

*Lars-Gustaf Lönnström*<sup>1)</sup>  
*Riitta Rahkonen*<sup>2)</sup>  
*Annette Gröndahl*<sup>1)</sup>  
*Marja Pasternack*<sup>3)</sup>  
*Tuula Lundén*<sup>1)</sup>  
*Juha Koskela*<sup>2)</sup>  
*Göran Bylund*<sup>1)</sup>

## Siian rokotus paisetautia ja vibriosia vastaan

<sup>1)</sup> Åbo Akademi, Parasitologian laitos

<sup>2)</sup> Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

<sup>3)</sup> Helsingin yliopisto, Biotieteiden laitos

Vastaava toimittaja: Raimo Parmanne

Kansi: Siian rokotus (Valokuva: Juha Koskela)

ISBN 951-776-316-6  
ISSN 0787-8478

Oy Edita Ab

Helsinki 2001

# Sisältö

|   |    |
|---|----|
| 1. JOHDANTO.....  | 1  |
| 2. AINEISTO JA MENETELMÄT.....  | 2  |
| 2.1. Siiat ja koeolosuhteet .....   | 2  |
| 2.2. Rokotus.....   | 2  |
| 2.3. Kasvumittaukset .....  | 2  |
| 2.4. Verinäytteet .....   | 3  |
| 2.4.1. Vasta-ainetason määrittäminen ELISA-menetelmällä<br>(Entzyme-linked immunosorbent assay) ..... | 3  |
| 2.4.2. Valkosolujen tutkiminen .....  | 3  |
| 2.5. Tartuntakokeet.....  | 3  |
| 2.6. Rokotuksen aiheuttamat haittavaikutukset .....   | 4  |
| 2.7. Tilastollinen käsittely .....  | 5  |
| 3. TULOKSET .....   | 6  |
| 3.1. Kalojen kasvu .....  | 6  |
| 3.2. Verinäytteet .....   | 6  |
| 3.2.1. Rokotetuilla siioilla hyvin vasta-aineita .....  | 6  |
| 3.2.2. Rokotus näkyi myös valkosolukuvassa .....  | 8  |
| 3.3. Tartuntakokeet.....  | 9  |
| 3.3.1. Hyvä suoja vibriosia vastaan .....   | 9  |
| 3.3.2. Hyvä suoja paisetautia vastaan.....  | 9  |
| 3.4. Rokotuksen näkyvät haittavaikutukset vähäisiä .....  | 10 |
| 4. POHDINTAA JA JOHTOPÄÄTÖKSET .....  | 12 |
| KIRJALLISUUS .....  | 14 |

# 1. Johdanto

Suomen ruokakalanviljelyn yhdeksi tärkeäksi haasteeksi ja mahdollisuudeksi on nähty uusien lajien viljely kirjolohen rinnalla. Käytännön kokeiluja ja pienimittakaavaista tuotantoa on tehty mm. lohella, nieriällä, meritaimenella ja siialla. Ruokakalantuotannon monipuolistaminen on yksi keskeinen painoalue myös RKTL:n vesiviljelytutkimuksissa. Markkina- ja viljelymahdollisuuksia analysoimalla todettiin siialla olevan parhaat mahdollisuudet nousta nopeasti merkittäväksi viljelylajiksi ruokakalantuotantoon (Koskela ym. 1998, Koskela ja Rahkonen 1998), ja siian tuotantomäärien odotetaan nousevan lähivuosina. Talousbiologisen mallin avulla (Koskela ym. 1998) on selvitetty, että kannattavan siianviljelyn ongelmat ovat hidas kasvu, suuret rehukustannukset ja kalojen kuolleisuus. Mallin perusteella 20 %:n vähennys rehukuluissa, 10 %:n lisäys kasvussa ja kuolleisuuden väheneminen 20 %:lla johtaa taloudellisesti kannattavan viljelyyn.

Siian viljelykierto kestää tällä hetkellä kolme kasvukautta, joista ensimmäinen kasvukausi on sisämaassa. Aikaisempien tutkimustietojen perusteella (Koskela 1992, Koskela ja Eskelinen 1992) siian kasvun optimilämpötila on muita lohikalaja korkeampi, joten paras kasvu voidaan saavuttaa Suomen eteläosissa. Siian nykyinen ruokakalanviljely tapahtuu pääasiassa Saaristomeren alueella verkkokasseissa.

Meressä siikojen sairastumisriski varsinkin vibriooseihin ja paisetautiin on suuri. Vibriosia aiheuttaa *Listonella* (entinen *Vibrio*) *anguillarum*- ja paisetautia *Aeromonas salmonicida salmonicida* -bakteeri. Lohen ja kirjolohen viljelyssä ympäri maailmaa on 1990-luvulla saatu erittäin hyviä kokemuksia kalojen immunisoivasta rokottamisesta näitä tauteja vastaan. Näiden lajien puolustusjärjestelmän toimintaa on myös tutkittu intensiivisesti. Tutkimustietoja siian sairastuvuudesta ja rokotteiden tehosta ei kuitenkaan ole, koska siikaa ei viljellä ruokakalaksi muualla kuin Suomessa ja kokemukset poikasviljelystäkin ovat enimmäkseen Suomesta.

Kuolleisuuden 20 %:n vähentämistavoite edellyttää vibriosin ja paisetaudin tehokasta hallintaa. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli testata laboratorio-olosuhteissa:

- kaupallisen rokotteen antamaa suojaa paisetautia ja vibriosia vastaan
- tutkia rokotettujen ja rokottamattomien siikojen vasta-ainetuotantoa *L. anguillarum*- ja *A. s. salmonicida* -bakteereja vastaan
- tutkia veren valkosolukuvaa rokotetuilla ja rokottamattomilla siioilla
- tutkia rokotuksesta aiheutuvia haittavaikutuksia (kiinnikkeet, musta pigmentti)

Tutkimus kuuluu osana RKTL:n projektiin ”Siian ruokakalanviljelyn kehittäminen”. Rokotustutkimukset on toteutettu RKTL:n, Åbo Akademin ja Helsingin yliopiston yhteistyönä, ja tätä koetta on rahoitettu maa- ja metsätalousministeriön yhteistutkimusmäärärahoihin. Projektin tuloksia on julkaistu myös mm. Koskelan ym. (2000, 2001) sekä Lönnströmin ym. (2001) artikkeleissa.

## 2. Aineisto ja menetelmät

### 2.1. Siiat ja koeolosuhteet

Lokakuussa 1998 siirrettiin RKTL:n Laukaan kalanviljelylaitokselta 1 600 kpl 1-kesäisiä Kokemäenjoen kantaa olevia vaellussiikoja Åbo Akademin Parasitologian laitoksen allastiloihin Turkuun. Siikojen keskipaino oli 21,7 grammaa. Veden lämpötila oli kuljetuksen alussa 6,1 °C ja laboratoriotilassa 9 °C. Kalat jaettiin kahteen 1 m<sup>3</sup>:n (Ø 190 cm) altaaseen. Lämpötilan annettiin kahden vuorokauden aikana nousta kokeessa käytettävään lämpötilaan 15 °C, jossa sitä pidettiin kokeen loppuun saakka.

Allastiloissa käytetään pohjavettä omasta kaivosta, veden pH:ksi säädetään n. 7,2 ja happea lisätään tulovesiputkeen niin, että kyllästysaste on n. 160 %. Vedestä poistetaan rauta saostamalla sekä hiekkasuodatuksella, ja vesi pehmennetään ionivaihtimien avulla (dH<2). Kaasun ylikyllästys poistetaan alipaineilmastimen avulla ennen veden laskemista kierto-vesijärjestelmään.

Kierto-vesijärjestelmässä on mekaaninen ja biologinen suodatus ja uutta vettä lisätään jatkuvasti n. 20 % kiertävästä määrästä. Vettä juoksetettiin altaisiin 0,3-0,6 ls<sup>-1</sup>.

Kalat ruokittiin automaatin avulla, rehuna Ewos Vextra 2,5 mm. Ruokintakertoja oli 5 päivässä, kokeen alussa rehua annettiin 2 % kalojen painosta vuorokaudessa, viiden viikon kuluttua rokotuksesta ruokintaa vähennettiin 1 %:iin tilanpuutteen välttämiseksi. Ruokintaa säädettiin molemmissa altaissa hieman pienemmälle, kun jommankumman altaan pohjalle kerääntyi syömätöntä rehua.

Valorytmi oli 11 h valoa ja 13 pimeää, ensimmäinen ruokinta oli tunnin kuluttua valojen syyntymisestä ja viimeinen tuntia ennen valojen sammumista.

### 2.2. Rokotus

Siikoja akklimatisoitiin 3 viikon ajan ennen rokotusta. Ruokinta keskeytettiin 3 päivää ennen rokotusta ja aloitettiin uudestaan 3 päivän kuluttua rokotuksesta.

Rokotettavat kalat otettiin kummastakin altaasta, yhteensä 750 kappaletta, nukutettiin bentsokainilla ja rokotettiin öljypohjaisella Apoject 1 800 (Batch 400010) rokotteella vatsaonteloon valmistajan ohjeen mukaisesti. Rokotuksessa käytettiin 0,5 ml Socorex automaattiruiskua, neuloina 0,8 x 12 mm, pistosyvyys rajoitettiin 5 millimetriin katkaisemalla neulan suojahylsy.

Rokottamattomat kalat paastotettiin samalla tavalla, muutoin niitä ei käsitelty.

### 2.3. Kasvumittaukset

Ennen rokotusta punnittiin nukutettuina 50 siikaa. Lisäksi 20 rokotettua ja rokottamatonta kalaa punnittiin 8 ja 12 viikkoa rokotuksen jälkeen ennen altistuskokeita. Kokeen lopuksi, 16 viikkoa rokotuksesta, punnittiin 65 rokotettua ja rokottamatonta, altistamatonta kalaa.

## 2.4. Verinäytteet

Vasta-ainetason määrittämiseksi ELISA-menetelmällä otettiin verinäytteet ennen rokotusta sekä 20 rokotetusta ja 20 rokottamattomasta siasta 3, 5, 8, 12 ja 16 viikkoa rokotuksen jälkeen. Veren valkosolukuvan tutkimista varten verinäyte otettiin ennen rokotusta sekä 8 ja 16 viikkoa rokotuksen jälkeen rokotetuista (20/näyte) ja rokottamattomista (20/näyte) kaloista. Paisetaudille altistetuista, rokotetuista sioista veren valkosolukuva tutkittiin 4 viikkoa altistuksen jälkeen. Kalat tainnutettiin päähän lyömällä, punnittiin, ja verinäyte otettiin pyrstösuonesta heparinoituun ruiskuun.

### 2.4.1. Vasta-ainetason määrittäminen ELISA-menetelmällä (Entzyme-linked immunosorbent assay)

Näytteenoton jälkeen veren annettiin laskeutua jääkaapissa n. 18 tuntia, jonka jälkeen se sentrifugoitiin 1 000 g:ssä 5 minuutin ajan. Seerumi otettiin talteen ja säilytettiin -20 °C:n lämpötilassa tutkimiseen asti.

ELISA-testiä varten kuoppalevyt (Nunc-immunoplate MaxiSorp, Nunc Co., Roskilde, Denmark) pohjustettiin karbonaattipuskuriin (50 mM, pH 9,6) suspensoiduilla ja formaliinilla inaktivoituilla *Aeromonas salmonicida salmonicida* -bakteerilla (100 µl/kuoppa, 2 mgml<sup>-1</sup> märkäpaino). *Listonella anguillarum* serotyypin O1 antigeeni valmistettiin alkoholi-asetoni-menetelmällä (Yui ja Kaattari 1987) ja pohjustuskonsentraatio oli 10 µgml<sup>-1</sup>, 100 µl kuoppaa kohti. Levyjä säilytettiin jääkaapissa yön yli. Kuoppiin lisättiin seerumia laimennettua 1:100 3 % BSA-PBS + 0,5 % Tween 20. Kutakin näytettä tutkittiin kahdessa kuopassa. Näytteitä inkuboitiin +4 °C:n lämpötilassa yön yli. Kiinnittyneet vasta-aineet tunnistettiin biotiini-konjugoidulla polykloonaalisella anti-taimen Ig:llä (2,5 µgml<sup>-1</sup>). Anti-taimen Ig (Kirkegaard ja Perry Lab. Inc) oli konjugoitu biotiiniin Guesdonin ym. (1979) mukaan. Entsyyminä oli avidiini-leimattu alkaalinen fosfataasi (Sigma) ja substraattina p-nitrofenyylifosfaatti (Sigma) 1 M dietanoliamiinipuskurissa (1 mgml<sup>-1</sup> pH 9,8). Optinen tiheys (o.d.) luettiin Multiscan mikrolukulaitteella 405 nm:n aaltopituudella. Yhdistettyjä näytteitä rokottamattomista sekä kahteen kertaan vatsa-onteloon rokotetuista sioista käytettiin negatiivisena ja positiivisena kontrollina jokaisella levyllä. Tuloksen vertailukelpoisuuden (eri ajojen välillä) vuoksi optinen tiheys ilmaistaan suhteessa positiiviseen kontrolliin (o.d. näyte / o.d. posit. kontrollinäyte).

### 2.4.2. Valkosolujen tutkiminen

Valkosolujen kokonaismäärän laskemista varten koko verta laimennettiin Shaw'n liuokseen 1:50 (v/v). Solujen määrä laskettiin mikroskooppisesti käyttämällä Neubauerin laskukammiota. Veren eri valkosolutyyppeiden (lymfosyytit, neutrofiilit, trombositit) suhteelliset osuudet laskettiin sivelyvalmisteista, jotka värjättiin May-Grünwald-Giemsa-värjäysmenetelmällä. Kustakin näytteestä eriteltiin n. 200 valkosolua.

## 2.5. Tartuntakokeet

Tartuntakokeet tehtiin karanteenihuoneessa 0,225m<sup>3</sup>:n altaissa (ø 90cm). Vettä ei karanteenihuoneessa kierrätetä, vaan vesi virtaa jatkuvasti altaiden läpi. Vesi tulee suoraan vedenkäsittelyjärjestelmän ja lämmityksen kautta kaivosta, ja poistovesi desinfi-

oidaan otsonoimalla. Vettä juoksetettiin altaisiin noin 0,1 l s<sup>-1</sup>. Kalat siirrettiin karanteenialtaisiin tartuttamista edeltävänä päivänä.

Tartuntakokeissa käytettiin kolmea rinnakkaista ryhmää, 3x100 rokotettua ja 3x100 rokotamatonta siikaa. Kalat olivat vuorokauden paastolla ennen tartuttamista, viiden päivän kuluttua tartuttamisesta ruokinta aloitettiin uudestaan ja kaloja ruokittiin keran päivässä ruokahalun mukaan. Tartuntakokeessa käytettävät bakteerit aktivoitiin ennen koetta tartuttamalla rokotamatonta siikaa kolmesti, jonka jälkeen bakteerit viljeltiin puhtaaksi koetta varten. Koetta varten bakteerit kasvatettiin TS-liemessä (Difco) 24 tunnin ajan, sentrifugoitiin ja pestiin kolmesti fysiologisella suolaliuoksella ennen injektio-liuoksen valmistusta.

Rokotten antama suoja on esitetty RPS-arvona (Relative Percent Survival, suhteellinen selviytymisprosentti) (Amend 1981), joka lasketaan kaavalla

$$\text{RPS} = 1 - \frac{\text{kuolleisuus \% rokotetuissa}}{\text{kuolleisuus \% rokotamattomissa}} \times 100 \%$$

Vibrioosi tartutettiin 8 viikon kuluttua rokotuksesta (990 päiväastetta) nukuttamalla jokainen kala ja injisoimalla kalan vatsaonteloon 0,1 ml fysiologista suolaliuosta, joka sisälsi 1,8x10<sup>6</sup> *Listonella anguillarum* -bakteeria millilitrassa. Bakteerimäärä säädettiin McFarland-laimennosstandardin avulla ja tarkastettiin pesäkelaskennalla. Lämpötila oli +15° tartuttamisen aikana ja nostettiin arvoon +17 °C välittömästi, kun kaikki kalat oli injisoitu. Käytetty vibrioosibakteerikanta oli aikaisemmin eristetty vibrioosia sairastavasta meressä kasvatetusta siasta. Kuolleisuutta seurattiin päivittäin 2 viikon ajan tartuttamisen jälkeen. Kuolinsyy varmistettiin bakteeriviljelmällä kalan munuaisesta (60 kalaa) TS-maljalle (Difco). Kokeen jälkeen viljeltiin vielä 60 rokotettua ja 60 rokotamatonta kalaa mahdollisten taudinkantajien toteamiseksi.

Paisetauti tartutettiin samalla menetelmällä kuin vibrioosi, mutta vasta 12 viikon kuluttua rokotuksesta (1 245 päiväastetta). Annos oli 4,98x10<sup>2</sup> *A. s. salmonicida* -bakteeria siikaa kohti. Lämpötila oli +15 °C kokeen aikana. Kuolleisuutta seurattiin päivittäin 4 viikon ajan tartuttamisen jälkeen. Kuolinsyy varmistettiin bakteeriviljelmällä kalan munuaisesta (60 rokotamatonta kalaa, kaikki kuolleet rokotetut) TS-maljalle. Kokeen jälkeen viljeltiin vielä 60 rokotettua kalaa mahdollisten taudinkantajien toteamiseksi.

## 2.6. Rokotuksen aiheuttamat haittavaikutukset

Pistorokotukset varsinkin öljypohjaisilla rokotteilla (kuten kokeen rokote) saattavat aiheuttaa kalojen vatsaonteloon pigmenttihäiriöitä ja tulehdusperäisiä kiinnikkeitä (Rahkonen ym. 2000). Kokeen lopussa (16 viikkoa rokotuksesta) avattiin 65 rokotettua kalaa mahdollisten rokotuksen aiheuttamien haittavaikutusten tutkimiseksi. Tutkimuksessa tarkasteltiin vain sisäelinten ja vatsaontelon seinämien väliin muodostuneita kiinnikkeitä ja mahdollista mustaa pigmenttiä, jotka voisivat vaikuttaa teuraskalan laatuun ja perattavuuteen.

Pigmentimuodostusta arvioitiin asteikolla 0-3:

|     |   |
|-----|---|
| 0   | ei havaittavaa pigmenttiä                         |
| 1-2 | pigmenttiä näkyy, poistuu perkaamisen yhteydessä  |
| 3   | pigmenttiä runsaasti, jälkiä jää perattuun kalaan |

Kiinnikkeet arvioitiin asteikolla 0-6:

- |     |  |
|-----|--|
| 0   | ei kiinnikkeitä  |
| 1-2 | havaittavia ohuita kiinnikkeitä, ei juuri kiinnitä perkaajan huomiota                                  |
| 3-4 | kohtalaisesti kiinnikkeitä, kiinnittää perkaajan huomion ja vaatii huolellisuutta perkaustyössä        |
| 5-6 | sisäelimet vahvasti kiinni vatsanseinämissä, vaikeasti perattavia ja jättävät jälkiä perattuun kalaan. |

Pigmentti arvolla 3 ja kiinnikkeet arvoilla 5-6 heikentävät aina kalan laatua.

## 2.7. Tilastollinen käsittely

Tulokset analysoitiin SYSTAT® 7.0 for Windows -ohjelmalla. ANOVA:lla ja MANOVA:lla testattaessa jäännösten normalisuus varmistettiin Lillieforsin testillä ja varianssien yhtäsuuruus Levenen testillä. *Post hoc* vertailuihin käytettiin Tukeyn testiä. Ei-parametristä Mann-Whitneyn U-testiä käytettiin mikäli ANOVA:n ehdot eivät täyttyneet. Muuttujien välisiä yhteyksiä tarkasteltiin Spearmanin rank korrelaatio-testillä. Tilastollinen ero katsottiin merkitseväksi mikäli  $p < 0,05$ .



## 3. Tulokset

### 3.1. Kalojen kasvu

Rokotettujen kalojen ruokahalu oli heikentynyt parin viikon ajan rokotuksen jälkeen, ja molempien ryhmien ruokintamäärää säädettiin rokotetun ryhmän ruokahalun mukaan.

Siiat kasvoivat hyvin, eikä rokotettujen ja rokottamattomien ryhmien keskipainoissa havaittu merkitseviä eroja (kaksisuuntainen ANOVA, p-arvot: ajankohta  $p < 0,001$ ; rokotus  $p = 0,749$ ; interaktio  $p = 0,508$ ) (taulukko 1). Tartuttamattomia kaloja kuoli kokeen aikana 5 kalaa, kaksi rokotettua poistettiin vähäisen *Saprolegnia*-sienitartunnan vuoksi.

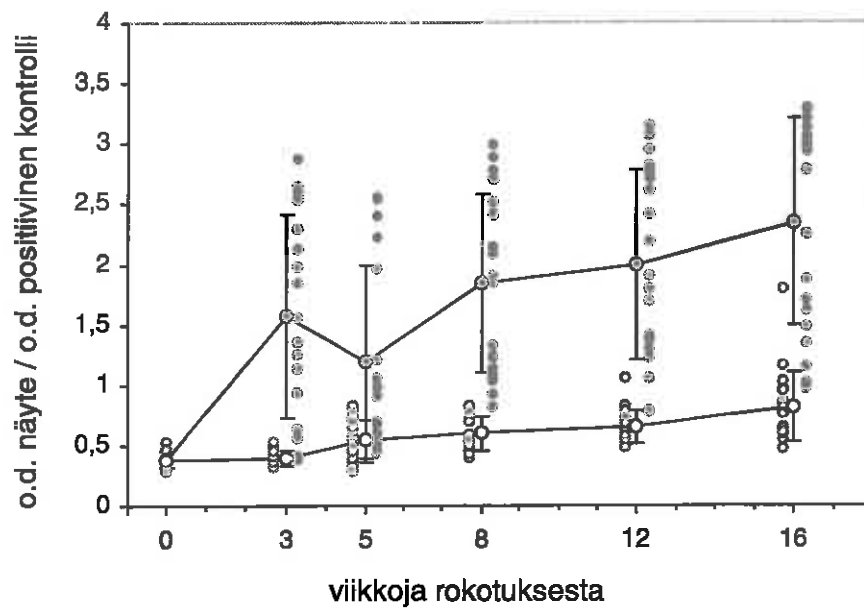
**Taulukko 1. Siikojen keskipainot ( $\pm$  keskihajonta) kokeen aikana.**

| Viikko | Ajankohta                    | LKM | Rokottamaton     | Rokotettu        |
|--------|------------------------------|-----|------------------|------------------|
| 0      | Rokotusajankohta             | 50  | 23,7 $\pm$ 4,7   | 23,7 $\pm$ 4,7   |
| 8      | Vibrioositartuntakoe (alku)  | 20  | 56,6 $\pm$ 19,6  | 51,7 $\pm$ 15,6  |
| 12     | Paisetautitartuntakoe (alku) | 20  | 67,4 $\pm$ 18,2  | 70,1 $\pm$ 14,1  |
| 16     | Kokeen loppu                 | 65  | 105,1 $\pm$ 24,1 | 111,4 $\pm$ 37,2 |

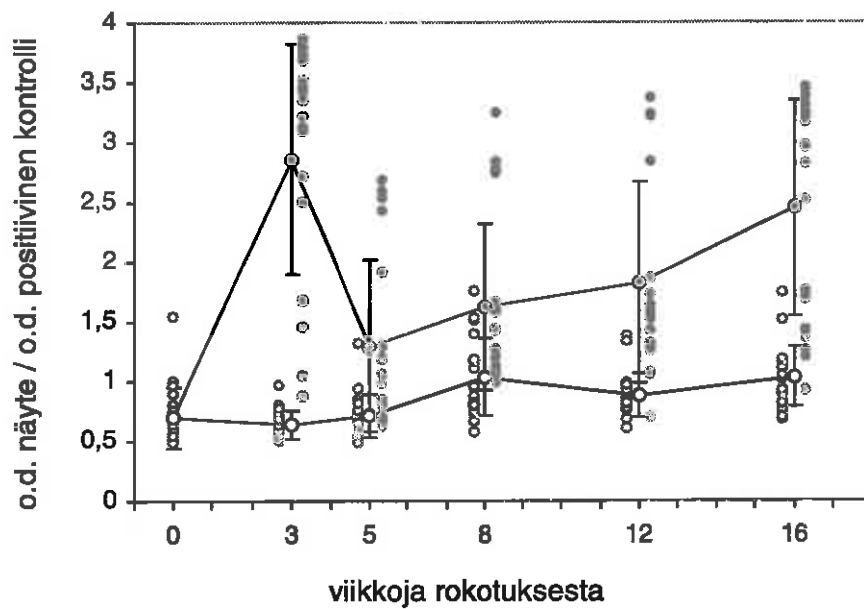
### 3.2. Verinäytteet

#### 3.2.1. Rokotetuilla siioilla hyvin vasta-aineita

Rokotetuilla kaloilla oli sekä *L. anguillarum*- että *A. salmonicida* -vasta-aineita huomattavasti enemmän kuin rokottamattomilla kaloilla (Mann-Whitney U-testi,  $p < 0,001$  molemmat bakteerit) (kuvat 1 ja 2). Näytteenoton ajankohdalla oli voimakas vaikutus rokotettujen kalojen vasta-ainemääriin (yksisuuntainen ANOVA,  $p < 0,001$  molemmat bakteerit). Rokotetuissa ryhmissä havaittiin voimakas vasta-ainetasen nousu jo kolme viikkoa rokotuksen jälkeen. Viikolla 5 *A. salmonicida* -vasta-ainetasot olivat laskeutuneet merkitsevästi (Tukey,  $p < 0,001$ ). Vasta-aineet *L. anguillarum* -bakteeria kohtaan olivat merkitsevästi korkeammalla viikoilla 8, 12, ja 16 verrattuna viikkoon 5 rokotuksen jälkeen (Tukey,  $p < 0,05$ ). *A. salmonicidan* kohdalla viikon 3 lisäksi vain viikko 16 poikkesi merkitsevästi viikosta 5 (Tukey,  $p < 0,001$ ). Heikosti reagoivien kalojen määrä väheni kokeen myötä, etenkin *L. anguillarum* -vasta-aineiden osalta (kuvat 1 ja 2).



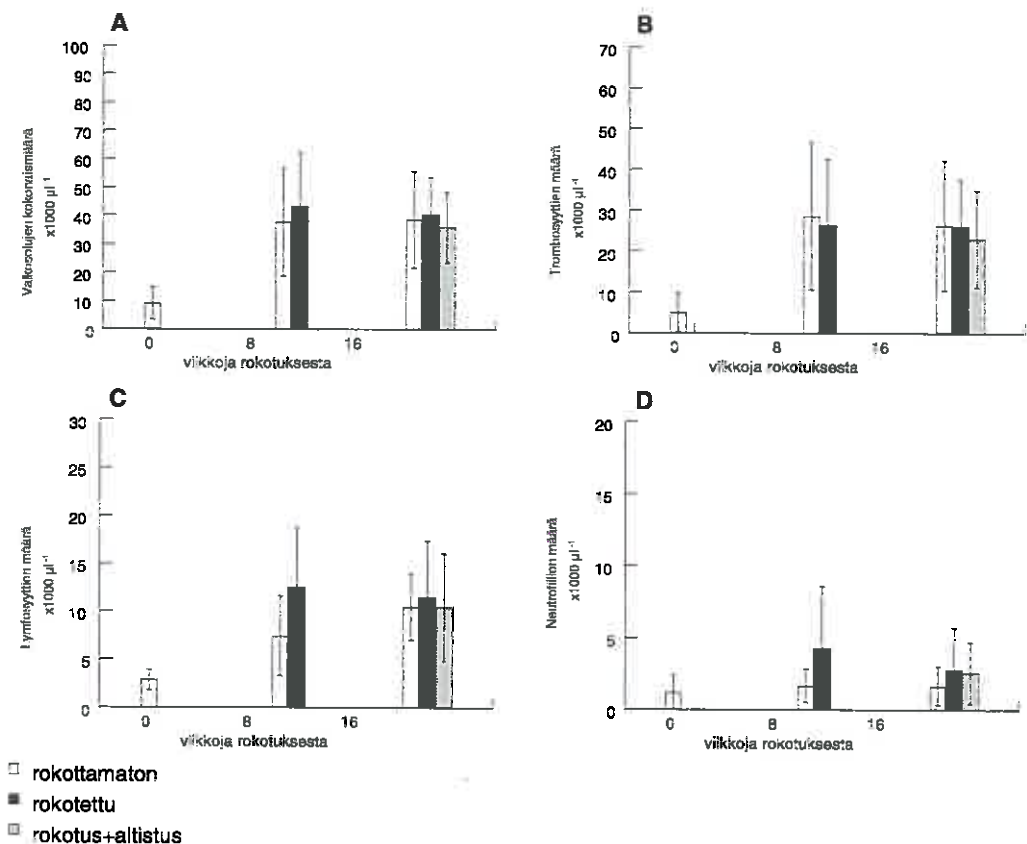
Kuva 1. *Listonella anguillarum* (O1) -vasta-ainetaso rokottamattomissa (○) sekä rokotetuissa (●) sioissa, sekä keskiarvo ± keskihajonta (n=20)



Kuva 2. *Aeromonas s. salmonicida* -vasta-ainetaso rokottamattomissa (○) sekä rokotetuissa (●) sioissa, sekä keskiarvo ± keskihajonta (n=20)

### 3.2.2. Rokotus näkyi myös valkosolukuvassa

Näytteenoton ajankohta vaikutti merkittävästi veren valkosolujen kokonaismääriin, mutta itse rokotuksella ei ollut vaikutusta (kaksisuuntainen ANOVA, log-muunnettu aineisto: ajankohta  $p < 0,001$ ; rokotus  $p = 0,380$ ; interaktio  $p = 0,744$ ) (kuva 3 A). Valkosolujen eri tyyppien määriä tarkasteltiin kaksisuuntaisella MANOVA-testillä log-muunnetusta aineistosta. MANOVA-mallin yleinen p-arvo oli  $< 0,001$ . Rokotetuilla kaloilla oli merkittävästi enemmän lymfosyyttejä ( $p = 0,037$ ) ja neutrofiilejä ( $p = 0,013$ ), mutta ei trombosyyttejä rokotamattomiin verrattuna (kuva 3 C ja D). Näytteenoton ajankohdalla oli merkittävä vaikutus kaikkiin valkosolutyyppeihin ( $p < 0,001$ ), johtuen lähinnä pienistä alkunäytteen arvoista. Ajankohdan ja rokotuksen välinen interaktio oli merkittävä lymfosyyttien kohdalla ( $p = 0,02$ ). Tämä johtuu siitä, että rokotettujen ja rokotamattomien kalojen lymfosyyttiarvot erosivat toisistaan ajan suhteen, lähinnä viikolla 8 (kuva 3 C). Paiseautialtistuksella ei ollut vaikutusta valkosolumääriin (kuva 3 A-D). Saman kalayksilön veren vasta-ainetasoilla ja lymfosyyttien määrillä ei ollut korrelaatiota (Spearmanin rank-korrelaatio: *A. salmonicida*  $-0,056 - 0,153$ ; *L. anguillarum*  $-0,047 - 0,159$ ).

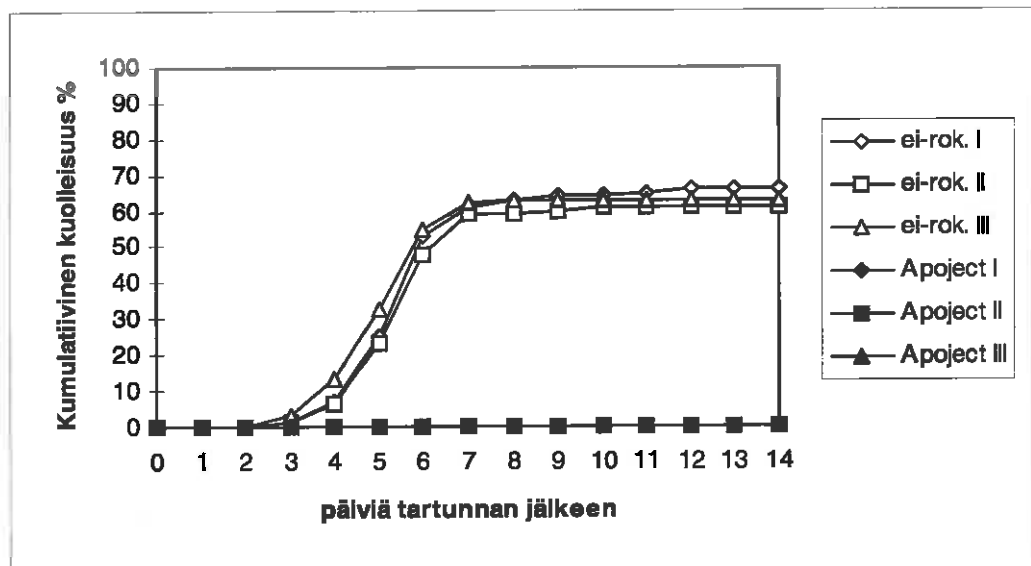


Kuva 3. Siian veren valkosolujen kokonaismäärä (A) sekä trombosyyttien (B), lymfosyyttien (C) ja neutrofiilien (D) määrät ( $x1000\mu l^{-1}$ ) ( $\pm$ keskihajonta,  $n=20$ ) rokottamattomissa ja rokotetuissa ryhmissä ennen rokotusta sekä 8 ja 16 viikkoa rokotuksen jälkeen. Viikolla 16 myös arvot rokotetusta, paiseautialtistetusta siikaryhmästä.

### 3.3. Tartuntakokeet

#### 3.3.1. Hyvä suoja vibrioosia vastaan

Rokotettuja kaloja ei kokeessa kuollut lainkaan. Kuolleisuutta alkoi esiintyä rokottamattomissa kaloissa kolmen päivän kuluttua tartuttamisesta. Näissä ensimmäisinä kuolleissa kaloissa ei havaittu ulkoisia oireita. Viidennestä päivästä eteenpäin sairastelevissa kaloissa verestivät evätyvet ja pyrstön suomut olivat koholla. Iholla oli verestäviä läikkiä siellä täällä ja peräaukon seutu vuoti verta. Ennen kuolemaa kiduskanisien alaosa oli verestävä, kuolleissa kaloissa tätä oiretta ei havaittu. Avatussa kalassa voitiin todeta turvonnut perna ja vatsaontelon kalvoissa oli pistemäisiä verenvuotoja. Rokottamattomia siikoja kuoli yhteensä 63 % (kuva 4). RPS-arvot on esitetty taulukossa 2. *Listonella anguillarum* -bakteeri jälleeneristettiin kaikista kuolleista sioista, joista bakteeriviljely tehtiin. Kokeesta hengissä selvinneistä sioista ei bakteeria eristetty.

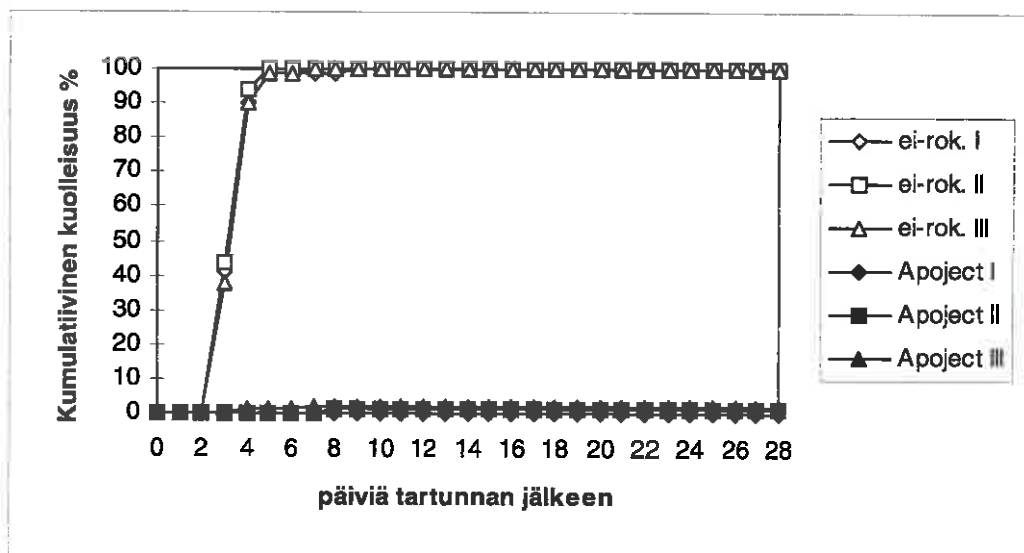


Kuva 4. Siikojen kumulatiivinen kuolleisuus vibrioosialtistuksen jälkeen. I, II ja III tarkoittavat eri altaita, joissa oli kokeen alussa kussakin 100 kalaa. Altistus tapahtui 8 viikkoa rokotuksen jälkeen (ei-rok = rokottamaton, Aproject = rokotettu).

#### 3.3.2. Hyvä suoja paisetautia vastaan

Paisetautitartuntakokeessa rokottamattomassa ryhmässä esiintyi kuolleisuutta kolmannelta päivästä alkaen, ja viikon kuluttua olivat kaikki 300 rokottamatonta siikaa kuolleet. Ulkoisia oireita ei kuolevilla ja kuolleilla sioilla näkynyt, lukuunottamatta kylkiviivan muuttumista punaiseksi. Ko. oiretta esiintyi noin kolmanneksella kuolleista kaloista, ja sen aiheutti kylkiviivakanavassa oleva verinen lima. Kuten vibrioosikokeessa, avatussa kalassa näkyi turvonnut perna ja pistemäistä verenvuotoa vatsaontelon kalvoilla. Rokotettuja kaloja kuoli yhteensä kolme, ensimmäisestä kuolleesta ei

kyetty jälleeneristämään *A. s. salmonicida* -bakteeria, mutta kahdesta muusta paisetautibakteeri eristettiin (kuva 5). RPS-arvot on esitetty taulukossa 2. Bakteeri jälleeneristettiin kaikista kuolleista rokottamattomista siioista, joista bakteeriviljely tehtiin. Koikeesta hengissä selvinneistä siioista ei bakteeria eristetty.



Kuva 5. Siikojen kumulatiivinen kuolleisuus paisetauti-altistuksen jälkeen. I, II ja III tarkoittavat eri altaita, joissa oli kokeen alussa kussakin 100 kalaa. Altistus tapahtui 12 viikkoa rokotuksen jälkeen (ei-rok = rokottamaton, Apoject = rokotettu).

Taulukko 2. Tartuntakokeiden perusteella lasketut RPS-arvot.

| Taudinaiheuttaja                             | Kuolleisuus %<br>rokottamaton | Kuolleisuus %<br>rokotettu | RPS   |
|--|-------------------------------|----------------------------|-------|
| <i>Listonella anguillarum</i> (Vibriooosi)   | 63                            | 0                          | 100 % |
| <i>Aeromonas s. salmonicida</i> (Paisetauti) | 100                           | 1                          | 99 %  |

### 3.4. Rokotuksen näkyvät haittavaikutukset vähäisiä

Rokotuksen aiheuttamat haittavaikutukset, jotka ilmenivät kiinnikkeinä ja pigmentin muodostumisena, olivat siialla lieviä. Suuressa osassa tutkittuja kaloja (57 %) ei rokotusjälkiä (rokotetta lukuunottamatta) ollut lainkaan havaittavissa. Lievää pigmentinmuodostumista esiintyi pienessä määrässä tutkittuja kaloja. Pigmentti ei vaikuttanut kalan teuraslaatuun (taulukko 3).

Kiinnikkeiden muodostuminen oli myös vähäistä. Vakavin tapaus (1 kala) oli sekin rokotuksen yhteydessä neulan mukana vatsaonteloon joutuneen suomun aiheuttama. Rokotusjälkiä tutkittaessa havaittiin maksan pinnalle kehittyneen paikallista granulatiokudosta (kudosmuutos, joka joka rajoittaa tulehduksen aiheuttajan terveestä kudoksesta ja johtaa arpeutumiseen), jota esiintyi 24 %:lla tutkituista kaloista. Yhdellä siialla maksa oli lievästi kuroutunut granulatiokudoksen seurauksena, muilla ei tästä johdettavaa näkyvää haittaa voinut havaita. Granulatiokudosta esiintyi vain kaloilla, joilla oli kiinnikkeitä (taulukko 3).

**Taulukko 3. Pigmentin ja kiinnikkeiden jakauma (%) sekä keskiarvo ja keskihajonta rokotetuilla sioilla (n=65). Arvosteluasteikko on selitetty tekstissä luvussa 2.6.**

| Asteikko                  | Pigmentti (0-3) | Kiinnikkeet (0-6) |
|---------------------------|-----------------|-------------------|
| 0                         | 91,0 %          | 58,5 %            |
| 1                         | 6,0 %           | 21,5 %            |
| 2                         | 3,0 %           | 12,3 %            |
| 3                         | 0,0 %           | 6,2 %             |
| 4                         |                 | 1,5 %             |
| 5                         |                 | 0,0 %             |
| 6                         |                 | 0,0 %             |
| keskiarvo ja keskihajonta | 0,12 ± 0,41     | 0,71 ± 1,01       |

## 4. Pohdintaa ja johtopäätökset

Tehdyt kokeet osoittivat, että rokottamalla saadaan aikaan hyvä suoja vibrioosia ja paisetautia vastaan. Näin siitä huolimatta, että altistustapa (bakteerit saatettiin suoraan kalan ruumiinonteloon) oli rankka. Taudinaiheuttajien injisoiminen suoraan vatsaonteloon ei vastaa luonnollista tartuntatietä, koska injisoinnissa ohitetaan monta kalan luontaisen puolustusjärjestelmän osatekijää. Siksi esimerkiksi Nordmo ja Ramstad (1997) suosittelevat paisetautirokotteiden tehon tutkimuksissa kalojen tartuttamismenetelmiksi joko kalojen kylvetystä bakteereja sisältävässä vedessä tai ns. kohabitaatiomenetelmää, jossa koekalojen joukkoon laitetaan sairaita kaloja. Siikakokeessa valittiin injisointi, koska pilottikokeissa havaittiin, että hyväkuntoinen, pinnaltaan ehjä siika ei ole erityisen herkkä veden kautta saatavalle paisetautitartunnalle.

Käytännön kokemukset mm. RKTL:n Rymättylän kalantutkimusasemalla ovat osoittaneet, että rokotettujen, hyvään kasvuvauhtiin päässeiden siikojen kuolleisuus on vähäistä. Sen sijaan ne siikat, jotka mereen siirron jälkeen eivät syö tarjottua rehua, laihtuvat kesän mittaan ja sairastuvat. Nämä pienet kalat kuolevat pääosin syksyn ja talven aikana. Kuolleista kaloista on eristetty enimmäkseen *Pseudomonas anguilliseptica* -bakteeria, mutta myös vibrioosia (Koskela ym. 2000, Koskela ym. 2001). Tehokas rokotussuoja edellyttää siten myös kalojen hyvää kuntoa ja kasvatusympäristöä. Rokotettujen kalojen joukossa on aina sellaisia yksilöitä, joiden vasta-ainetuotanto ei juurikaan reagoi rokotukseen. Tämä näkyy myös kuvissa 1 ja 2. Olosuhteiden heikentyessä nämä saattavat sairastua ja levittää tautia muihin parven kaloihin.

Siian puolustusjärjestelmä reagoi hyvin rokotukseen. Kokeessa havaittu siian vasta-ainetuotannon huippu viikolla 3 ei ole tavallinen ilmiö lohikaloilla. Samassa koetilassa kirjolohella tehdyssä kokeessa vasta-ainetaso nousi tasaisesti (Lundén ym. 1998). Vasta-ainepitoisuuden kasvua kalan veressä havaitaan optimilämpötilassa yleensä muutaman viikon kuluttua rokottamisesta, mutta vasta-aineita tuottaviksi soluiksi erilaistuneita lymfosyyttejä havaitaan pernassa ja munuaisessa jo viikon tai kahden kuluttua (Chiller ym. 1969, Rijkers ym. 1980). Suurimmillaan näiden solujen määrä on 1-2 viikkoa ennen kuin vasta-ainehuippu saavutetaan. Vaikka tässä tutkimuksessa lymfosyyttien määrä veressä 8 viikkoa rokotuksen jälkeen olikin rokotetuilla siioilla merkittävästi korkeampi kuin rokottamattomilla siioilla, on todennäköistä, että lymfosyyttien määrä on ollut suurimmillaan 3-4 viikkoa, mahdollisesti jo 2 viikkoa, rokotuksen jälkeen. Viikolla 16 rokotuksen jälkeen lymfosyyttien määrä oli jo laskenut lähes samalle tasolle kuin kontrollikaloilla, vaikka vasta-ainepitoisuuden havaittiin vielä kasvavan. Lymfosyyttivasteen ja vasta-ainevasteen eriaikaisuus johtuu osaksi siitä, että immunoglobuliinien (joita vasta-aineet ovat) puoliintumisaika on suhteellisen pitkä (Harrell ym. 1975). Veren trombosyyttien ja lymfosyyttien nousu myös kontrollikaloilla alkunäytteeseen verrattuna saattoi osaksi johtua siikojen kasvusta, sillä toiseen tutkimusajankohtaan mennessä siikojen paino oli kaksinkertaistunut.

Rokotettujen, paisetaudille altistettujen siikojen valkosolukuva ei juuri eronnut kontrollikalojen tai rokotettujen, altistamattomien siikojen valkosolukuvasta 4 viikkoa altistuksen jälkeen. Rokotuksen antama suoja näkyy siten, että lymfosyyttien määrä on samalla tasolla kuin altistamattomilla kaloilla, sillä paisetautiin sairastuneilla veren lymfosyyttien määrä laskee jyrkästi.

Rokotus ei aiheuttanut vakavia haittavaikutuksia, joita on esiintynyt esimerkiksi rokotettaessa lohta öljypohjaisilla rokotteilla (Poppe ja Breck 1997, Midtlyng ja Lillehaug 1998). Maksan pinnalla havaitut granuloomat saattavat jossakin tapauksessa olla haitallisia siialle mikäli ne kurovat maksaa kasaan tai aiheuttavat repeämiä maksan pinnassa. Kokeessa siikat rokotettiin 15 °C lämpötilassa, mutta käytännössä rokotukset

tehdään yleensä alemmissa lämpötiloissa, jolloin kudokset saattavat olla toisenlaisia. Myös seuranta-aika oli lyhyt. Rymättylän kalantutkimusasemalla on tutkittu teuraskokoisten siikojen sivureaktioita vuosina 1998-2000, eikä teuraslaatu alentavia rokotusjälkiä ole todettu (Koskela ym. 2001).

Siiat menettivät kuitenkin ruokahalun rokottamisen yhteydessä. Vibriosisikokeessa ruokahalu ei palannut altistuksen aikana (2 viikkoa), paisetautikokeessa siiat alkoivat syödä noin kolmen viikon kuluttua rokotuksesta. Rokottamattomiin kaloihin verrattuna rokotettujen siikojen kasvu saattaa siten hidastua ainakin joksikin aikaa. Tutkimustietoa ei ole siitä kurovatko rokotetut kokoeron kiinni myöhemmin. Kokonaistuloksen kannalta kuolleisuudelta ja antibiootihoidoilta välttyminen kompensoi kuitenkin mitä todennäköisemmin mahdolliset pienet kasvutappiot, joten ruokakalaksi kasvatettavien siikojen rokottaminen on erittäin suositeltavaa.

Tässä kokeessa immunieetin annettiin kehittyä 15 °C:ssa 8 viikkoa ennen vibriosisialtistusta ja 12 viikkoa ennen paisetautialtistusta. Käytännössä kalat rokotetaan joko edellisenä syksynä tai keväällä huhti-toukokuussa, joten päiväastekertymä ennen mereen siirtoa vaihtelee suuresti. Optimaalisen rokotusajankohdan löytämiseksi tarvittaisiin lisää tutkimusta.



# Kirjallisuus

- Amend, D.F. 1981. Potency testing of fish vaccines. *Developments in Biological Standardization* 49, 447-454.
- Chiller, J.M., Hodgins, H.O. & Weiser, R.S. 1969. Antibody response in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) II. Studies on the kinetics of development of antibody-producing cells and on complement and natural hemolysin. *Journal of Immunology* 102, 1202-1207.
- Guesdon, J.-T., Ternyck, T. & Avrameas, S. 1979. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 27, 1131-1139.
- Harrell, L.W., Etlinger, H.M. & Hodgins, H.O. 1975. Humoral factors important in resistance of salmonid fish to bacterial disease I. Serum antibody protection of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against vibriosis. *Aquaculture* 6, 211-219.
- Koskela, J. 1992. Growth rate and feeding level of European whitefish (*Coregonus lavaretus* L. s.l.) under hatchery conditions. In: T.N. Todd & M. Luczynski (eds.), *Biology and management of Coregonid fishes*. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 39, 731-738.
- Koskela, J. & Eskelinen, U. 1992. Growth of larval European whitefish (*Coregonus lavaretus* L. s.l.) at different temperatures. In: T.N. Todd & M. Luczynski (eds.), *Biology and management of Coregonid fishes*. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 39, 677-682.
- Koskela, J. & Rahkonen, R. 1998. Monipuolisuutta ruokakalan viljelyyn. *Vesitalous* 5/1998, s. 15-17.
- Koskela, J., Setälä, J. & Honkanen, A. 1998. Viljelyn monipuolistaminen uusien lajien avulla. Lajien taloudelliset ja tekniset mahdollisuudet ruokakalanviljelyyn. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Kala- ja riistaraportterja 111, 13 s.
- Koskela, J., Rahkonen, R., Forsman, L., Vielma, J. & Lönnström, L. 2000. RKTL kehittää siian ruokakalanviljelyn kannattavuutta (Lönsam sikodling). *Suomen kalankasvattaja - Fiskodlaren* 1/2000, s. 43-47.
- Koskela, J., Rahkonen, R., Forsman, L., Norrdahl, O. & Lönnström, L.-G. 2001. Siikakannat ruokakalanviljelyssä – kahden siikakannan ja kantaristeytymän vertailu. *Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar* 171, 24 s.
- Lundén, T., Miettinen, S., Lönnström, L.-G., Lilius, E.-M. & Bylund, G. 1998. Influence of oxytetracycline and oxolinic acid on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology* 8, 217-230.
- Lönnström, L.-G., Rahkonen, R., Lundén, T., Pasternack, M., Koskela, J. & Gröndahl, A. 2001. Protection, immune response and side-effects in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) vaccinated against vibriosis and furunculosis. *Aquaculture*, in press.
- Midtlyng, P.J. & Lillehaug, A. 1998. Growth of Atlantic salmon *Salmo salar* after intraperitoneal administration of vaccines containing adjuvants. *Diseases of Aquatic Organisms* 32, 91-97.
- Nordmo, R. & Ramstad, A. 1997. Comparison of different challenge methods to evaluate the efficacy of furunculosis vaccines in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases* 20, 119-126.

Poppe, T.T. & Breck, O. 1997. Pathology of Atlantic salmon *Salmo salar* intraperitoneally immunized with oil-adjuvated vaccine. A case report. *Diseases of Aquatic Organisms* 29, 219-226.

Rahkonen, R., Vennerström, P., Rintamäki-Kinnunen, P. & Kannel, R. 2000. Terve kala. Tautien ennaltaehkäisy, tunnistus ja hoito. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Nykypaino, Helsinki, 140 s.

Rijkers, G.T., Frederix-Wolters, E.M.H. & van Muiswinkel, W.B. 1980. The immune system of cyprinid fish. Kinetics and temperature dependence of antibody-producing cells in carp (*Cyprinus carpio*). *Immunology* 41, 91-97.

Yui, M.A. & Kaattari, S.L. 1987. *Vibrio anguillarum* antigen stimulates mitogenesis and polyclonal activation of salmonid lymphocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 11, 539-549.

Lars-Gustaf Lönnström, Riitta Rahkonen, Annette Gröndahl, Marja Pasternack, Tuula Lundén, Juha Koskela ja Göran Bylund

## Siian rokotus paisetautia ja vibrioosia vastaan

Tutkimusraportti

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

Siian ruokakalanviljely 312 063

Siian ruokakalanviljelyn laajentumisen yksi tärkeä edellytys on kuolleisuuden pysyminen mahdollisimman pienenä kasvatuksen aikana. Rannikollamme verkkoaltaissa kasvatettavat siiat eivät käytännössä voi välttyä vibrioosilta (aiheuttaja *Listonella* (ent. *Vibrio*) *anguillarum*) ja paisetaudilta (aiheuttaja *Aeromonas salmonicida salmonicida*). Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli testata laboratorio-olosuhteissa 1) kaupallisen rokotteen (Apoject 1800) antamaa suojaa paisetautia ja vibrioosia vastaan; 2) tutkia rokotettujen ja rokottamattomien siikojen vasta-ainetuotantoa *L. anguillarum*- ja *A. s. salmonicida*-bakteereja vastaan; 3) tutkia veren valkosolukuvaa rokotetuilla ja rokottamattomilla siioilla; 4) tutkia rokotuksesta aiheutuvia haittavaikutuksia (kiinnikkeet, musta pigmentti). Rokotus antoi hyvän suojan kumpaakin tautia vastaan. Vibrioosille altistettaessa rokotettuja ei kuollut yhtään, mutta rokottamattomia 63 %. Paisetaudille altistettaessa rokottamattomat kuolivat kaikki, mutta rokotettuja vain 1 %. Siian puolustusjärjestelmä vastasi tuottamalla vasta-aineita kumpaakin bakteeria vastaan ja tuottamalla rokottamattomiin verrattuna enemmän lymfosyyttejä ja neutrofiileja. Rokotuksesta aiheutuvia lieviä kiinnikkeitä vatsaontelossa todettiin 42 %:lla ja jonkun verran mustaa väriainetta 9 %:lla siioista. Kokeen perusteella ruokakalaksi kasvatettavien siikojen rokottaminen paisetautia ja vibrioosia vastaan on erittäin suositeltavaa.

Siika, vibrioosi, paisetauti, *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum*, *Aeromonas salmonicida*, rokottaminen, rokotussuoja, vasta-aineet, valkosolut, sivureaktiot

Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar 172

951-776-316-6

0787-8478

15 s.

Suomi

50 mk

Julkinen

Edita-kirjakauppa  
Annankatu 44  
00100 Helsinki

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos  
PL 6  
00721 Helsinki

Puh. (09) 566 0566 Faksi (09) 566 0570

Puh. 0205 7511 Faksi 0205 751 201

Lars-Gustaf Lönnström, Riitta Rahkonen, Annette Gröndahl, Marja Pasternack, Tuula Lundén, Juha Koskela och Göran Bylund

## Vaccinering av sik mot furunkulos och vibrios

Rapport

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet

Odling av sik som matfisk 312063

En viktig förutsättning för utvidgad matfiskodling av sik är att dödligheten hålls så låg som möjligt under odlingsperioden. Vid odling av sik i nätkassar vid våra kuster kan man i praktiken inte undvika vibrios (förorsakad av *Listonella* (tid. *Vibrio*) *anguillarum*) och furunkulos (förorsakad av *Aeromonas salmonicida* *salmonicida*). Målsättningen för denna undersökning var att i laboratorieförhållanden 1) testa det skydd, som ett kommersiellt vaccin (Apoject 1800) ger mot furunkulos och vibrios; 2) undersöka produktionen av antikroppar mot *L. anguillarum*- och *A. s. salmonicida* -bakterier hos vaccinerade och ovaccinerade sikar; 3) undersöka blod bilden för vita blodkroppar hos vaccinerade och ovaccinerade sikar; 4) undersöka bieffekter av vaccineringen (fastväxningar, svart pigment). Vaccineringen gav ett gott skydd mot bägge sjukdomar. Då de utsattes för vibrios dog ingen av de vaccinerade fiskarna, däremot 63 % av de icke vaccinerade. Utsatta för furunkulos dog samtliga ovaccinerade, men endast 1 % av de vaccinerade. Sikens immunförsvar reagerade genom att producera antikroppar mot bägge bakterier. Jämfört med de ovaccinerade producerade de vaccinerade fler lymfocyter och neutrofila leucocyter. Hos 42 % av sikarna konstaterades lindriga fastväxningar i bukhålan förorsakade av vaccineringen och i någon mån svart pigment hos 9 %. Utgående från undersökningen kan vaccinering av sik i matfiskodling mot furunkulos och vibrios starkt rekommenderas.

Sik, vibrios, furunkulos, *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum*, *Aeromonas salmonicida*, vaccinering, immunitetsskydd, antikroppar, vita blodkroppar, bieffekter

Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar 172

951-776-316-6

0787-8478

15 s.

Finska

50 mk

Offentlig

Edita-bokhandeln  
Annegatan 44  
00100 Helsingfors

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet  
PB 6  
00721 Helsingfors

Tel. (09) 566 0566 Fax (09) 566 0570

Tel. 0205 7511 Fax 0205 751201

Published by

Finnish Game and Fisheries Research Institute

Date of Publication

February 2001

Author(s)

Lars-Gustaf Lönnström, Riitta Rahkonen, Annette Gröndahl, Marja Pasternack, Tuula Lundén, Juha Koskela and Göran Bylund

Title of Publication

**Vaccination against vibriosis and furunculosis in whitefish, *Coregonus lavaretus* (L.)**

Type of Publication

Research report

Commissioned by

Finnish Game and Fisheries Research Institute

Date of Research Contract

Title and Number of Project

Siian ruokakalaviljely 312 063

Abstract

Positive development of whitefish aquaculture needs methods to keep mortality low during the rearing phase. Cultivation in net cages in the brackish water of the coastal area in Finland exposes fish to vibriosis (*Listonella (Vibrio) anguillarum*) and furunculosis (*Aeromonas salmonicida salmonicida*). The aim of this study was to test in laboratory facilities 1) the efficacy of one bivalent commercial vaccine (Apoject 1800) against these diseases; 2) to study the specific antibody production against these pathogens; 3) to study the effect of vaccination on the blood leucocyte picture and 4) to study the side-effects of the vaccination. Vaccination provided good protection against vibriosis (RPS 100%) and furunculosis (RPS 99%). The immune system responded well by producing antibodies against both of these pathogens and by producing more lymphocytes and neutrophils compared to nonvaccinated fish. Vaccination produced weak adhesions around the injection site in 42 % and minor pigmentation in 9% of the fish. According to this experiment the vaccination of whitefish cultivated in the brackish water can be highly recommended.

Key words

Whitefish, *Coregonus lavaretus*, vibriosis, furunculosis, *Listonella (Vibrio) anguillarum*, *Aeromonas salmonicida*, vaccination, protection, antibodies, leucocytes, side-effects

Series (key title and no.)

Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar 172

ISBN

951-776-316-6

ISSN

0787-8478

Pages

15 p.

Language

Finnish

Price

50 FIM

Confidentiality

Public

Distributed by

Oy Edita Ab  
Book-shop  
Annankatu 44  
FIN-00100 Helsinki, Finland  
Phone +358 0 566 0566 Fax +358 0 566 0570

Publisher

Finnish Game and Fisheries Research Institute  
P.O. Box 6  
FIN-00721 Helsinki, Finland  
Phone +358 205 7511 Fax +358 205 75201

# KALATUTKIMUKSIA – FISKUNDERSÖKNINGAR

## Aiemmin ilmestyneitä julkaisuja

**171. KOSKELA, J., RAHKONEN, R., FORSMAN, L., NORRDAHL, O., LÖNNSTRÖM, L.-G.**

Siika ruokakalanviljelyssä – kahden siikakannan ja kantaristeytymän vertailu. (Sik i matfiskodling – en jämförelse mellan två sikstammar och deras hybrider) (Whitefish in aquaculture: comparison of two stocks and their hybrids). 24 s. Helsinki 2001.

**170. PARMANNE, R.**

Silakan poikasten runsaus Suomen rannikolla vuosina 1974-1996. (Tätheten av strömmingsyngel vid Finlands kuster åren 1974-1996) (Abundance of Baltic herring larvae off the coast of Finland in 1974 – 1996). Helsinki 2001.

**169. MIKKOLA, J., LAAMANEN, M., JUTILA, E.**

Kymijoen vaelluskalat ja kalastus 1990-luvulla. (Kymmene älvs vandringsfiskar och fisket under 1990-talet) (Migratory fish of the Kymijoki river and their fishing in the 1990s). 44 s. Helsinki 2000.

**168. LAPPAINEN, A.**

Sisävesikalastus muuttuvassa yhteiskunnassa. (Insjöfisket i ett föränderligt samhälle) (Inland Fishing in a Changing Society). 38 s. Helsinki 2000.

**167. KOLARI, I., AUVINEN, H., HIRVONEN, E.**

Kalastus Puruvedellä vuosina 1979-1995. (Fisket i Puruvesi åren 1979-1995) (Fishing in Lake Puruvesi in 1979-1995). 25 s. Helsinki 2000.

**166. MÄKI-PETÄYS, A., HUUSKO, A., KREIVI, P.**

Järvilohen poikasten elinympäristövaatimukset kesällä ja syksyllä. (Insjöläxynghens krav på sin livsmiljö under sommar och höst) (Summer and autumn habitat requirements and the habitat use of young landlocked salmon (*Salmo salar m. lacustris*)). 15 s. Helsinki 2000.

**165. KEINÄNEN, M., TOLONEN, T., IKONEN, E., PARMANNE, R., TIGERSTEDT, C., RYTI LAHTI, J., SOIVIO, A., VUORINEN P.J.**

Itämeren lohen lisääntymishäiriö – M74. (Östersjöläxens reproduktionsstörning – M74) (Reproduction disorder of Baltic salmon – M74). 38 s. Helsinki 2000.

**164. KOIVURINTA, M., SYDÄNOJA, A., MARJOMÄKI, T., HELMINEN, H., VALKEAJÄRVI, P.**

Taimenen ja järvilohen ravinto ja kasvu Puulassa, Päijänteessä, Konnevedessä ja Säkylän Pyhäjärvässä vuosina 1995-1996. (Öringens och insjöläxens föda och tillväxt i Puula, Päijänne, Konnevesi och Säkylä Pyhäjärvi åren 1995-1996) (Diet and growth of brown trout and landlocked salmon in lakes Puula, Päijänne, Konnevesi (central Finland) and Pyhäjärvi (SW Finland) from 1995-1996). 32 s. Helsinki 2000.

**163. KOLARI, I., HIRVONEN, E., FRIMAN, T.**

Nieriäistutusten tuloksellisuus Puruvedessä. (Utbytet av rödingsutsättningarna i Puruvesi) (The stocking results of Arctic charr in Lake Puruvesi). 42 s. Helsinki 1999.

**162. Ahvenen ravinto Puruvedessä. (Abborrens föda i Puruvesi) (The food of perch in Lake Puruvesi). Vuorimies, O. (toim.). 44s. Helsinki 1999.**

**161. VALKEAJÄRVI, P.**

Päijänteen säännöstelyn vaikutus siikakantaan. (Inverkan av Päijännes reglering på sikbeståndet) (Effect of water level regulation on the whitefish stock in Lake Päijänne). 34 s. Helsinki 1999.

**160. SIIRA, A., HUUSKO, A., KORHONEN, P.**

Taimenistutusten vaikutus vaikutus Kitkajärvien muikkukantaan ja kalansaaliiseen. (Inverkan av öringutsättningarna på beståndet av siklöja och på fiskfångsterna i Kitkajärvi-sjöarna) (Affects of stocking of Brown Trout on Vendace population and total catch of fish in Lake Kitkajärvi). 27 s. Helsinki 1999.

**159. PARMANNE, R.**

Silakan kuden ajoittuminen ja kutuparviien koostumus rysäkalastuksen perusteella. (Strömmingens lektider och de lekande stimmens sammansättning enligt ryssjefångster) (The spawning time and composition of spawning shoals according to trapnet fishing of Baltic herring). 41 s. Helsinki 1999.

**158. MUTENIA, A., SALONEN, E., KOTAJÄRVI, M.**

Lokan ja Porttipahdan vaellussiika – tekojärvien paikallinen arvokala. (Älvsiken i Lokka och Porttipahta - vattenmagasinens lokala värdefisk) (Whitefish: a Local Fish of Value in the Lokka and Porttipahta Reservoirs) 29. s. Helsinki 1999.

**157. SAURA, A.**

Taimenen säilyttäminen Gumbölenjoessa. (Åtgärder för att bevara öringen i Gumböleån) (Maintenance of the trout in the Gumbölenjoki River in Espoo). 19. s. Helsinki 1999.

**156. NYKÄNEN, M., HUUSKO, A.**

Harjuksen elinympäristövaatimukset virtavesissä - kirjallisuusselvitys. (Harrens miljökrav i rinnande vatten - litteraturundersökning) (Habitat requirements and habitat use of riverine European grayling (*Thymallus thymallus* (L.)) — a review). 23 s. Helsinki 1999.

**155. Saimaan järvilohen elinolosuhteiden parantaminen.** (Hur kan förhållandena för insjöloxen i Saimen förbättras?) (Improving the living conditions for Saimaa landlocked salmon). Makkonen, J. (toim.). 97 s. Helsinki 1999.

**154. JUTILA, E., JOKIKOKKO, E., SALO, P.**

Viehekalastuksen kehitys Simojoella - kalastus Simossa ja Ranualla 1994 -1997

(Utvecklingen av spöfisket i Simojoki - fisket i Simo och Ranua åren 1994 - 97) (Development of rod fishing in the Simojoki River: fishing in the municipalities of Simo and Ranua, 1994-1997). Helsinki 1999.

**153. HEIKINHEIMO, O.**

Siian kalastuksen säätely sisävesissä.

(Reglering av sikfisket i insjöområdet) (Management of the whitefish (*Coregonus lavaretus* (L.)) fishery in inland waters). 26 s. Helsinki 1999.

**152. MIINALAINEN, M., VUORIMIES, O., HEIKINHEIMO, O.**

Hauen ravinto Vuokalanjärvessä. (Gäddans näring i Vuokalanjärvi) (The Food of Northern Pike (*Esox lucius* L.) in Lake Vuokalanjärvi). 29 s. Helsinki 1998.

**151. KOSKELA, J., SETÄLÄ, J., HONKANEN, A., FORSMAN, L.**

Ahvenen kasvatuksen kannattavuus - taloudellis-biologinen analyysi.

(Lönar det sig att odla abborre? - ekonomisk-biologisk analys) (Evaluation of the Profitability of the Short-term Cultivation of Perch: A Cost-Benefit Analysis). 21 s. Helsinki 1998.

**150. KAUKORANTA, M., KOLJONEN, M.-L., KOSKINIEMI, J., PENNANEN, J.T.**

Kala-atlas. Nahkiainen, pikkunahkiainen, lohi, taimen, nieriä, siika, muikku, harjus, toutain, vimpa, rantaneula ja kivisimppu - esiintymät ja kantojen tila. (Fiskatlas. Utbredning och tillstånd gällande bestånden av nejonöga, bäcknejonöga, lax, öring, röding, sik, siklöja, harr, asp, vimba, nissöga och stensimpa.) (Atlas of Finnish Fishes. Distribution of lamprey, brook lamprey, salmon, trout, Arctic char, whitefish, vendace, grayling, asp, vimba, spined loach and bullhead, and status of the stocks). 57 s. Helsinki 1998.

**149. MUTENIA, A., KORHONEN, P.**

Lokan ja Porttipahdan haukikantojen hoito.

(Vård av gäddbestånden i Lokka och Porttipahta) (Management of Pike Stocks in the Lokka and Porttipahta reservoirs.) 32 s. + liitteet. Helsinki 1998.

**148. JUVANKOSKI, N., SETÄLÄ, J., HONKANEN, A., SAARNI, K., MICKWITZ, P.**

Tukku- ja vähittäiskaupan näkemys kirjolohifileen kokonaislaadusta.

(Parti- och detaljhandelns syn på totalkvaliteten hos regnbågsfilé) (The Quality of Rainbow Trout Fillets According to Wholesalers and Retailers). 23 s. + liitteet. Helsinki 1998.

**147. ESKELINEN, P., KOSKINIEMI, J.**

Rautalammin reitin taimenen säilyttäminen eri viljelykantoja yhdistämällä.

(Kan öringen från Rautalampistråten bevaras genom kombination av olika odlade bestånd?) (Crossbreeding of separate reared strains of brown trout originating from Rautalampi watercourse). 16 s. Helsinki 1998.

**146. HAAPALA, A., MÄKI-PETÄYS, A., HUUSKO, A.**

Lohen (*Salmo salar* L.) jokipoikasille soveltuva elinympäristö ja sen käyttö — kirjallisuusselvitys.

(Livsmiljöer lämpiga för älvnygel av lax (*Salmo salar* L.) och utnyttjandet av dessa. Litteraturundersökning) (Habitat use and preference of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in streams: a review). 21 s. Helsinki 1998.

**145. HAKKARI, L., SELIN, P., WESTMAN, K., MIELONEN, M.**

**Planktonsiian ja peledsiian ravinnosta ja ravintokilpailusta Evon Majajärvässä ja Valkea-Mustajärvässä**  
(Näring och näringskonkurrens gällande plankton- och peledsik i sjöarna Majajärvi och Valkea-Mustajärvi i Evois.) (Food and competition for food of *Coregonus muksun* and *Coregonus peled* in lakes Majajärvi and Valkea-Mustajärvi, Evo.) 27 s. + liitteet. Helsinki 1998.

**144. MIKKOLA, J.**

**Havin vuoden 1995 pesuainepäästön kalataloudelliset vaikutukset ja vahinkoarvio.**  
(Fiskeriekonomiska följder och uppskattning av skadorna till följd av tvättmedelsutsläppet från Havi år 1995.) (Effects on fisheries and the estimation of damage caused by the Hackman Havi detergent discharge.) 34 s. + liitteet. Helsinki 1998.

**143. SAARNI, K., SETÄLÄ, J., HONKANEN, A.**

**Kalakaupan ja jalostuksen odotukset kalanviljelyn monipuolistamiseksi.**  
(Fiskhandeln och -förädlingens förväntningar på en mera mångsidig fiskodling) (The prospects of fish wholesalers and fish processors to increase variety in fish farming) 22 s. Helsinki 1998.

**142. LEINONEN, T., KORHONEN, P., SÄKKI, S.**

**Altaiden kattamisen ja vedenlaadun vaikutus vesihomeen esiintymiseen ja kalojen kuolleisuuteen.**  
(Effekten av baasängtäckning och vattenkvalitet på förekomst av vattensmögel och på fiskens dödlighet) (The effect of water quality and the covering of ponds on the fish mortality rate and the appearance of aquatic fungi) 24 s. + liitteet. Helsinki 1998.

**141. HONKANEN, A., EEROLA, E., SETÄLÄ, J.**

**Kalan käyttö eri väestöryhmissä - kotitalouksien haastattelututkimuksen satoa.**  
(Fiskkonsumtionen i olika befolkningsgrupper - resultat av en intervjuundersökning i hushållen) (Behavioural Patterns Related to Finnish Fish Consumption: An Analysis of Demographic Characteristics). 38 s. + liitteet. Helsinki 1998.

**140. HEIKINHEIMO, O., VALKEAJÄRVI, P.**

**Taimenen ja siian kalastuksen säätely Päijänteellä - Päätösanalyysitarkastelu**  
(Reglering av öring- och sikfisket i Päijänne - Granskning av beslutsanalys) (Management of the brown trout (*Salmo trutta* m. *Lacustris*) and whitefish (*Coregonus lavaretus*) fishery in Lake Päijänne: A decision analysis approach). 40 s. Helsinki 1998.

**139. MIINALAINEN, M., HEIKINHEIMO, O.**

**Siikamuotojen ravintokilpailu Vuokalanjärvässä.**  
(Födokonkurrens mellan olika sikformer i Vuokalanjärvi) (Food segregation between five whitefish (*Coregonus lavaretus* (L.)) stocks in Lake Vuokalanjärvi). 39 s. Helsinki 1998

**138. AALTO, J., NIEMELÄ, E., JULKUNEN, M., ERKINARO, J.**

**Taimenen poikastiheydet, kasvu ja vaellukset Lutto- ja Nuortijoessa.**  
(Yngeltätheter, tillväxt och vandringar hos öring i Lutto- och Nuortijoki) (Juvenile densities, growth and migration of brown trout (*Salmo trutta* L.) in the Rivers Luttojoki and Nuortijoki, northern Finland). 38 s. Helsinki 1998

**137. KEMPPAINEN, S., MÄÄTTÄ, V., PASANEN, P., MÄÄTTÄ, E.**

**Nieriälajit vertailussa - Elämänkaari poikasesta fileeksi**  
(Jämförelse mellan olika arter av röding - Livscykel från yngel till filé) (Comparison Between *Salvelinus* species: Lifespan from Fry to Fillet) 23 s. + liitteet. Helsinki 1998.

**136. SETÄLÄ, J.**

**Parantaako silakan tehokas jäähditys troolikalastuksen kannattavuutta?**  
(Förbättrar effektiv kylning av strömming trålfiskets lönsamhet?) (Does effective chilling increase the profitability of trawl fisheries?) 36 s. Helsinki 1998.