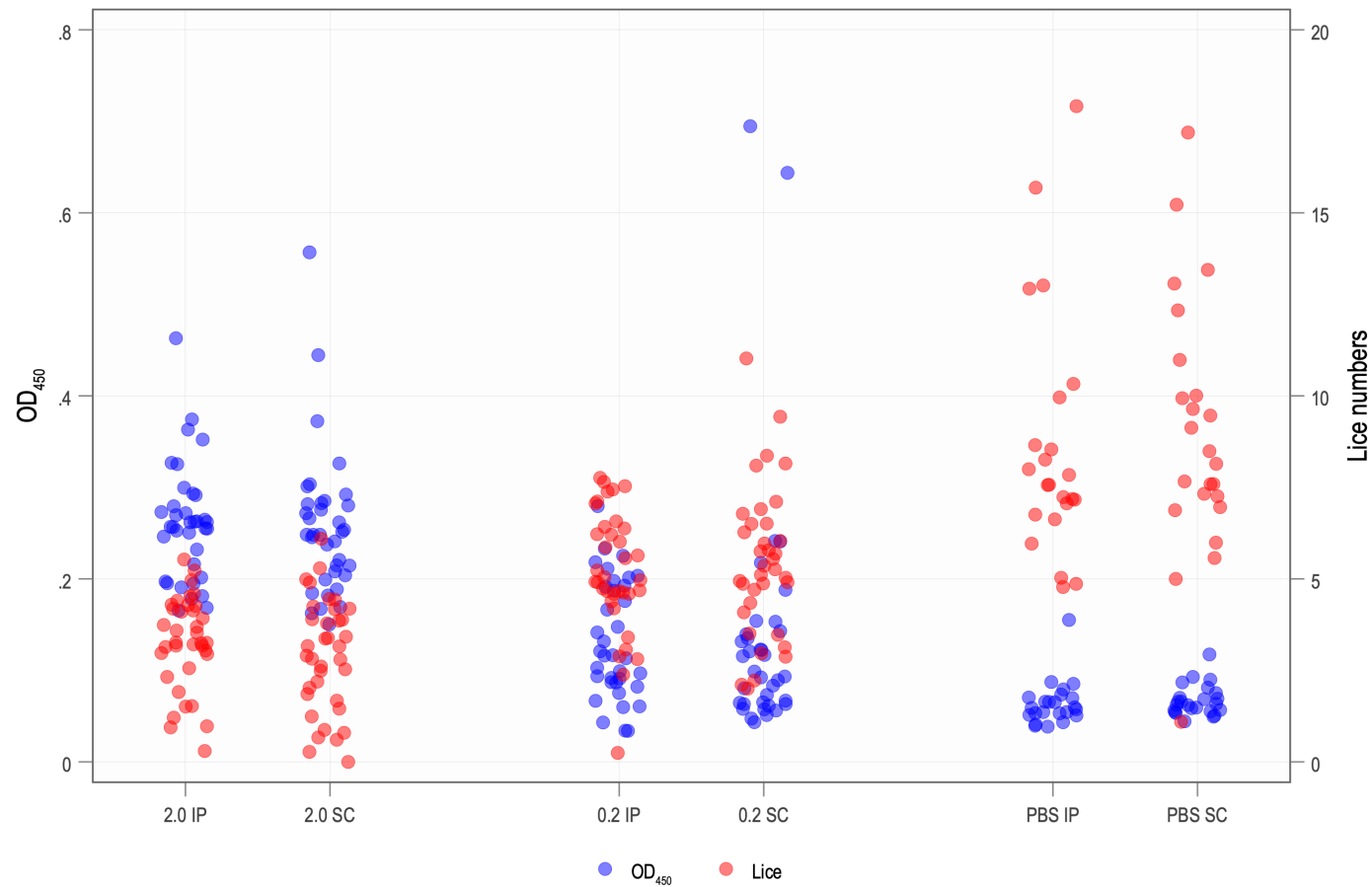
Metode

- Tok ut fisk på dag 2, 7 og 14 etter smitte og talte opp antall fast-sittende lus
- Sammenlignet med lusetall 28 dager etter smitte (bevegelige/preadult)



Forsøk III





Sammenhengen mellom antistoffer og lusetall

Kommentarer

- Vaksinasjon og etterfølgende immunrespons innvirker på antall lus som fester seg i tidlig stadium av infeksjonen, i mindre grad interferer det med utvikling
- Derne st så gir vaksinasjonsmodaliteter basert på IP og SC likeverdig effekt



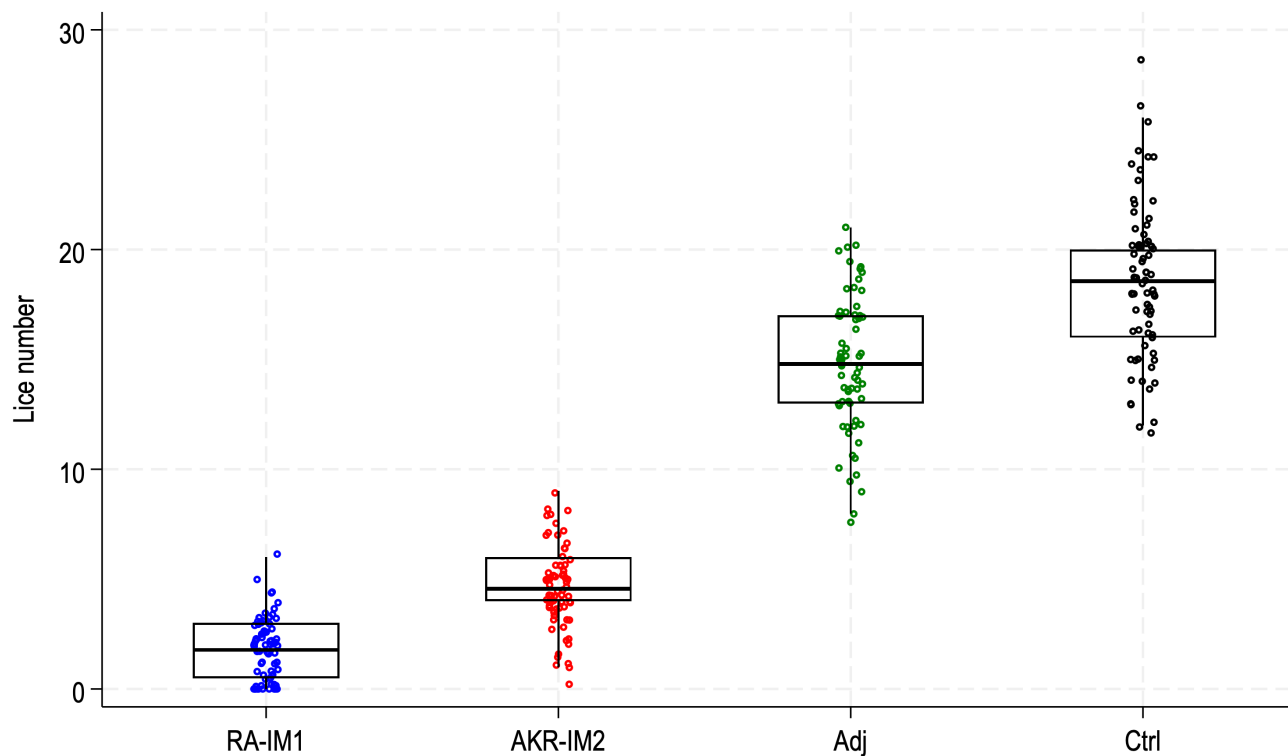


Rekombinante antigener fra *Lepeophtheirus salmonis*

olje-basert emulsjonsvaksiner som en engangsvaksine
eller som en prime-boost vaksine

- To ulike luseantigener
 - **Ribosomalt antigen (RA) og akirin (AKR)** som regulerer signal-overføring og medfødte immune responser hos evertebrater
 - Kombinert med **immunmodulatorer** (IM1 og IM2) eller molekylære adjuvans (Leal Y, et al. Fish Shellfish Immunol 2019, 92:322-30)
- **Prime-boost injeksjon** (300 døgngader mellom prime og boost) til atlantisk laks, 55g ved første vaksinasjon
 - Tre parallelle tanker for hver vaksine, adjuvans-kontroll og uvaksinerte kontroller. Vann-i-olje, mineral-adjuvans (Seppic) ved både prime- og boost-vaksinasjon

Resultater



- Smitte med 30 Copepoditter/30 min, 6 måneder etter vaksinasjon
- Telling 28 dager etter smitte
- 18.6 ± 0.4 (SEM) lus/fisk i kontrollgruppen
- RA-IM1: 1.8 ± 0.16 lus/fisk ($\approx 90\%$ reduksjon)
- AKR-M2: 4.6 ± 0.22 lus/fisk ($\approx 75\%$)
- Adjuvans: 14.7 ± 0.38 lus/fisk ($\approx 21\%$)

Samlede kommentarer

- Laks som vaksineres med lakselus-antigener får en god immunrespons med sirkulerende antistoffer
- Antistoffene er (sannsynligvis) ikke knyttet til de beskyttende responser, men er et mål (en proxy) for beskyttelse
- Immunresponsen innvirker på tilhefting av de tidlige, infektive stadier
- Vaksinasjon kan bli et tillegg til andre profylaktiske metoder mot lakselusinfestasjon på sikt



Samarbeidspartnere / prosjektdeltagere

