

Vísindadagur á Keldum

30. apríl 2004



Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Vísindadagur á Keldum 30. apríl, 2004

Inngangur

Meginviðfangsefni Tilraunastöðvar Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum eru rannsóknir á sjúkdómum, einkum í dýrum. Helstu rannsóknasviðin eru ónæmis- og sjúkdómafræði fiska, hæggengir smitsjúkdómar, ofnæmisjúkdómar, bóluefni, sníkjudýra- og sýklafræði og líftækni.

Fyrir tveimur árum var haldin eins dags ráðstefna þar sem fjallað var um vísindastarf á Keldum og gestafyrirlesarar voru með framlag. Ráðstefnan þótti takast vel. Því var ákveðið að halda svipaða ráðstefnu að tveimur árum liðnum og skoða grundvöll þess að hafa vísindadag reglulega. Heppileg tímasetning er að halda slíkan vísindadag þau ár sem ráðstefnur um rannsóknir í læknadeild eru ekki, en þær ráðstefnur eru haldnar annað hvert ár. Deildir og stofnanir Háskóla Íslands kynna rannsóknir sínar í stöðugt ríkara mæli með svipuðu formi, má t.d. nefna Raunvísindaping sem haldið var fyrr í mánuðinum.

Nú er komið að því að halda Vísindadag á Keldum í annað sinn. Markmiðið er fyrst og fremst að kynna þær rannsóknir og fræðastörf sem fara fram á Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum og hjá samstarfsaðilum. Viðfangsefnin á vísindadeginum endurspeglar þau fjölbreyttu fræðasvið og þann efnivið sem unnið er með. Vísindadagurinn er sameiginlegur vettvangur fyrir starfsfólk á Keldum, þ.m.t. rannsóknánámsnema. Auk þess er leitast við að kynna íslensku vísindasamfélagi stöðu rannsókna á Keldum og allir áhugasamir fá tækifæri til að fræðast um nýjungar á fræðasviðum Tilraunastöðvarinnar.

Rannsóknir eru kynntar með tuttugu fyrirlestrum og á tuttugu veggspjöldum. Þar af eru þrjár yfirlitsfyrirlestrar; Ástríður Pálsdóttir fjallar um riðu, Sigríður Björnsdóttir um mein í beinum landnámshesta og Ólafur S. Andrésen um nýjungar í sameindalíffræði. Sókn rannsóknánámsnemenda í verkefni á Tilraunastöðinni hefur farið vaxandi og eru ellefu þeirra kynnt á vísindadeginum.

Ég vil þakka Helga S. Helgasyni, Karli Skírnisyni, Sigríði Guðmundsdóttur og Stefaníu Þorgeirsdóttur fyrir þá undirbúnings- og skipulagsvinnu sem gerir ráðstefnuna mögulega. Ég er þakklátur Þorgerði Katrínu Gunnarsdóttur menntamálaráðherra fyrir stuðning við vísindadaginn. Fyrirtæki sem styðja ráðstefnuna fjárhagslega eiga einnig þakkir skildar. Sömuleiðis vil ég þakka þeim sem kynna verkefni í formi fyrirlestra og veggspjalda, fundarstjórum, þeim sem sjá um matar- og kaffiveitingar og öðrum sem að undirbúningi komu, fyrir þeirra framlag.

Ég vona að þátttakendur hafi gagn og gaman af vísindadeginum. Vísindastarfsemin verður kynnt með svipuðu sniði í framtíðinni og stefnt skal að því að gera það með reglulegu millibili eða á tveggja ára fresti.

Sigurður Ingvarsson, forstöðumaður

Eftirtaldir aðilar fá þakkir fyrir veittan stuðning við ráðstefnuna:

Menntamálaráðuneytið

Gróco hf.

Íslandsbanki

Austurbakki

Samskipti ehf.

Prentmet

Penninn

		Dagskrá	
Tími		Fyrirlesari	Titill erindis
8:00		Húsið opnað	
8:30-8:45		Þorgerður K. Gunnarsdóttir, menntamálaráðherra	Ráðstefna sett
8:45-9:15	Y-1	Ástríður Pálsdóttir	Riða, prion sjúkdómar og smitandi prótein
9:15-9:30	E-1	Snorri Páll Davíðsson	Mýlildi
9:30-9:45	E-2	Guðmundur Georgsson	Leit að heilbrigðum smitberum í tveimur riðuhjörðum
9:45-10:00	E-3	Birkir Þór Bragason	Athugun á áhrifum R151C arfgerðar á meðhöndlun PrP ^C _{ARO} -EGFP klóns í frumum
10:00-10:30		Kaffi og veggspjaldasýning I	Veggspjöld nr. 1, 2, 3, 4 og 5
10:30-11:00	Y-2	Sigríður Björnsdóttir	Minjar um uppruna íslenska hestsins - Mein í beinum landnámshesta
11:00-11:15	E-4	Vilhjálmur Svansson	Hitasótt í hrossum
11:15-11:30	E-5	Matthías Eydal	Lyf gegn hrossalús
11:30-11:45	E-6	Guðbjörg Ólafsdóttir	Þróun á tjáningarferjum fyrir DNA bólusetningu hesta
11:45-12:00	E-7	Hallgrímur Arnarson	Mat á aðferðum við DNA-bólusetningu gegn lentiveirusýkingu í kindum
12:00-13:00		Matur og veggspjaldasýning II	Veggspjöld nr. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 og 13
13:00-13:30	Y-3	Ólafur Andrésson	Keldur og nýju aðferðir sameindalíffræðinnar
13:30-13:45	E-8	Stefán Ragnar Jónsson	Hlutverk Vif í sýkingarferli mæði-visuveiru
13:45-14:00	E-9	Sigríður Rut Franzdóttir	Stökkbreytingreining Vif próteins mæði-visuveiru
14:00-14:15	E-10	Hulda S. Hreggviðsdóttir	Taugasækni mæði-visuveirunnar
14:15-14:30	E-11	Guðmundur Pétursson	Slímhúðarbólusetning með veikluðum visuveirustofni
14:30-15:00		Kaffi og veggspjaldasýning III	Veggspjöld nr. 14, 15, 16, 17, 18, 19 og 20
15:00-15:15	E-12	Karl Skírnisson	Nýjar rannsóknir á fuglablódögðum og sundmannakláða á Íslandi
15:15-15:30	E-13	Sigurbjörg Þorsteinsdóttir	Sumarexem í fólki
15:30-15:45	E-14	Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir	Tilraunir til að bólusetja þorsk gegn bakteríusjúkdómum
15:45-16:00	E-15	Sigríður Guðmundsdóttir	Áhrif bætibaktería og ónæmisörva á afkomu þorsklirfa
16:00-16:15	E-16	Vala Friðriksdóttir	<i>Campylobacter</i> í kjúklingum – getur hænan smitað eggid/ungann?
16:15-16:30	E-17	Jarle Reiersen	<i>Campylobacter</i> -faraldur í mönnum á Íslandi 1998-2000 og varanleg áhrif aðgerða
16:30-16:35		Sigurður Ingvarsson	Ráðstefnu slitið
16:35-17:30			Léttar veitingar

**Erindi (Y, E) og veggspjöld (V) kynnt á Vísindadegi á Keldum
30. apríl, 2004**

Y-1

Riða, príon sjúkdómar og smitandi prótein

Ástríður Pálsdóttir

Y-2

Mínjar um uppruna íslenska hestsins - Mein í beinum landnámshesta

Sigríður Björnsdóttir

Y-3

Keldur og nýju aðferðir sameindalíffræðinnar

Ólafur S. Andrésson

E-1

Mýlildi

Snorri Páll Davíðsson

E-2

Leit að heilbrigðum smitberum í tveimur riðuhjörðum

Guðmundur Georgsson, Stefanía Þorgeirsdóttir, Ástríður Pálsdóttir og Jóna Aðalheiður Aðólfsson

E-3

Athugun á áhrifum R151C arfgerðar á meðhöndlun PrP^C_{ARQ}-EGFP klóns í frumum

Birkir Þór Bragason og Ástríður Pálsdóttir

E-4

Hitasótt í hrossum

Vilhjálmur Svansson, Eggert Gunnarsson, Einar G. Torfason, Einar Jörundsson, Guðmundur Georgsson, Guðmundur Pétursson, Sigríður Björnsdóttir, Sigríður Matthíasdóttir, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir og Steinunn Árnadóttir

E-5

Lyf gegn hrossalús

Matthías Eydal, Kim Søholt Larsen, Norbert Mencke og Helgi Sigurðsson

E-6

Þróun á tjáningarferjum fyrir DNA bólusetningu hesta

Guðbjörg Ólafsdóttir, Vilhjálmur Svansson og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir

E-7

Mat á aðferðum við DNA-bólusetningu gegn lentiveirusýkingu í kindum

Hallgrímur Arnarson, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir og Valgerður Andréadóttir

E-8

Hlutverk Vif í sýkingarferli mæði-visnuveiruStefán Ragnar Jónsson, Sigríður Matthíasdóttir, Ólafur S. Andrésson og Valgerður Andrésdóttir

E-9

Stökkbreytigreining Vif próteins mæði-visnuveiruSigríður Rut Franzdóttir, Sigríður Matthíasdóttir, Ólafur S. Andrésson og Valgerður Andrésdóttir

E-10

Taugasækni mæði-visnuveirunnarHulda Sigríður Hreggviðsdóttir, Þórður Óskarsson, Guðrún Agnarsdóttir, Sigríður Matthíasdóttir, Ólafur S. Andrésson, Sigurður Ingvarsson og Valgerður Andrésdóttir

E-11

Slímhúðarbólusetning með veikluðum visnuveirustofniGuðmundur Pétursson, Sigríður Matthíasdóttir, Vilhjálmur Svansson, Valgerður Andrésdóttir, Guðmundur Georgsson, Agnes H. Martin, Guðrún Agnarsdóttir, Eygló Gísladóttir, Steinunn Árnadóttir, Svava Högnadóttir, Ólafur S. Andrésson og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir

E-12

Nýjar rannsóknir á fuglablökkum og sundmannakláða á Íslandi

Karl Skírnisson

E-13

Sumarexem í fólkiSigurbjörg Þorsteinsdóttir, Agnes Helga Martin, Sigurveig Þ. Sigurðardóttir og Eliane Marti

E-14

Tilraunir til að bólusetja þorsk gegn bakteríusjúkdómumBjarnheiður K. Guðmundsdóttir, Bryndís Björnsdóttir, Bergljót Magnadóttir og Sigríður Guðmundsdóttir

E-15

Áhrif bætibaktería og ónæmisörva á afkomu þorsklirfaSigríður Guðmundsdóttir, Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir, Bryndís Björnsdóttir og Bergljót Magnadóttir

E-16

***Campylobacter* í kjúklingum – getur hænán smitað eggjð/ungann?**Vala Friðriksdóttir, Eggert Gunnarsson, Guðbjörg Jónsdóttir, Katrín Ástráðsdóttir, Kolbrún Birgisdóttir, Signý Bjarnadóttir, Sigríður Hjartardóttir og Jarle Reiersen

E-17

***Campylobacter*-faraldur í mönnum á Íslandi 1998-2000 og varanleg áhrif aðgerða**Jarle Reiersen, Haraldur Briem, Hjördís Harðardóttir, Eggert Gunnarsson, Franklín Georgsson, Karl G. Kristinsson

V-1

Æxlisbæligen og úrfellingar á litningi 3 í krabbameinum nagdýra og manna
Þórgunnur Eyfjörð Pétursdóttir, Unnur Þorsteinsdóttir, Jón Gunnlaugur Jónasson, Páll Helgi Möller, Chen Huiping, Jóhannes Björnsson, Valgarður Egilsson, Stefan Imreh og Sigurður Ingvarsson

V-2

Tengsl PrP^C og prótíns sem tekur þátt í stýrðum frumudauða í taugafrumum (NRAGE)
Birkir Þór Bragason og Ástríður Pálsdóttir

V-3

Hestahvítfrumur örvaðar *in vitro* með peptíðum og CpG röðum á tjáningarferju
Guðbjörg Ólafsdóttir, Vilhjálmur Svansson og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir

V-4

Klónun og tjáning á mögulegum ofnæmisgenum úr *Culicoides* mýflugum
Vilhjálmur Svansson, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹, Guðbjörg Óladóttir, Lisa Harward og Eliane Marti

V-5

Rannsókn á breytileika í tákna 129 í príongeni í heilbrigðum Íslendingum
Stefanía Þorgeirsdóttir, Þórður Tryggvason, Sveinn Guðmundsson og Guðmundur Georgsson

V-6

Einangrun og rannsóknir á þroskunar sögu komplementþáttarins C3 hjá þorski (*Gadus morhua* L.) og lúðu (*Hippoglossus hippoglossus* L.)
 Sigrún Lange, Alister W. Dodds, Slavko Bambir og Bergljót Magnadóttir

V-7

Er Apolipoprotein A-I stjórnp prótín í komplementkerfi þorsks (*Gadus morhua* L.)?
Bergljót Magnadóttir og Sigrún Lange

V-8

Faraldsfræðilegar rannsóknir á sýkingum í mönnum og skepnum af völdum *Salmonella enterica* serovar Typhimurium
Eggert Gunnarsson, Sigrún Guðmundsdóttir, Hjördís Harðardóttir, Signý Bjarnadóttir, Guðbjörg Jónsdóttir og Kolbrún Birgisdóttir

V-9

Samanburður á tveimur ræktunaraðferðum til einangrunar á *Campylobacter* úr alifuglum
Sigríður Hjartardóttir, Eggert Gunnarsson, Vala Friðriksdóttir, Kolbrún Birgisdóttir, Signý Bjarnadóttir, Guðbjörg Jónsdóttir, Norman J. Stern og Jarle Reiersen

V-10

Genamengi mismunandi tegunda og stofna af ættkvíslinni *Aeromonas* hafa basaraðir aspzincin metalloendopeptidasans AsaP1, sem er úteitur *A. salmonicida* ssp. *achromogenes*, en framleiða ekki ensímið vegna fasaskiptabreytinga
Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir, Íris Hvanndal, Helga Árnadóttir og Valgerður Andrésdóttir

V-11

Þættir í sermi sem hindra mæði-visnuveiruna

Benedikta S. Hafliðadóttir, Sigríður Matthíasdóttir, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir, Ólafur S. Andrésón, Guðrún Agnarsdóttir, Bjarni Ásgeirsson og Valgerður Andrésdóttir

V-12

Sjúkdómseinkenni í sandhverfu (*Scophthalmus maximus*) sýktri með kýlaveikibróður og vetrarsárum

Bryndís Björnsdóttir, Slavko H. Bambir, Sigríður Guðmundsdóttir og Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir

V-13

Bólusetning sandhverfu (*Scophthalmus maximus*) gegn kýlaveikibróður og vetrarsárum

Bryndís Björnsdóttir, Sigríður Guðmundsdóttir, Bergljót Magnadóttir og Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir

V-14

Rannsókn á sníkjudýrum urriða (*Salmo trutta*) og bleikju (*Salvelinus alpinus*) í Elliðavatni og Hafravatni

Árni Kristmundsson og Sigurður H. Richter

V-15

Sýkingar af völdum einfrumu sníkjudýra í ásetningsgimbrum með áherslu á tegundasamsetningu og árstíðasveiflu hnísla í hjörðinni

Karl Skírnisson, Berglind Guðmundsdóttir og Hákon Hansson

V-16

Iðrahníslar í hreindýrskálfum – Lýsing áður óþekkrar tegundar og endurlýsing á *Eimeria mayeri*

Berglind Guðmundsdóttir og Karl Skírnisson

V-17

Ormategundir í skötusel (*Lophius piscatorius*) við Ísland

Matthías Eydal og Droplaug Ólafsdóttir

V-18

Tegundir *Trichodina* bifdýra í íslensku þorskeldi - Umfang og áhrif á þrif þorskseiða

Árni Kristmundsson, Matthías Eydal, Slavko H. Bambir og Sigurður Helgason

V-19

Sníkjudýr í þorskseiðum í strandeldi

Matthías Eydal, Árni Kristmundsson, Slavko H. Bambir og Sigurður Helgason

V-20

Athugun á heilbrigði hreindýra í Lapplandi og víðar

Sigurður Sigurðarson

Y-1

Riða, príon sjúkdómar og smitandi prótein

Ástríður Pálsdóttir

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Riða í sauðfé er enn vandamál hér á landi og erfitt hefur reynst að útrýma henni og hefta útbreiðslu þrátt fyrir stórfelldan niðurskurð sýktra hjarða og áhættuhjarða. Riða er einn hinna svokölluðu príonsjúkdóma sem stafa af uppsöfnun óeðlilegs príonpróteins og geta verið bæði smitandi, ættlægir vegna stökkbreytinga og stök tilfelli af óþekktum orsökum. Önnur dæmi eru Creutzfeldt-Jacob sjúkdómur (CJD) í fólki og kúariða í nautgripum og vCJD (variant CJD) í fólki sem talinn er stafa af smiti úr kúm vegna neyslu smitaðra nautgripaafurða. Búið er að skilgreina arfgerðir príonpróteins í sauðfé m.t.t. smitnæmis gagnvart riðu erlendis og einnig hér á landi þar sem arfgerðir eru að nokkru leyti frábrugðnar því sem finnst í öðrum löndum. Undanfarin átta ár hefur verið boðið upp á arfgerðagreiningu fyrir sæðingastöðvar og aðra sem stunda ræktun á sauðfé. Engin stefna hefur verið í gangi hér varðandi notkun þessarar þjónustu gagnstætt við lönd Evrópu þar sem stórfelld ræktun er í gangi á grundvelli arfgerða.

Í fyrirlestrinum verður fjallað um eiginleika príonpróteinsins og hins afmyndaða smitandi forms þess. Skýrt verður frá stofnum riðu og einnig nýlegum rannsóknum á sjúkdómsferlinu sem beina athyglinni að uppsöfnun príonpróteins í umfrymi fruma. Erendis hafa nýjar, næmari aðferðir við sjúkdómsgreiningu á krufningssýnum úr einkennalausum fé sýnt fram á að riða hefur verið stórlega vanmetin en einnig hafa komið í ljós nýjir stofnar riðu í sauðfé og nautgripum sem virðast ekki vera smitandi og líkjast helst stökum tilfellum af CJD hjá mannfólki.

Y-2

Minjar um uppruna íslenska hestsins - Mein í beinum landnámshesta

Sigríður Björnsdóttir¹, Einar Jörundsson², Lilja Árnadóttir³

¹Embætti yfirdýralæknis, ²Tilraunastöðinni á Keldum, ³Þjóðminjasafni Íslands

Hestabein sem fundist hafa í kumlum á Íslandi eru varðveitt á Þjóðminjasafni Íslands. Kumlunum er lýst í bókinni Kuml og haugfé eftir Kristján Eldjárn en ekki hefur verið skráð nákvæmlega hvaða bein eru varðveitt úr hverju kumli fyrir sig né þau rannsökuð að nokkru ráði.

Markmið verkefnisins eru: 1. Að skrá öll hestabein sem varðveist hafa úr íslenskum kumlum. 2. Að afla upplýsinga um breytileika í sköpulagi hrossa á landnámsöld og hvort vísbendingar komi fram um að ólík hestakyn hafi verið flutt til landsins. 3. Að skrá beinasjúkdóma. 4. Að kanna hvort hægt sé að finna leifar af erfðaefti hrossanna í beinum. 5. Að undirbúa víðtækara rannsóknarverkefni um uppruna íslenska hestsins í samvinnu við minjasöfn og rannsóknarstofnanir á Norðurlöndum og Bretlandseyjum þar sem borin yrði saman stærð og lögun hestabeina sem varðveist hafa úr heiðnum sið, beinasjúkdómar og DNA greining á sýnum úr beinum.

Nú er lokið skráningu á beinum úr 23 kumlum sem hafa að geyma heillegustu beinagrindurnar sem varðveist hafa þó mikið vanta á að þær hafi varðveist í heild sinni. Í beinum 9 hrossa sjást greinileg merki um sjúkdóma. Sex þeirra hafa verið með spatt sem er slitgigt (degenerative joint disease) í flötu liðum hækilsis. Í fimm þeirra fundust, auk spatts, önnur sjúkdómseinkenni; tveir voru með samgróna spjaldhryggjarliði (degenerative joint disease), einn með samgróna spjaldhryggjarliði og beinnibbur /-brýr við neðanverða brjósthryggjarliði (ossifying spondylosis) og tveir með beinhnút á frammlegg og annað griffilbeinið samvaxið við legginn (splints). Hjá tveimur hestum til viðbótar fundust beinhnútar á frammlegg með áföstu griffilbeini og í einu kumli fundust samvaxnir spjaldhryggjarliðir og brjósthryggjarliðir.

Aldur hestanna, þegar þeir voru felldir, hefur ekki verið ákvarðaður nema í einu tilfelli: annar hestanna með beinhnút á framlegg og áfast griffilbein var 6 vetra. Líklegt má telja að þeir hestar sem bæði voru með spatt og skemmda hryggjarliði hafi verið komnir nokkuð til ára sinna en reynt verður að ákvarða það út frá tönnum þar sem það er hægt.

Vitað er að spatt er algengur sjúkdómur í íslenska hrossastofninum nú á dögum. Sömu sögu má segja um beinhnúta á frammlegg með samvöxnu griffilbeini þó það hafi ekki verið rannsakað eins ítarlega. Það varpar ljósi á eðli þessara sjúkdóma að þeir hafa einnig verið algengir í landnámshestinum þegar notkun hrossanna og ýmsar aðrar umhverfisaðstæður voru mjög frábrugðnar því sem nú gerist.

Þær alvarlegu breytingar á hryggjarliðum sem sjást í þessum gömlu beinum eru mjög óvæntar og vekja spurningar um ástand hryggjarliða í reiðhestum nútímans.

Y-3

Keldur og nýju aðferðir sameindalíffræðinnar

Ólafur S. Andrésson

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Nýjar aðferðir í lífvísindum hafa sett mark sitt á grunnrannsóknir og nytjarannsóknir undanfarna áratugi og þeim er beitt á sífellt fleiri sviðum líf- og læknisfræði. Mestar hafa framfarirnar orðið í aðferðum sem byggjast á einangrun og greiningu á kjarnsýrum, einkum erfðaefninu DNA, en miklar framfarir hafa einnig orðið í próteingreiningu og frumulíffræði.

Framfarir í sameindalíffræði hafa haft mikil áhrif á helstu rannsóknasvið á Keldum og hafa sífellt meiri áhrif á þjónusturannsóknir svo sem greiningu á bakteríum og veirum. Þannig hafa rannsóknir á mæði-visnuveiru undanfarin ár byggt mjög á aðferðum sameindaerfðafræði og hið sama má nú segja um rannsóknir á riðu, á sumarexemi og á ónæmisþáttum og sýklum fiska. Sameindaaðferðir eru einnig sífellt meir notaðar í meina- og vefjafræði, en þar má segja að notkun rafsjárinnar hafi verið eitt fyrsta dæmið um rannsóknir sem nú eru flokkaðar undir sameindalíffræði.

Ljóst er að árangur í rannsóknum á Keldum mun áfram byggja mjög á framförum í sameindalíffræði og því að búa vel að hæfu starfsfólki á þessu sviði, en velta má fyrir sér hverjar áherslurnar munu verða og hvaða aðferðafræði verður mikilvægust.

E-1

Mýlildi

*Snorri Páll Davíðsson
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Mýlildi (e. Amyloid) er samheiti yfir þráðlaga útfellingar prótína í vefjum manna og dýra sem eiga það sameiginlegt að glóa með grænleitum lit ef þau eru skoðuð við skautað ljós eftir litun með Congo rauðum lit. Til mýlildissjúkdóma teljast hátt í þrjátíu sjúkdómar sem finnast bæði sem stakstæð tilfelli og arfgeng. Meðal sjúkdóma í þessum flokki má nefna Alzheimer's, Príon sjúkdóma (þ.m.t. riða) og hið íslenska afbrigði arfgengrar heilablæðingar. Eiginleikum mýlildismyndandi prótína er í mörgum tilfellum vel lýst og það vekur athygli að þó prótín sem í sjúkdómum falla út séu mjög mismunandi að stærð og gerð hafa rannsóknir sýnt að mýlildið sjálft er mjög einsleitt efni bæði að ytri og innri gerð og að sá eiginleiki að geta myndað mýlildi er sameiginlegur öllum peptíðkeðjum. Ekki er að fullu útskýrt hvernig mýlildisþræðir myndast eða hversvegna. Þó er vitað að eðlileg prótín mynda ekki mýlildi nema einhverskonar röskun verði á byggingu þeirra. Sú röskun getur verið orsök af stökkbreytingum eða vegna utanaðkomandi þátta sbr. príon en líka vegna mistaka við umritun eða eftirmeðferð prótína. Svo virðist sem slík prótín geti runnið saman í límkennða frumþræði eða peptíðkorn, nokkurs konar fræ sem mýlildisþræðir vaxa upp af. Eftir að slík fræ eru mynduð geta þræðirnir vaxið hratt sem gæti útskýrt hversvegna sjúklingum í mörgum tilfellum hrakar mjög hratt eftir að fyrstu einkenni koma fram. Ekki hefur heldur verið útskýrt að fullu hvaða áhrif önnur efni sem alltaf finnast í mýlildi, s.s. ApoE og heparan súlfat meðal annarra, hafa en kenningar eru uppi sem gera ráð fyrir að þessar sameindir geti haft áhrif á hraða útfellinga með því að líma mýlildisþræðina saman.

Lengi vel var talið að mýlildisþræðirnir sjálfir væru sökudólgar frumudauða í þessum sjúkdómum en það virðist núorðið vera ljóst að eituráhrif á frumur séu fyrst og fremst vegna frumþráða og smárra peptíðkorna sem geta haft svipuð áhrif á frumur og mörg þekkt bakteríueitur, þ.e. þau geta safnast saman í og við frumuhimnu og geta jafnvel myndað göng í hana sem raska jónajafnvægi frumunnar og drepa hana.

Nýlegar hugmyndir um myndun mýlildis gera ráð fyrir að upphaf mýlildismyndunar megi rekja til þess að prótín myndi svokallaðar víxltvenndir þar sem prótín sameindir skiptast á samsvarandi hneppum og myndi tvenndir sem losna treglega í sundur vegna þess hve hár orkuþröskuldur þeirra er. Cystatín C var fyrsta mýlildisprótínið sem sýnt var fram á að myndar slíkar tvenndir en áður var vitað að stökkbreytt cystatín C hefur meiri tilhneigingu til fjölliðunar en villigerðin og því vakti þessi uppgötvun áhuga manna. Síðan þá hafa verið birtar niðurstöður sem virðast styrkja þetta módel fyrir upphaf mýlildismyndunar en enn hefur þó ekki verið sýnt fram á að þetta gerist í frumum og ekki er enn útilokað að víxltvenndamyndun sé afleiðing þess að við kristallarækt eru prótín í háum styrk við afmyndandi aðstæður.

E-2

Leit að heilbrigðum smitberum í tveimur riðuhjörðum

*Guðmundur Georgsson, Stefanía Þorgeirsdóttir, Ástríður Pálsdóttir og
Jóna Aðalheiður Aðólfssdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Eitt af meginéinkennum riðu í sauðfé er langur meðgöngutími. Það er því mikilvægt vegna smitdreifingar að kanna hvenær og hvar smit kemur fram í einkennalausum fé. Rannsóknir á arfgerðum þríongensins í íslensku sauðfé leiddu í ljós að ein arfgerðanna virtist tengd mótstöðu gegn riðu. Þar með opnaðist möguleiki á að útrýma riðu með því að rækta upp riðupolið fé. En þá skipti miklu að leita svara við þeirri spurningu, hvort þolna féð kynni að vera heilbrigðir smitberar. Við leitum því að smiti í heilum úr einkennalausum fé úr riðuhjörð og bárum saman við arfgerðir og fundum smit í 41,7%. Enginn þessara heilbrigðu smitbera var með verndandi arfgerð. Nýlegar rannsóknir hafa sýnt að smit kemur fram í eitilvef áður en það finnst í heila. Við fylgdu því fyrri athugunum okkar eftir með því að leita að smiti bæði í eitilvef og heila í einkennalausum fé í riðuhjörðum.

Sýni voru tekin úr öllu fé úr tveimur riðuhjörðum. Í hjörð (A), var ein af 68 fjár með klínísk einkenni riðu. Í hjörð (B), voru tvær af 50 fjár með klínísk einkenni riðu. Sýni voru tekin úr mænukylfu, hálskirtli, hálseitli, hengiseitli, milta og dausgörn. Sýnin voru hert í 4% formaldehýði í fosfatdúa, steipt inni Tissue Tek og sneiðar litaðar með HE til að meta vefjaskemmdir. Til að greina smit voru vefjasneiðarnar litaðar með einstofna mót efni gegn smitefninu (PrP^{Sc}). Litunin var síðan framkölluð með því að nota APAAP-flóka og “fast red” sem hvarfefni (DAKO) og mótlistað með HE. Blóðsýni voru tekin í EDTA til arfgerðagreiningar, en meginþættir hennar voru: DNA var einangrað með Puregene setti og þríongenið fjölfaldað með PCR. Breytileiki í táknum 136 og 154 var greindur með því melta magnað DNA með skerðiensíminu BspHI. Breytileiki í tákna 151 var greindur á svipaðan hátt með skerðiensíminu AvaII.

Hjörð A: Í 48 af einkennalausum fé var efniviður fullnægjandi til rannsókna. Helstu niðurstöður voru að ekki fannst smit í mænukylfu. Hins vegar greindist smit í eitilvef í 28 kindum, 58,3%. Það fannst oftast í hálseitlum eða 23, næst kom dausgörn 10 og að lokum hengiseitlar 3. Arfgerðagreining á táknum, 136, 151 og 154 var gerð í 68 kindum og reyndist arfgerðin A/A, R/R, R/R yfirgnæfandi eða í 64, 2 voru með arfgerðina V/A, R/R, R/R og 2 með A/A, C/R, R/R. Hjörð B): Smit fannst ekki í mænukylfu í 48 einkennalausum kindum en hins vegar í 17 sýnum úr eitilvef, þ.e. 35,4%. Það var algengast í dausgörn 12, hálskirtlar voru jákvæðir í 8 og hengiseitill í einni. Gerð var greining á táknum 136 og 154 og reyndist féð með einni undantekningu vera með arfgerðina A/A, R/R. Eina frávikid var með arfgerðina V/A, R/R.

Smit kemur augljóslega fram snemma á meðgöngutíma og kemur fyrst fram í eitilvef. Það er athyglisvert að í þessum hjörðum fannst aldrei smit í mænukylfu utan þess fjár sem var með klínísk einkenni. Þetta er mjög frábugðið því sem við fundum við fyrri rannsókn á heila í riðuhjörð þar sem 41,7% reyndust með smit í mænukylfu. Skýringin á því kann að vera að í þeirri hjörð hafði riða verið í hjörðinni í nokkur ár og tíðni áhættuarfgerðar var mun hærri en í þeim hjörðum sem voru rannsakaðar nú, þar sem hlutlaus arfgerð var ríkjandi.

E-3

Athugun á áhrifum R151C arfgerðar á meðhöndlun PrP^C_{ARQ}-EGFP klóns í frumum

*Birkir Þór Bragason og Ástríður Pálsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Tvær sjaldgæfar arfgerðir, S138N og R151C, finnast í íslensku fé. Tíðni S138N er svipuð í viðmiðunarfé og riðufé, sem bendir til þess að arfgerðin sé hlutlaus. Sautján einstaklingar með R151C (16 arfblendnir og einn arfhreinn) greindust í hjörð þar sem riða hafði sennilega verið til staðar í nokkur ár áður en hún var tilkynnt. Einungis greindist riðusmit í einum R151C arfbera, með arfgerðina ARQ^{R151C}/VRQ. Samkvæmt þessu gæti R151C verið verndandi arfgerð. Tilgangur þessa verkefnis er að meta áhrif S138N og R151C á meðhöndlun PrP^C, með áherslu á að athuga hvort R151C myndi óeðlilegar dísúlfiðbrýr.

Þrír PrP^C_{Kind}-EGFP klónar voru búnir til með arfgerðirnar ARQ, ARQ^{S138N} og ARQ^{R151C}. Athugun á meðhöndlun klónanna fór fram í ummynduðum (transfected) neuroblastoma frumum úr mús (N2a). Beitt var margvíslegri aðferðafræði, m.a. ónæmisþrykki, ónæmisfellingum, bíótín-merkingu á yfirborðsprótínunum og ónæmislitunum.

Klónarnir voru fluttir inn í seytikerfið samkvæmt ónæmislitun með Golgin97 mótefni, auk þess voru þeir sykraðir. Sýnt var að klónarnir komast út á yfirborð frumunnar með bíótín-merkingu með sulfo-NHS-bíótíni sem merkir einungis yfirborðsprótín. Roflausn úr ummynduðum N2a frumum var hirt í dúa sem rýfur ekki dísúlfiðbrýr og lausnin var athuguð með ónæmisþrykki með PrP^C mótefni. Á því sjást, auk PrP^C-EGFP bandsins, sambærileg stór bönd í ARQ og ARQ^{S138N} sýnunum sem gætu verið prótín-tvenndir. Þessi bönd hverfa ef afoxandi efni (β-mercaptoetanól) er bætt í sýnin. Í ARQ^{R151C} sýninu er einnig slíkt band, en það er um 18 kDa stærra en í hinum sýnunum. Þessi “tvenndar”-bönd eru bíótín-merkt með sulfo-NHS-bíótíni og virðast því vera flutt út á frumuhimnuna. Hlutfallslega meira af ARQ^{R151C} prótín-tvennd er á yfirborði ummyndaðra N2a fruma en sést fyrir ARQ og ARQ^{S138N} klónana. Ónæmisfellingar með PrP^C mótefnum úr roflausn ummyndaðra N2a fruma sýndi að minna ARQ^{R151C} ónæmisföll heldur en ARQ og ARQ^{S138N}, jafnvel þótt sambærilegt magn PrP^C-EGFP prótíns væri til staðar. Þetta gæti stafað af mun í þrívíddarbyggingu.

Niðurstöðurnar sýna að meðhöndlun ARQ og ARQ^{S138N} er svipuð, m.ö.o. S138N hefur ekki mikil áhrif á meðhöndlun PrP^C og er það í samræmi við tilgátuna um að sú arfgerð sé hlutlaus. R151C virðist hafa áhrif á meðhöndlun PrP^C. Í fyrsta lagi rafdrengt prótín-tvennd ARQ^{R151C} hægur en hinna klónanna og í öðru lagi ónæmisföllur minna af því. Hvort tveggja bendir til þess að a.m.k. hluti ARQ^{R151C} proteina hafi aðra þrívíddarbyggingu, mjög líklega vegna munar í dísúlfið-tengingum. Auk þess er hlutfallslega meira af prótín-tvennd ARQ^{R151C} á yfirborði ummyndaðra fruma en ARQ og ARQ^{S138N}. Breytt þrívíddarbygging gæti legið til grundvallar auknu þoli gegn riðusmiti.

E-4

Hitasótt í hrossum

*Vilhjálmur Svansson¹, Eggert Gunnarsson¹, Einar G. Torfason², Einar Jörundsson¹,
Guðmundur Georgsson¹, Guðmundur Pétursson¹, Sigríður Björnsdóttir³, Sigríður
Matthíasdóttir¹, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹ og Steinunn Árnadóttir¹*

*¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²Rannsóknastofu í veirufræði,
Landspítala – háskólasjúkrahúsi, ³Embætti Yfirdýralæknis*

Árið 1998 og fram í febrúar 1999 gekk nýr smitsjúkdómur í hrossum á Íslandi sem kallaður var smitandi hitasótt eftir höfuðeinkenni sóttarinnar þ.e. hita. Margt benti til að hér væri um veirusjúkdóm að ræða. Þegar verkefnið hófst höfðu umfangsmiklar rannsóknir hérlendis og erlendis á hitasóttinni ekki leitt í ljós hvaða smitefni var orsök faraldursins en líklega væri um að ræða veiru sem ekki hefði greinst áður í hrossum. Með því að beita grunnaðferðum í veirufræði er markmið verkefnisins að gera tilraun til að einangra og skilgreina hitasóttarveiruna.

Skoðuð hafa verið í rafeindasmásjá öll tiltæk saursýni úr hitasóttarhrossum alls 22. Í þessum sýnum greindust þrjár gerðir af ögnum sem líktust að útliti eftirtöldum veirum; coronaveirum í 5 sýnum, caliciveirum í 3 sýnum og picornaveirum í 6 sýnum. Caliciveirum hefur ekki verið lýst áður í hrossum. Picornaveirur sem sýkja meltingarveg í hrossum eru engar þekktar. Veirurækt var reynd í fjölda frumulína með völdum saurprufum en án árangurs. Best gekk að sýkja æðapelsfrumur en sýkingin fjaraði hratt út í frumunum. Hægt var að sýna fram á með flúorljómandi mótefnalitun á sýktum frumum með sermi frá hitasóttarhrossum að veirufjölgunin færi að mestu fram í umfrymi. Fjögur folöld voru smituð með hitasóttarsaur og tókst að framkalla hitasóttareinkenni í einu þeirra. Við krufningu kom í ljós bjúgur og roði í skeifugörn. Rannsóknir okkar og annarra benda sterklega til þess að orsök hitasóttarinnar sé veira sem líklega tilheyrir picornaveirufjölskyldunni og að æðapelsfrumur í mjógirni og fremri hluta víðgirniss séu aðal markfrumur veirunnar. Mikil vinna er þó eftir við að flokka og skilgreina veiruna nánar.

Í tengslum við einangrunartilraunir á hitasóttarveirunni ræktuðust 2 gerðir af gammaherpesveirum sem ekki var vitað að væru í íslenska hrossastofninum.

Lyf gegn hrossalús

Matthías Eydal¹, Kim Søholt Larsen², Norbert Mencke³ og Helgi Sigurðsson⁴

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²KSL Consulting, Helsinge, Danmörku, ³Bayer AG, Health Care, BG-Animal Health, Leverkusen, Þýskalandi, ⁴Dýraspítalinn Víðidal, Reykjavík

Tvær tegundir lúsa finnast á hrossum á heimsvísu, naglús (*Werneckiella (Damalina) equi*) og soglús (*Haematopinus asini*). Hér á landi finnst trúlega einungis naglús. Þrátt fyrir að lúsasýkingar séu algengt vandamál á hrossum um allan heim eru mjög fáar heimildir til um athuganir á virkni lyfja gegn hrossalúsum.

Þetta verkefni beinist einkum að því að kanna virkni skordýralyfsins imidacloprid gegn lús. Imidacloprid (Advantage[®] Vet. spot-on) er af nýjum flokki lyfja (chloronicotinyl eða neonicotinoides) og rannsóknir hafa sýnt að lyfið, sem er mjög einfalt í notkun, virkar vel gegn lúsum á hundum en ekki hefur áður verið gerð athugun á virkni þess gegn lúsum á hrossum. Lyfið er skráð til notkunar gegn flóm á hundum og köttum erlendis. Lyfið hefur ekki enn verið skráð hér á landi.

Árið 2002 var gerð forkönnun og metin áhrif tveggja skordýralyfja, Advantage[®] spot-on (virka efnið er imidacloprid í 10% lausn) og Sebacil[®] Vet í 0.05% lausn (10 ml Sebacil[®] Vet 50% í 10 l vatns, virka efnið er phoxim), á lúsasýkingar á hrossum. Vitað var að Sebacil hefði verkun gegn hrossalúsum, þó ekki lögju fyrir sérstakar virkniprófanir.

Tilraunin hófst í byrjun mars og lauk í byrjun apríl 2002. Skoðuð voru 92 hross í 11 hesthúsum á Reykjavíkursvæðinu og var naglús staðfest á 25 hrossum í 8 húsum. Sum hrossanna voru mjög lúsug og flest hross sýndu dæmigerð einkenni lúsasýkingar (kláði, hárlausir blettir). Alls voru 27 hross (lús staðfest á 11 þeirra) í 3 hesthúsum meðhöndluð einu sinni með Advantage[®] (2x4 ml undir fax og 2x4 ml á lendar) og 43 hross (lús staðfest á 14 þeirra) í fimm hesthúsum með Sebacil[®] með tveggja vikna millibili (50 ml 0,05% lausn undir fax og aðrir 50 ml á lendar). Öll hross saman í húsi voru meðhöndluð og fengu sömu lyfjameðferð. Árangur var metin að einni viku og fjórum vikum liðnum frá fyrstu meðhöndlun.

Viku eftir lyfjameðferð fundust ýmist engar lýs lengur á hrossunum í báðum meðferðarhópum eða þær lýs sem fundust voru flestar dauðar. Að fjórum vikum liðnum fundust engar lifandi lýs á hrossunum í Advantage[®] meðferðarhópnum. Í Sebacil[®] Vet hópnum fundust engar lifandi lýs að undaskildum tveim lúsum með lífsmarki, hvor á sínu hrossi, en báðar mjög veiklaðar.

Ný og ítarlegri rannsókn á lúsasýkingum og á virkni imidacloprid hófst 2004.

E-6

Þróun á tjáningarferjum fyrir DNA bólusetningu hesta

*Guðbjörg Ólafsdóttir, Vilhjálmur Svansson og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Sumarexem er ofnæmi í hrossum gegn prótínum sem berast við bit mýflugna af ættkvíslinni *Culicoides* (biting midges). Exemið er vandamál hjá íslenskum hestum á erlendri grund en *Culicoides* tegundir lifa ekki á Íslandi. Ofnæmið er af gerð I (type I hypersensitivity) sem er ónæmissvar með IgE framleiðslu á svokallaðri Th2 braut. Sýnt hefur verið fram á að DNA bóluefni þar sem sprautað er með geni á tjáningarferju, í stað prótína, örva ónæmissvör á Th1 braut. Ónæmisglæðirinn í DNA bóluefnum eru ómetyleruð CpG kirni á tjáningarferjunum. Markmið verkefnisins er að þróa DNA bóluefni sem beinir ónæmissvari gegn flugupróttinum á Th1 braut. Fyrir þetta þarf að þróa tjáningaferjur sem virka í hrossum.

Hestar voru genabólusettir með human serum albumin (HSA) geninu á tjáningarferjum, A (pcDNA3.1-GS/HSA), og B (pcDNA3.1V5His6/HSA), tveir hestar með hvorri ferju. Sprautað var ítrekað undir húð og í vöðva með nokkurra vikna millibili. Fjórir samanburðarhestar voru bólusettir undir húð með HSA prótíni í alum ónæmisglæði. Gerðar voru mælingar á mótefnum, IgG, IgG undirflokkum og IgE, í elísuprófi, og á boðefnum, IL-4 og γ -IFN með rauntíma PCR, β -actin notað sem viðmið. Ferja C (pcDNA3.1-IA/HSA) var búin til með því að líma efliröð inn í ferju B. Tjáning ferja *in vitro* var athuguð með lipofectamín genaleiðslu og ónæmisþrykki.

Í kjölfar genabólusetningar með ferjum A og B var ónæmissvörun borin saman við hesta sem bólusettir voru með HSA prótíni og alum ónæmisglæði og höfðu þróað HSA ofnæmi. Bólusetning með ferjunum gaf mjög veika eða enga ónæmissvörun þrátt fyrir ítrekaðar bólusetningar. Þessi veika svörun reyndist heldur ekki nægilega Th1 miðuð þannig að við ögrun eða eflingu með prótínbólusetningu mynduðu hestarnir ofnæmi. Ljóst er að ferjur A og B örva ekki nægilega kröftugt ónæmissvar. Því var búin til ferja C með því að setja efliröð (Intron A) inn á ferju B aftan við stýrilinn. En slíkar efliraðir hafa sýnt sig vera mjög áriðandi til að fá góða tjáningu. Tjáning á ferjunum þremur var síðan borin saman í COS-7 apafurum og í 3 tegundum hestafrumna.

Ferja C með efliröðinni var tjáð svipað og B í COS-7 en verr tjáð í hestafrumum úr húð, lungum og þörmum, þannig að efliröðin virkar ekki. Verið er að raðgreina ferju C til að athuga hvort innsetning efliraðarinnar sé rétt og einnig verður athugað hvort hægt sé að kaupa heppilegar bólusetningaferjur til að prófa í hestum.

Verkefnið er styrkt af Framleiðnisjóði Landbúnaðarins, Rannsóknasjóði Háskóla Íslands og Rannís.

E-7

Mat á aðferðum við DNA-bólusetningu gegn lentiveirusýkingu í kindum

*Hallgrímur Arnarson, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir og Valgerður Andrésdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

DNA-bólusetningar hafa mikið verið til rannsóknar síðustu ár. DNA-bóluefni geta verið ódýr og einföld í framleiðslu samanborið við hefðbundin eldri bóluefni auk þess sem ending þeirra getur verið mikil. Þar að auki er bólusetning með DNA-bóluefnum talin hentug til að framkalla frumubundið ónæmissvar sem er eftirsóknarvert til að verjast ýmsum veirusýkingum og hefur verið litið mjög til lentiveirusýkinga eins og HIV og MVV í þessu sambandi. Vonir hafa verið bundnar við að DNA-bólusetningar geti nýst mönnum í baráttunni við sjúkdóma samhliða hefðbundnum bólusetningaraðferðum eða komið í staðinn fyrir þær að einhverju leyti í framtíðinni.

Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum er í samstarfi við 8 evrópskar stofnanir frá Skotlandi, Englandi, Spáni, Ítalíu og Frakklandi um verkefni sem heitir "Evaluation of Lentivirus Vaccination Strategies in Sheep (MVAC)" og er styrkt af 5. rammaáætlun Evrópusambandsins. Í þessu verkefni er áætlað að bera saman nokkrar aðferðir við DNA-bólusetningu gegn MVV-sýkingu í kindum.

Aðferðirnar felast m.a. í því að nota mismunandi gen MVV við bólusetningar sem og að athuga áhrif ónæmisörvandi þátta eins og IFN- γ á svar við bólusetningu. Einnig verða bornar saman aðferðir þar sem bóluefni verður komið á áfangastað í vefjum tilraunadýra með genabyssu annars vegar en hins vegar með notkun ákveðins stofns salmonellu bakteríu sem flutningsferju fyrir bóluefni.

Hlutverk Tilraunastöðvarinnar í þessu verkefni er að tjá og framleiða yfirborðsprótein veirunnar sem skráð er af env-geni sem og að framkvæma ýmis próf á ónæmisviðbrögðum tilraunadýra. Tjáning yfirborðspróteinanna er tæknilega nokkuð flókin þar sem þau eru mjög óstöðug auk þess að vera mest sykrðu prótein sem þekkt eru í lífheiminum.

Vonir eru bundnar við að niðurstöður þessa verkefnis geti gefið svör sem nýst gætu við frekari rannsóknir á eðli lentiveira og þeim þáttum í ónæmiskerfi spendýra sem mikilvægir eru til varnar sýkinga af þeirra völdum.

E-8

Hlutverk Vif í sýkingarferli mæði-visnuveiru

*Stefán Ragnar Jónsson, Sigríður Matthíasdóttir, Ólafur S. Andrésson og
Valgerður Andrésdóttir*

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Lentiveirur eru flokkur retróveira sem valda langvinnum sjúkdómum í spendýrum. Meðal lentiveira eru alnæmisveiran (HIV) í mönnum og mæði visnuveiran í kindum. Megin markfrumur mæði-visnuveiru í náttúrulegri sýkingu eru hnattkjarna átfrumur. Til eru tveir klónar af mæði-visnuveiru og eru þeir mjög ólíkir hvað varðar sýkingarhæfni bæði *in vitro* og *in vivo*. 1772 vex vel í hnattkjarna átfrumum, æðaflækjufrumum úr heila (SCP) og fósturliðþelsfrumum (FOS) og er meinvirkur í kindum. KS1 vex hins vegar illa í hnattkjarna átfrumum og fósturliðþelsfrumum og er ekki meinvirkur í kindum. Sýnt hefur verið fram á með erfðafræðilegum tilraunum að þessi munur milli klónanna orsakast af tveimur stökkbreytingum, annarri í CA hluta Gag og hinni í Vif. Markmið þessara rannsókna hefur verið að kanna frekar eðli samspils þessara stökkbreytinga og að kanna hvar í sýkingarferlinu hindrun vaxtar stökkbreyttu veirunnar á sér stað.

SCP og FOS frumur voru sýktar með fjórum mismunandi veirustofnum: 1772, CA-Vif sem inniheldur þær tvær stökkbreytingar sem valda þeim svipgerðarmun sem er á milli 1772 og KS1, aðra í CA og hina í Vif, 1277G sem inniheldur einungis stökkbreytinguna í CA og ConVif sem inniheldur einungis stökkbreytinguna í Vif. DNA var einangrað á ákveðnum tímupunktum eftir sýkingu (0, 2, 6, 12, 24 og 36 klst. p.i.) og magn veiru DNA magnmælt með rauntíma PCR tækni (real time PCR). Notuð voru tvö sett af vísam, annars vegar fyrir strong-stop cDNA (fyrsta afurð víxlritunnar) og hins vegar fyrir Gag (seinni stig víxlritunnar).

Niðurstöður rannsókna sýna að CA-Vif veirur ræktaðar í FOS frumum geta ekki hafið víxlritun í FOS frumum en 1277G og ConVif sem hafa staka stökkbreytingu annað hvort í CA eða Vif sýkja allt eins vel og villigerðarveiran(1772). CA-Vif veirur ræktaðar í SCP geta hins vegar hafið víxlritun og sýkja SCP frumur nokkuð vel og það gera 1277G og ConVif einnig.

Niðurstöðurnar benda eindregið til að einhver tengsl séu milli Vif og CA-hluta hylkispróteinsins í sýkingarferli veirunnar. Einnig sést að frumugerðir gegna einnig veigamiklu hlutverki. Hugsanlegt er að í FOS frumum sé hindri sem virkar á hylki veirunnar og eitt af hlutverkum Vif sé að upphefja hann, sé Vif gallað veldur það þessum miklu áhrifum sem sjást í FOS sýkingunum.

E-9

Stökkbreytingreining Vif próteins mæði-visnuveiru

Sigríður Rut Franzdóttir, Sigríður Matthíasdóttir, Ólafur S. Andrésson og Valgerður Andrésdóttir

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Mæði-visnuveiran (MVV) tilheyrir hópi lentiveira og er því skyld HIV veirunni. Vif (virion infectivity factor) prótein er að finna í öllum lentiveirum nema hrossaveirunni EIAV og er það talið gegna hlutverki við að verja nýmyndaðar víxlrítunarafurðir veirunnar gegn árásum hýsilpróteins, APOBEC3G sem afamínarar cytidín í einþátta DNA. Í HIV kallar varðveitt svæði Vif (SLQXLA) til frumþætti sem binda ubiquitin á APOBEC3G og senda það í niðurbrot. Sökum mikilvægis Vif próteinsins fyrir lentiveirur er það talið álitlegt lyfjamark í baráttunni við alnæmi.

Hugsanlegt er að Vif gegni fleiri en einu hlutverki og var tilgangur þessa verkefnis að aðgreina möguleg virknisvæði í próteininu með því að setja inn stökkbreytingar á nokkrum stöðum. Í fyrri rannsókn höfðu sést vísbendingar um samskipti milli Vif og veiruhylkisins og var sjónum því jafnframt beint að því hvaða hlutar próteinsins gætu átt hlut í slíkum samskiptum.

Stökkbreytingar voru innleiddar í *vif* genið með PCR aðferð og klónaðar í plasmíð með erfðamengi veirunnar. Frumur voru genaleiddar og veirur ræktaðar upp í nokkurn styrk. Áhrif stökkbreytinga á veirurnar voru greind með samanburði á veirufjölgun í sýktum frumuræktum. Áhrif cytidín deamínasa á veirurnar voru könnuð með skimun fyrir sértækum G-A stökkbreytingum í nýmynduðum víxlrítunarafurðum.

Staðfest var að um samspilsáhrif milli amínósýru 205 í Vif og 120 í hylki væri að ræða, en jafnframt kom í ljós að breyting á hylkinu ein og sér hefur nokkur áhrif sem gerir ályktanir erfiðar. Samspil Vif og hylkis sjást í FOS frumum en ekki í SCP frumum en áhrif úrfellingar Vif sjást fremur í SCP frumum en í FOS frumum. Bendir þetta til þess að Vif og hylkisprótein eigi samskipti við annan frumþátt en cytidín deamínasa og gegni því fleiri en einu hlutverki í lífsferli veirunnar.

Varðveitta röðin SLQXLA tekur þátt í Ubiquitineringu APOBEC3G í HIV-1. Í MVV reyndist úrfelling fjögurra amínósýra (S₁₇₃LQR) gera veiruna ósýkingarhæfa en sérin fremst í röðinni var ekki mikilvægt, ólíkt HIV-1. Röðin gæti því gegnt svipuðu hlutverki og í HIV-1. Amínósýran tryptófan í stöðu 98 í Vif reyndist nauðsynleg fyrir próteinið og stökkbreyting í því seti hafði svipuð áhrif og úrfelling Vif. Engin þessara breytinga sýndi merki um að taka þátt í samspili Vif og hylkispróteins.

Stökkbreytingaskimun á víxlrítunarafurðum úr veiruögnum bendir til þess að áhrifa cytidín deamínasa á MVV gæti í kindafrumum og að vissar stökkbreytingar dragi úr áhrifum Vif gegn slíku próteini.

E-10

Taugasækni mæði-visnuveirunnar

*Hulda Sigríður Hreggviðsdóttir, Þórður Óskarsson, Guðrún Agnarsdóttir, Sigríður Matthíasdóttir, Ólafur S. Andrés�on, Sigurður Ingvarsson og Valgerður Andrésdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Mæði-visnuveira (MVV) tilheyrir flokki lentiveira og er því náskyld eyðniveirunni (HIV-1 og HIV-2). Veiran leggst á kindur og veldur aðallega lungnabólgu (mæði), en oft veldur hún einnig heilabólgu (visna). Veiran gekk hér á landi á árunum 1933-1965 og var þá taugasjúkdómur aðaleinkenni í sumum kindahjörðum þó lungnabólga væri algengust. Sett hefur verið fram sú tilgáta að sumir MVV stofnar séu heilasæknari en aðrir, og hafa slíkar tilgátur einnig verið settar fram um HIV-1 stofna.

Aðalmarkfrumur MVV veirunnar eru átfrumur. MVV stofnar úr mæðilungum og visnuheilum hafa verið rannsakaðir á Keldum, og hefur fundist nukleotíðaröð í stjórnröðum (LTR; long terminal repeat) sem þarf að vera tvöföld til þess að veiran geti vaxið í æðaflækjufrumum, liðþelsfrumum og fibroblöstum.

Í þessari tilraun voru veirur úr heila- og lungnasýnum úr kindum sem höfðu verið með visnu eða mæði skoðaðar og athugað hvort tvöföldunin væri til staðar í þeim. Áður höfðu verið skoðaðar veirur úr þremur kindum: einni mæðikind þar sem engin tvöföldun fannst, einni visnukind þar sem tvöföldun fannst og einni kind sem sýndi einkenni bæði visnu og mæði en þar fannst bæði röð með tvöföldun og án tvöföldunar. Markmið verkefnisins var því að styrkja þá tilgátu að tvöföldunin ákvarði taugasækni MVV.

DNA var einangrað úr heila- og lungnasýnum í parafínvaxkubbum. LTR svæðið var magnað upp með PCR, klónað í vektor og raðgreint. Fimm lungnasýni (úr mæðikindum), frá árunum 1954-1969, og tvö heilasýni (úr visnukindum) frá árinu 1949 voru skoðuð.

Bæði heilasýnin sem athuguð voru reyndust vera með tvöföldun. Fjögur lungnasýnanna höfðu enga tvöföldun en í því fimmta fannst bæði röð með tvöföldun og röð án tvöföldunar. Einnig kom fram aukinn breytileiki milli mæðisýna og visnusýna heldur en innan þeirra, þ.e. ákveðnir basar voru eins í öllum mæðisýnum en aðrir basar komu fyrir í visnusýnunum.

Niðurstöður benda til þess að veiran þurfi tvöföldunina til þess að komast inn í heilann. Átfrumur eru aðalmarkfrumur MVV og þarf veiran ekki tvöföldun til að vaxa í þeim frumum. Sýnt hefur verið fram á að veiran þurfi tvöföldun til að vaxa í nokkrum öðrum frumugerðum og styrkja þessar niðurstöður þá tilgátu að veiran þurfi að vaxa í öðrum frumugerðum en átfrumum til þess að komast í heila. Eitt mæðisýnanna hafði bæði röð með tvöföldun og röð án tvöföldunar.

Raðgreiningin sýndi auk þess að raðirnar höfðu ekki nákvæmlega sömu basa og kom í ljós að röðin án tvöföldunarinnar líktist röðum úr mæðisýnum en röðin með tvöfölduninni líktist röðum úr visnusýnum. Túlka má þessar niðurstöður þannig að tvöföldun á röðinni gerist ekki í kindinni eftir sýkingu heldur sýkist hún líklega af tveimur stofnum. Við erum þó aðeins með eitt sýni sem sýnir þetta og þyrfti fleiri sýni til að styrkja þessa tilgátu.

E-11

Slímhúðarbólusetning með veikluðum visnuveirustofni

*Guðmundur Pétursson, Sigríður Matthíasdóttir, Vilhjálmur Svansson,
Valgerður Andrésdóttir, Guðmundur Georgsson, Agnes H. Martin, Guðrún Agnarsdóttir,
Eygló Gísladóttir, Steinunn Árnadóttir, Svava Högnadóttir, Ólafur S. Andrésson
og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Bólusetningar með lifandi en veikluðum sýklum veita ágæta vörn gegn ýmsum smitsjúkdómum. Þróun bóluefna gegn lentiveirum hefur reynst miklum vandkvæðum bundin. Vegna mikillar útbreiðslu eyðni í þróunarlöndum er aðkallandi að reyna að þróa bóluefni gegn HIV lentiveiru, sem veldur eyðni eða alnæmi í mönnum, en allar tilraunir til þess eru skammt á veg komnar og árangur næsta óviss. Mæði- og visnuveira er lentiveira sem sýkir sauðfé. Til eru tveir sýkingarhæfir visnuveiruklónar. Lítil munur er á erfðaeefni þeirra en þó er annar (KV1772-kv72/67) mjög meinvirkur í kindum en hinn (LV1-1KS1) lítið sem ekkert meinvirkur. Ákveðið var að athuga hvort sýking með veiklaðri veiru eins og LV1-1KS1 geti virkað sem bólusetning gegn meinvirkri veiru KV1772-kv72/67. Þar sem HIV og visnu-mæði veira sauðfjár smita um slímhúðir er talið æskilegt að bólusetning örvi sérstaklega ónæmissvörun í slímhúðum. Því var ákveðið að prófa bólusetningu með LV1-1KS1 í barka þar sem smit yrði líka gert í barka með meinvirku veirunni.

Fjórar kindur voru bólusettar í barka með LV1-1KS1, 1 ml 10^7 TCID₅₀/ml í janúar 1999 og aftur með sama skammti í maí 1999. Á 63. viku voru þessar kindur sýktar með 10^3 smiteiningum af náskyldum en mjög meinvirkum visnuveiruklóni (KV1772-kv72/67) í barka og fjórar óbólusettar kindur sýktar á sama hátt. Fylgst var með gangi sýkinga með mælingum á veirumótefnum (ELISA og vaxtarstöðvandi) og veiruræktunum úr blóði. Bólusetning með veiklaðri veiru framkallaði lága mótefnasvörun í ELISA prófi sem hækkaði greinilega eftir sýkingu með þeirri meinvirku. Meinvirka veiran ræktaðist úr blóði allra fjögurra bólusettu kindanna en þó miklu sjaldnar en úr óbólusettu samanburðarkindunum og virðist þessi munur marktækur. Báðum hópum var síðan lógað í október 2002. Veiruræktanir úr lungum bólusetta kindu voru marktækt færri en úr lungum óbólusetta. Niðurstöðurnar sýna að bólusetning með þessari veikluðu veiru veitir litla sem enga vörn gegn endursýkingu með meinvirkri veiru en hin lága tíðni ræktana úr bólusettu kindunum bendir til hömlunar á veirufjölgun, sem gæti haft áhrif á framvindu vefjaskemmda til lengri tíma. Reyndar var ein hinna óbólusettu kindu með dæmigerðar mæðibreytingar í lungum við krufningu en í öðrum óbólusettum og þeim bólusettu sáust ekki greinilegar mæðiskemmdir. Til þess að fá óyggjandi niðurstöður um gagnsemi slíkrar bólusetningar þyrfti að nota fleiri kindur í tilraun til lengri tíma.

E-12

Nýjar rannsóknir á fuglablóðögðum og sundmannakláða á Íslandi

Karl Skírnisson

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Rannsóknir á sundmannakláða hófust hér á landi haustið 1997 en þá tókst að upplýsa að kláðabólur á fótum barna sem höfðu verið að vaða í tjörn í Fjölskyldugarðinum í Laugardal í Reykjavík stöfuðu af sundlirfum fuglasníkjudyra af ættkvíslinni *Trichobilharzia* sem höfðu borað sig inn í húðina. Fullorðin lifa þessi sníkjudýr í ýmsum andfuglum og eru þau nefnd nasaögður eða iðrablóðögður eftir aðsetursstað fullorðnu ormannna. Nasaögðulirfur þroskast í fullorðna orma á tæpum 3 vikum og ferðast á þeim tíma frá sundfitum fuglanna, fyrst eftir úttaugum og áfram upp mænu en svo þvert í gegn um heilann yfir í nasahol fuglsins. Skaði sem lifurnar valda á taugakerfinu er talinn standa í réttu samhengi við fjölda þeirra. Iðraögðurnar berast aftur á móti með blóðrás. Lifurnar verða til við kynlausa æxlun í vatnabobbanum *Radix peregra* en hann er eini algengi vatnasnigillinn í tjörnum og vötnum hér á landi.

Undanfarin ár hefur verið leitað að fullorðnum *Trichobilharzia* blóðögðum í ýmsum andfuglum hér á landi. Þegar hafa fundist fjórar tegundir iðrablóðagða. Tvær ólíkar tegundir hafa fundist í álfum og egg sitt hvorrar tegundarinnar hafa fundist í grágæs og stökkönd. Ormarnir sem verptu eggjunum voru ekki lengur til staðar en egg þeirra varðveitast langtímum saman í þarmavegg fuglanna. Iðrablóðögðum álfanna hafði ekki áður verið lýst í vísindaheiminum þannig að þar eru áður óþekktar tegundir á ferðinni. Ekki er enn ljóst hvort iðrablóðögðurnar í stökkönd og grágæs eru þekktar tegundir. Fimmta *Trichobilharzia* tegundin sem fundist hefur í íslensku lífríki er nasablóðagða og fannst sú í stökköndum í Landmannalaugum þegar farið var að grennslast fyrir um uppruna sundmannakláða sem menn tóku að verða þar varir við um miðjan ágúst 2003. Eftir að hafa fundið sundlirfur í vatnabobbum á baðsvæðinu var safnað fimm stálpuðum stökkandarungum sem alist höfðu upp í Landmannalaugum þá um sumarið. Fullorðnir ormar, egg og nýklaktar miracidium lifur fundust í miklu magni í nefholi allra þessara fugla. Fyrstu athuganir á útliti fullorðnu ormannna benda til að þar sé áður óþekkt tegund á ferðinni, væntanlega sama tegundin og tókst að láta vaxa upp á fullorðinsstig við smittilraunir sem gerðar voru veturinn 2001/2002 í Prag. Verið er að lýsa þessari tegund ásamt iðrablóðögðum álfanna í samvinnu við Dr. L. Kolorova í Prag í Tékklandi.

Síðustu þrjú ár hefur 5213 *Radix peregra* vatnabobbum verið safnað úr 16 tjörnum eða vötnum hér á landi og kannað hvort þeir væru smitaðir af *Trichobilharzia* sundlirfum. Að minnsta kosti 78 sniglar (1,5%) úr 8 vatnanna (50%) reyndust smitaðir. Rannsóknirnar sýndu að búast má við sundlirfusmiti í lífmiklum vötnum og tjörnum alls staðar á landinu. Verið er að rannsaka með sameindafræðilegum aðferðum hvaða tegundir eiga hér í hlut og bera þær saman við ættingja sína annars staðar í heiminum. Verkið er hluti af doktorsverkefni J. Rudolfova í Prag í Tékklandi.

Strax og ljóst var hvaða sníkjudýr áttu í hlut í Landmannalaugum, og með það í huga að nasablóðögðulirfur geta sumar hverjar lifað dögum saman í spendýrum, var sett upp viðvörðunarskilti í Laugum þar sem fólki var eindregið ráðið frá baðferðum. Þar sem svipað er uppi á teningnum í vaðtjörn Fjölskyldugarðsins er börnum nú meinað að leika sér óvarin í vatninu.

E-13

Sumarexem í fólki

Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹, Agnes Helga Martin¹, Sigurveig Þ. Sigurðardóttir² og Eliane Marti³

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum,

²Rannsóknarstofa í ónæmisfræði Landspítala/Háskólasjúkrahúsi við Hringbraut,

³Dýrasjúkdómadeild, Háskólanum í Bern, Sviss

Sumarexem er ofnæmi í hrossum gegn prótínunum sem berast við bit mýflugna af ættkvíslinni *Culicoides* (biting midges). Exemið er vandamál hjá íslenskum hestum á erlendri grund. *Culicoides* tegundir lifa ekki á Íslandi. Ofnæmið er af gerð I (type I hypersensitivity) sem er ónæmissvar með IgE framleiðslu á svokallaðri Th2 braut. Ofnæmi gegn moskítóflugum sem lýsir sér svipað og sumarexem er þekkt í fólki.

Markmið verkefnisins var að athuga hvort nota mætti seyði af bitflugum og súlfidóleuktrína-losunarpróf (sL-losunarpróf) til þess að greina ofnæmi í fólki gegn mýflugnabiti, á sama hátt og hægt er að nota prófið til að greina sumarexem í hrossum. Ef finndist einstaklingur með ofnæmi gegn *Culicoides* átti að nota mannasermi og mótefni gegn manna IgE til að leita að genum ofnæmisprótínanna í *Culicoides*, en vantað hefur einstofna mótefni gegn IgE í hrossum.

Á göngudeild lungna-, ofnæmis- og gigtarsjúkdóma LSH í Fossvogi, komu 37 einstaklingar sem svöruðu spurningalista, tekið var blóðsýni og gert húðpróf með moskítófluguvaka (*Aedes taeniorhynchus* frá Greer Labs, USA). Tíu komu í endurtekið blóðpróf. Tveir einstaklingar voru teknir út úr rannsókninni þannig að 35 tóku þátt. Hvítfrumur voru aðskildar úr blóði og örvaðar með nokkrum þynningum af seyði af eftirfarandi flugum *Culicoides nubeculosus*, *Simulium vittatum* (íslenskt bitmý) (seyði útbúin af Eliane Marti), og moskítóflugutegundinni *Aedes taeniorhynchus* (Greer Labs, USA). Mótefni gegn IgE viðtakanum var jákvætt kontról. Losun súlfidóleukótrína við örvun var síðan mæld í floti með CAST prófi (Cellular antigen stimulation test frá Bühlman Laboratories AG, Sviss) og reiknuð út í pg/ml samkvæmt meðfylgjandi forriti.

Samkvæmt spurningalistum voru 20 einstaklingar með sögu um ofnæmi gegn annað hvort bitmýi eða moskítóflugum, enginn eingöngu gegn bitmýi en 7 eingöngu gegn moskítóflugum. Engar marktækar niðurstöður fengust úr húðprófi. Enginn svaraði á *Culicoides nubeculosus*. Næmni sL-losunarprófsins ef mælt er bitmýsofnæmi með *Simulium vittatum* seyði er 77% og sérvirkni 90%. Ef mælt er moskítófluguofnæmi með *Aedes taeniorhynchus* er næmi 35% og sérvirkni 80%. Ofnæmi gegn *Simulium* tegundum hefur ekki verið prófað áður svo vitað sé.

Verkefnið var styrkt af Rannsóknarsjóði Háskóla Íslands.

E-14

Tilraunir til að bólusetja þorsk gegn bakteríusjúkdómum

*Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir, Bryndís Björnsdóttir, Bergljót Magnadóttir og
Sigríður Guðmundsdóttir*
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Þorskeldi er nú í þróun sem nýr iðnaður. Fisksýklarnir *Aeromonas salmonicida*, *Listonella anguillarum* og *Moritella viscosa*, hafa valdið miklum usla í laxeldi og eru einnig að valda skaða í þorskeldi. Eina þorskbóluefnið á markaði er gegn *L. anguillarum*. Fjölgilt laxabóluefni er til gegn öllum þremur bakteríunum.

Markmið rannsóknarinnar voru að kanna vörn þorsks, sem bólusettur var með fjölgilda laxabóluefninu, gegn tilraunasýkingu með ofangreindum þremur bakteríutegundum og meta áhrif bólusetningar á vöxt.

Fimmtíuþúsund missterkra bakteríustofna í þorski var ákvarðaður með sprautun missterkra bakteríulausna í vöðva (i.m.). Sjúklegar breytingar voru skráðar og vefjasýni tekin úr deyjandi fiski til vefjameinaskoðunar. Sýking var staðfest með endurræktun viðkomandi bakteríu úr frammýra. Bólusett var með fjölgildu laxabóluefni, sem inniheldur olíuónæmisglæði. Bólusetning var framkvæmd með sprautun í kviðarhol (i.p.) og 8 vikum síðar var sýkt með böðun í missterkum bakteríulausnum eða i.m.sprautun. Til að meta áhrif bólusetningar á vöxt var þorskurinn veginn í upphafi tilraunar, á degi bólusetningar og einnig 8 vikum síðar. Átta og 13 vikum frá bólusetningu voru breytingar í kviðarholi vegna ónæmisglæðis metnar á Speilbergsskala. Magn mótefna gegn hverjum bakteríustofni í blóðvatni var mælt með ELISA-prófi. Ónæmisvörn var metin út frá hlutfallslegri lifun óbólusettra og bólusettra fiska.

Niðurstöður sýndu að bóluefnið veitti þorski góða ónæmisvörn gegn *L. anguillarum* (vibríuveiki), en ekki gegn *A. salmonicida* (kylaveikibróður) eða *M. viscosa* (roðsár). Bólusetning dró marktækt úr þyngdaraukningu og breytingar í kviðarholi vegna ónæmisglæðis voru töluverðar. Sýking þorsks með öllum þremur ofangreindum bakteríutegundum leiddi í ljós meinafræðilegar breytingar með einkennum blóðborinnar sýkingar. Athyglisvert er að í fyrri rannsókn höfunda veitti sama bóluefni laxi og lúðu en ekki sandhverfu vörn gegn kylaveikibróður og ennfremur vakti það verndandi ónæmissvar í laxi gegn roðsárum en ekki í sandhverfu. Einu sértæku mótefnin sem greindust í bólusettum þorski voru gegn *M. viscosa*.

E-15

Áhrif bætibaktería og ónæmisörva á afkomu þorsklirfa

Sigríður Guðmundsdóttir, Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir, Bryndís Björnsdóttir og Bergljót Magnadóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Fyrstu vikurnar eftir klak frjóvgaðra þorskhrogna í eldisstöð eru afföllin afar mikil. Algengt er, að 12 vikum eftir klak sé fjöldi lirfa 2-4% af upphafs fjölda. Tveimur til þremur mánuðum eftir klak, þegar þorsklirfurnar hafa náð u.þ.b. 35 mm lengd, nær sérhæfða ónæmiskerfið fullum þroska. Fram til þess tíma, byggjast varnir gegn sýklum einkum á viðbrögðum í ósérhæfða ónæmiskerfinu. Að undanförmu hafa rannsóknir víða beinst að notkun ónæmisörvandi efna og bætibaktería, með böðun eða fóðrun, til að auka lífsþrótt ýmissa fisktegunda í eldi, allt frá klaki til sláturstærðar.

Áhrif nokkurra ónæmisörvandi efna og bakteríu af Víbríó-ætt (K-1) á afkomu þorsklirfa voru prófuð með böðun í forkönnun á Keldum. Á grundvelli þeirra niðurstaðna voru áhrif eins örva, þ.e. fitutengdrar fjölsykru úr bakteríu (lipopolysaccharide, LPS) og K-1 bakteríunnar, prófuð í 150 lítra klaksílóum í Tilraunaeldisstöð Hafrannsóknastofnunar á Stað við Grindavík. Lirfurnar voru baðaðar í eina klst. þegar 5, 22 og 51 dagar voru liðnir frá klaki. Þegar 112 dagar voru liðnir frá klaki, voru lirfur úr öllum hópum fluttar að Keldum og gerð baðsmittilraun með bakteríunni sem veldur kýlaveikibróður, *Aeromonas salmonicida* undirt. *achromogenes*. Áhrif LPS, *in vivo* og *in vitro*, á öndunarsprett í lirfufrumum sem festust á plastbakka, voru mæld þegar 4, 15 og 22 dagar voru liðnir frá klaki. Öndunarsprettur var metinn í s.k. AR-prófi (Molecular Probes Inc.) en það mælir vetnisperoxíð (H_2O_2) sem örvaðar frumur seyta.

Á 22. degi sýndu allir baðaðir hópar betri lifun en óbaðaðir samanburðarhópar, en á 51. degi einungis LPS hópurinn. Enginn hópanna sýndi aukna mótstöðu gegn baðsmiti með *Aeromonas salmonicida* undirt. *achromogenes* 112 dögum eftir klak. LPS jók öndunarsprett frumna *in vivo* og *in vitro*, 15 og 22 dögum eftir klak.

Niðurstöður sýna að LPS og K-1 geta bætt lífsþrótt þorsklirfa í eldi, en frekari rannsóknar er þörf til að finna út hvenær og hvernig notkun þeirra skili mestum ávinningi.

Verkefnið var styrkt af Tæknisjóði RANNIS, Evrópusambandinu (EC grant no.: QLRT-1999-31076 (FishAid)) og Rannsóknasjóði Háskóla Íslands.

E-16

***Campylobacter* í kjúklingum – getur hænan smitað egg/ungann?**

*Vala Friðriksdóttir*¹, *Eggert Gunnarsson*¹, *Guðbjörg Jónsdóttir*¹, *Katrín Ástráðsdóttir*¹,
*Kolbrún Birgisdóttir*¹, *Signý Bjarnadóttir*¹, *Sigríður Hjartardóttir*¹ og *Jarle Reiersen*²
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²Embætti yfirdýralæknis

Campylobacter smit af innlendum uppruna var frekar sjaldgæft í mönnum hérlendis fram til ársins 1996. Árin 1998-2000 kom upp faraldur sem rakinn var til neyslu á ferskum kjúklingum. Í framhaldinu var tekið upp eftirlit með *Campylobacter* sem hluti af reglubundnu eftirliti í alifuglaframleiðslu.

Í tengslum við kjúklingaframleiðslu hérlendis eru frjónuguð egg flutt reglulega inn frá Svíþjóð. Úr eggjunum klekjast ungar sem síðan verða foreldrar sláturkjúklinga. Ungarnir eru hafðir í sóttkví í 8 vikur eftir klak og tekin úr þeim sýni m.a. vegna *Campylobacter* eftirlits, áður en þeir eru færðir úr sóttkví.

Árið 2001 var hleypt af stokkunum verkefni, sem nefnist “Scources and Risk Factors for *Campylobacter* in Poultry and Impact on Human Disease in a Closed System”, undir stjórn Dr. Norman J. Stern, með styrk frá USDA og þátttöku vísindamanna frá Íslandi, Bandaríkjunum, Kanada og Svíþjóð. Í tengslum við verkefnið hafa verið tekin sýni á mismunandi stigum kjúklingaeldis og framleiðslu til viðbótar við sýnatöku vegna reglubundins eftirlits, með það fyrir augum að reyna að rekja *Campylobacter* smit í kjúklingum og koma auga á helstu smitleiðir.

Hér verður lýst þeim hluta sem snýr að athugun á því hvort “lóðrétt smit” (vertical transmission) geti átt sér stað í kjúklingaframleiðslu, þ.e. hvort smit geti borist frá foreldri til afkvæmis í gegnum egg.

Tekin voru sýni úr forfeðrahópum í Svíþjóð í tengslum við innflutning á frjónuguðum eggjum. Síðan voru tekin sýni úr foreldrafuglum í sóttkví 6 vikum eftir klak og svo aftur úr sömu hópum við 18 vikna aldur. Notaðar voru tvær aðferðir við ræktun á *Campylobacter*, hefðbundin NMKL aðferð sem síðan var skipt út fyrir Campy-Cefex aðferð, sem hefur sýnt sig í að vera jafn næm en tekur styttri tíma.

Á tímabilinu frá júní 2001 – júní 2003 ræktaðist *Campylobacter* úr helmingi forfeðrahópa í Svíþjóð. Á sama tímabili voru tekin sýni úr 6 vikna foreldrafuglum í sóttkví og reyndust allir hópar vera neikvæðir. Þegar tekin voru sýni úr sömu hópum foreldrafugla við 18 vikna aldur ræktaðist *Campylobacter* aftur á móti úr flestum hópum, þó svo að þeir hafi allir verið neikvæðir við 6 vikna aldur.

Ekki var samræmi á milli þeirra *Campylobacter* stofna sem einangruðust úr forfeðrahópum og stofna sem fundust í foreldrafuglum við 18 vikna aldur.

Rannsóknir okkar sýna, að þó að egg komi til landsins úr fuglum sem smitaðir eru af *Campylobacter* þá berst smitið ekki í unga sem klekjast úr þessum eggjum.

Campylobacter ræktast síðan úr foreldrafuglum þegar þeir eldast vegna ytri aðstæðna þ.e. umhverfis og umgengni, en ekki vegna smits frá foreldrum.

E-17

***Campylobacter*-faraldur í mönnum á Íslandi 1998-2000 og varanleg áhrif aðgerða**

*Jarle Reiersen*¹, *Haraldur Briem*², *Hjördís Harðardóttir*³, *Eggert Gunnarsson*⁴,
*Franklín Georgsson*⁵ og *Karl G. Kristinsson*³

¹*Embætti yfirdýralæknis*, ²*Landlæknisembættið*, ³*Sýklafræðideild, Rannsóknarstofnun
Landspítala-Háskólasjúkrahúss*, ⁴*Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*,
⁵*Umhverfisstofnun, Reykjavík*

Frá júní 1998 til mars 2000 geysaði faraldur vegna *Campylobacter* í mönnum á Íslandi. Faraldinn mátti að mestu rekja til aukinnar tíðni smits innanlands vegna neyslu ferskra kjúklinga. Fyrir 1996 voru eingöngu seldir frosnir kjúklingar.

Aðgerðir: a) Alifuglar: Í ágúst 1999 var sett á laggirnar áætlun á vegum embættis yfirdýralæknis fyrir kjúklingaframleiðendur um hvernig ætti að framleiða kjúklinga sem lausir væru við *Campylobacter*. Alifugladyralæknar heimsóttu öll kjúklingabú og veittu ráðgjöf um smitvarnir. Í byrjun árs 2000 hófst víðtækt, reglubundið eftirlit með *Campylobacter* í alifuglum. Í kjölfar niðurstaðna fylgdu miklar breytingar í búskaparháttum og slátrun kjúklinga. Frá janúar 2000 hafa allir *Campylobacter*-jákvæðir sláturhópar sem vitað hefur verið um, verið frystir áður en afurðir hafa farið í dreifingu.

b) Neytendur: Menntun neytenda í meðhöndlun alifuglaafurða voru í formi heilsíðu auglýsingar, fréttaskota og viðtala við fagaðila í dagblöðum, sjónvarpi og útvarpi. Einnig var dreift inn á hvert heimili prentuðum bæklingi um matarsýkingar.

Árin 2000, 2001, 2002 og 2003 voru 91, 117, 74 og 51 staðfest *Campylobacter*-tilfelli í mönnum vegna innanlands smits, (heildarfjöldi *Campylobacter*-tilfella í mönnum sömu ár voru 245, 222, 140 og 91) samanborið við 326 (435 alls) árið 1999. Þetta samsvarar fækkun tilfella í mönnum á bilinu 64-84% vegna innanlands smits og á bilinu 44-79% í heildarfjölda tilfella. Mikilvægasta aðgerðin virðist vera að frysta allar alifuglaafurðir sem smitaðir eru af *Campylobacter*.

Faraldri vegna *Campylobacter* í mönnum var afstýrt með aðgerðum sem beint var að útrýmingu *Campylobacter* úr alifuglakjöti og með menntun neytenda. Áframhaldandi fækkun tilfella gefur til kynna að þetta sé góð leið til að afstýra *Campylobacter*-faraldri í mönnum.

Viðfangsefnið er einnig kynnt á veggspjaldasýningu undir heitinu: *Human Campylobacteriosis Epidemic in Iceland 1998-2000 and Longterm Effect of Interventions*

V-1

Æxlisbæligen og úrfellingar á litningi 3 í krabbameinum nagdýra og manna

*Þórgunnur Eyfjörð Pétursdóttir¹, Unnur Þorsteinsdóttir³, Jón Gunnlaugur Jónasson^{1,4},
Páll Helgi Möller², Chen Huiping⁵, Jóhannes Björnsson¹, Valgarður Egilsson¹,
Stefan Imreh⁶ og Sigurður Ingvarsson⁵*

¹Rannsóknarstofa í Meinafræði, ²Skurðdeild og Landspítali Háskólasjúkrahús, Reykjavík.
³Íslensk Erfðagreining, Reykjavík, ⁴Krabbameinsskrá, Krabbameinsfélag Íslands, Reykjavík,
⁵Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ⁶Microbiology and Tumor Biology
Center (MTC), Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.

Litningur 3 er afbrigðilegur í flestum krabbameinum úr mönnum og nokkrum æxlisbæligenum staðsettum á þessum litningi hefur þegar verið lýst. Á Karolinska Institutet í Stokkhólmi hefur verið þróað próf til að finna litningasvæði sem innihalda æxlisbæligen. Prófið kallast Elimination test og byggir á því að þegar músa/manna örfrumu blendingar eru látnir vaxa í ónæmisbældum músum þá þurfa þessar frumur að losa sig við ákveðin litningasvæði áður en þær geta myndað krabbamein. Þegar ákveðin litningasvæði eru felld út í krabbameinsfrumunum á reglubundin hátt bendir það til þess að á þeim svæðum séu æxlisbæligen. Með notkun þessa prófs hefur fundist svæði á 3p sem kallast “chromosome 3 common eliminated region 1” (C3CER1). Þetta svæði nær yfir ~1.4 Mb á 3p21.3 og á því er að finna 19 virk gen og þrjú gervigen. Á þessu svæði gætu því verið að finna að minnsta kosti eitt eða jafnvel mörg æxlisbæligen. Í ljós hefur komið að samskonar svæði eru felld út í tveimur mismunandi æxlisgerðum, þ.e. músa fibrósarkmeinum og manna nýrnakrabbameini. Þetta bendir til þess að mikilvægi C3CER1 svæðisins sé hvorki háð tegund né vefjagerð heldur komi úrfellingar á þessu svæði við sögu í ýmsum gerðum krabbameina bæði í mönnum og nagdýrum.

Rannsað var hvort C3CER1 svæðið vantaði í æxlum úr mönnum og þá hvort um væri að ræða litlar úrfellingar á ákveðnum svæðum eða hvort að mestur hluti 3p væri dottin út vegna brothætts svæðis í genamengi mannsins sem er á 3p14.2 og kallast FRA3B. Við greindum tap á arfblandni í 576 manna æxlum frá 10 mismunandi líffærum. Við bárum saman úrfellingartíðnina á C3CER1 við úrfellingartíðni tveggja annarra svæða á 3p í sömu æxlum, þ.e. FHIT/FRA3B svæðið á 3p14.2 og VHL svæðið á 3p25.3.

Yfir heildina var um að ræða 83% úrfellingartíðni á C3CER1, helmingur þeirra æxla (47%) greindust með tap á með öllum erfðamörkum sem bendir til þess að um tiltölulega stóra úrfellingu sé að ræða. Hinn helmingurinn (53%) var með ósamfelldar úrfellingar sem er merki um brotpunkta eða minni úrfellingar með bili á milli. Þegar litið var á tíðni úrfellinga með tilliti til æxlisgerðar kom í ljós að hlutfall æxla með C3CER1 úrfellingar var verulega hátt í öllum líffærum eða 70-94%, með einni undantekningu þó sem voru sarkmein en þar var hlutfallið 40%. Við fundum úrfellingar á VHL svæðinu í 73% æxla og á FHIT svæðinu 43%. Samkvæmt okkar rannsóknum eru C3CER1 úrfellingar því hvorki tegunda né vefja sértækar. Hæsta tíðni úrfellinga er á C3CER1 og ekki virðist vera um að ræða brot á litningnum á FRA3B brothætta svæðinu sem leiðir til þess að mestur hluti 3p týnist heldur eru litlar ósamfelldar úrfellingar m.a. á C3CER1 mun algengari.

V-2

Tengsl PrP^C og prótíns sem tekur þátt í stýrðum frumudauða í taugafrumum (NRAGE)

*Birkir Þór Bragason og Ástríður Pálsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Rannsóknir gefa til kynna að hluti þess PrP^C sem fruman býr til sé brotið niður í umfryminu af próteasóm-kerfinu eftir útflutning úr frymisnetinu. Þegar PrP^C safnast saman í umfryminu hefur það ýmis einkenni riðusmittefnis, t.d. próteasa-þol og óleysanleiki í sápum, og það getur safnast saman í aggresóm. Aggresóm eru svar frumunnar við niðurbrotsvanda og hafa greinst í öðrum taugahrönnunarsjúkdómum, m.a. Parkinsons-veiki. Þegar PrP^C er í umfryminu virðist það geta haft áhrif á stýrðan frumudauða. Markmið þessa verkefnis var að einangra prótín sem tengst geta PrP^C til að varpa ljósi á hlutverk þess.

Beitt var margvíslegri aðferðafræði, m.a. yeast two-hybrid skimun, GST-fellingum, ónæmisþrykki, ónæmisfellingum, ónæmislitunum auk staðlaðra aðferða sameindalíffræðinnar.

Yeast two-hybrid (YTH) aðferðin var notuð til að skima genasafn úr rottuheila með kinda-PrP^C klón. Þannig einangruðust þrjú umfrymisprótín sem tengdust PrP^C, eitt þeirra var NRAGE (neurotrophin receptor-interacting MAGE homologue). Rannsóknir annarra hafa sýnt að NRAGE tengist umfrymishluta p75NTR taugafrumuviðtakans og stuðlar að stýrðum frumudauða. Sá frumudauði einkennist m.a. af uppsöfnun cýtókróm C í umfryminu, virkjunar caspasa-3,-9 og 7 og fosfæringar og uppsöfnun c-jun. Tenging PrP^C og NRAGE í YTH-kerfinu var varðveitt þegar kinda-PrP^C var skipt út fyrir rottu-PrP^C. Rottu-PrP^C var síðan notað í öllum tilraunum. GST-fellingar og sam-ónæmisfellingar voru notaðar til að staðfesta tengsl milli PrP^C og NRAGE. Styttri bútar úr PrP^C voru notaðir í YTH-tilraunir og sam-ónæmisfellingar, sem benda til þess að NRAGE tengist C-enda PrP^C. Mótefni gegn NRAGE var búið til. Það var m.a. notað til ónæmislitunar á heilasneiðum úr fullorðinni rottu. Mótefnið litaði m.a. umfrymi taugafruma í heilaberki og æðaflækjufrumur. Ekki sást litun í tróðfrumum. Áhrif próteasóm-hindrunar á NRAGE voru athuguð í PC12 frumum, en þær tjá talsvert af því. Í ljós kom að slík hindrun leiddi til uppsöfnunar NRAGE í kekki við kjarnann sem lituðust með vímentín mótefni. Það bendir til þess að kekkirnir séu aggresóm. Í kjölfar þess voru NRAGE og PrP^C-EGFP tjáð saman í COS7 frumum sem voru meðhöndlaðar með próteasómhindra. Við slíka hindrun kekkjast NRAGE og PrP^C-EGFP saman við kjarnann. Ytra byrði þessara kekkja litast með hsc70. Það, ásamt vimentín litun NRAGE kekkja í PC12 frumum, bendir til þess að NRAGE og PrP^C-EGFP séu saman í aggresómi.

Í ljósi þess að PrP^C virðist hafa áhrif á stýrðan frumudauða er athyglisvert að það geti tengst NRAGE. Verið er að athuga hvaða áhrif það hefur á stýrðan frumudauða í frumum að tjá NRAGE og PrP^C saman.

V-3

Hestahvítfrumur örvaðar *in vitro* með peptíðum og CpG röðum á tjáningarferju

*Guðbjörg Ólafsdóttir, Vilhjálmur Svansson og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Sumarexem er ofnæmi í hrossum gegn prótínunum sem berast við bit mýflugna af ættkvíslinni *Culicoides* (biting midges). Ofnæmið er vandamál í íslenskum hestum á erlendri grund en þessi ættkvísl mýflugna lifir ekki á Íslandi. Ofnæmið er af gerð I (type I hypersensitivity) sem er ónæmissvar með IgE framleiðslu á svokallaðri Th2 braut. Sýnt hefur verið fram á að viss peptíð og vissar ómetyleraðar kirnaraðir eða stef úr bakteríum (CpG stef) geta virkað sem Th1 ónæmisglæðar. Akveðin tegundasérvirkni er gagnvart CpG stefjunum, GACGTT virkar best í músunum (músastef) en GTCGTT í hestum (hestastef) og fleiri tegundum.

Markmið verkefnisins er að finna ónæmisglæða sem örva ónæmissvar í hestum og beina því inn á Th1 braut með því framtíðarmarkmiði að nota þá í bóluefni gegn sumarexemi í hestum.

Polyarginine (PA) og Muramyl dipeptid (MDP) voru keypt frá Sigma. Einþátta raðir (39 basar með fosfór á endanum) með tveimur músa- eða tveimur hestastefjum voru keyptar frá TAG Copenhagen. Raðirnar voru eðlissviptar, látnar þáttatengjast með samloðunarendum og límdar með T4 lígasa inn í XhoI/BamHI klippta bluescript tjáningarferju. Tóm bluescriptferja er með einu músa- og þremur hestastefjum. Tóm bluescriptferja og ferjur með innskots CpG röðunum voru einangraðar, hreinsaðar á Quiagen súlum og magnmældar. Hvítfrumur voru aðskildar úr hepariniseruðu hestablóði á sykurstigli og síðan örvaðar með mismunandi þynningum af PA, MDP (0.1-100 µg/ml) og bluescriptferjum (0.08-10 µg/ml).

Phytohaemagglutinin (PHA) var notað sem jákvætt kontról. Örvun hvítfrumna var mæld í eítílfrumuörvunarprófi með upptöku á geislavirku thymidini ([metyl-³H]Thymidine).

MDP örvar ekki eítílfrumufjölgun eitt og sér en PA örvaði eítílfrumur úr einum af þremur hestum sem prófaðir voru. Bæði peptíðin juku á örvun ef þau voru notuð með vaka sem blóðgjafahestarnir höfðu ónæmissvörun gegn. Örvað var með bluescriptferju, tómri, með 8 auka eintökum af hestastefjum eða með 8 auka eintökum af músastefjum. Bráðabirgða niðurstöður benda til að ferjan með auka hestastefjunum örvi frumufjölgun meira en ferjan með auka músastefjunum. Tóm bluescriptferja virðist einnig örva frumufjölgun alla vega í háum styrk. Til þess að athuga hvort peptíðin og ferjurnar beina svarinu á Th1 eða Th2 braut verða eítílfrumur örvaðar með kjörsamsetningu og -styrk og boðefnaframleiðsla mæld, γ-IFN fyrir Th1 braut og IL-4 fyrir Th2 braut.

Verkefnið er styrkt af Rannsóknasjóði Háskóla Íslands og Rannís.

V-4

Klónun og tjáning á mögulegum ofnæmisgenum úr *Culicoides* mýflugum

Vilhjálmur Svansson¹, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹, Guðbjörg Ólafsdóttir¹, Lisa Harward²
og Eliane Marti²

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum,

²Department of Clinical Veterinary Medicine, University of Berne, Switzerland

Sumarexem (SE) er ofnæmi í hrossum gegn próteini sem berst við bit mýflugna af ættkvíslinni *Culicoides* sem kallast "biting midges" á ensku. Ofnæmið er vandamál í íslenskum hestum á erlendri grund en þessi ættkvísl mýflugna lifir ekki á Íslandi. Rannsóknir hafa sýnt að SE-hestar svara á sameiginlega(n) ofnæmisvaka í *Culicoides* spp. í húðprófum. Engin gen sem skrá fyrir ofnæmisvökum SE í *Culicoides* spp. mýflugum eru enn þekkt. Unnið er að því að finna ofnæmisgen úr *Culicoides nobeculosus* mýflugum og hafa nú þegar tvö möguleg ofnæmisgen verið klónuð. Ætla má að það tjáningakerfi sem henti best fyrir tjáningu slíkra gena sé baculoveirukerfið í skordýrafrumum því þar ætti sykrun og önnur meðhöndlun á próteinum eftir þýðingu að vera lík því og í *Culicoides* mýflugunni. Rannsóknir á ofnæmispróteinum úr skordýrum sem framleidd hafa verið í baculoveirukerfinu hafa sýnt bindingu við IgE mótefni og hafa haft svipaða virkni og upprunalegu próteinin. Verkefnið fellst í því að tjá möguleg ofnæmisgen úr *Culicoides* í baculoveirukerfinu. Ónæmisviðbrögð verða könnuð með því að skoða hvort IgE mótefni úr hestum með sumar exem bindast endurröðuðum *Culicoides* próteinunum. Ennfremur að mæla losun bólguhvata (leukótrína) frá hvítfrumum úr SE-hestum sem meðhöndlaðar eru með próteinunum.

V-5

Rannsókn á breytileika í tákna 129 í príongeni í heilbrigðum Íslendingum

Stefanía Þorgeirsdóttir¹, Þórður Tryggvason^{1,2} Sveinn Guðmundsson³ og Guðmundur Georgsson¹

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²Læknadeild HÍ, ³Blóðbankinn

Príonsjúkdómar, eins og Creutzfeldt-Jakob sjúkdómar (CJD), stafa af formbreytingu og upphleðslu á eðlilegu próteini líkamans, sem nefnist príonprótein (PrP). Eðlilega príonpróteinið, PrP^C, umbreytist í smitefnið, PrP^{Sc}, sem er með aðra þrívíddar byggingu. Markmið þessarar rannsóknar var að ákvarða tíðni mismunandi arfgerða í tákna 129 í príongeni í heilbrigðum Íslendingum, til samanburðar við aðrar þjóðir. Forsenda rannsóknarinnar er að næmi manna fyrir sýkingu með príonsmitefni tengist arfgerðum í tákna 129 í príongeninu, en auk þess hafa sést áhrif á svipfar og meðgöngutíma príonsjúkdóma. Til dæmis hafa rannsóknir sýnt að þeir sem sýkst hafa af nýju afbrigði (variant) Creutzfeldt-Jakob sjúkdóms (vCJD), sem talinn er hafa borist í fólk við neyslu afurða af riðusýktum nautgripum, eru allir arfhreinir með tilliti til metíonín í tákna 129. Auk M/M arfgerðarinnar hafa fundist arfblendin metíonín/valín, M/V, og arfhrein valín/valín, V/V. Auk þess að vera 4.árs verkefni Þórðar Tryggvasonar við Læknadeild HÍ árið 2003, er þessi rannsókn liður í fjölþjóðlegri rannsókn og gæti samanburður á tíðni breytileika í arfgerðum þessa tákna varpað ljósi á mismunandi tíðni CJD í ýmsum löndum og/eða landsvæðum og á þann hátt aukið við þekkingu á áhættuþáttum þessa alvarlega sjúkdóms og afbrigða af honum.

Rannsókuð voru blóðsýni úr 208 heilbrigðum Íslendingum (blóðgjöfum), 104 af hvoru kyni. Erfðaefni (DNA) var einangrað, príongenið fjölfaldað og breytileiki í tákna 129 kannaður með skerðibútagreiningu með Xcel (NspI) skerðiensími. Misstórir DNA-bútarir sjást sem bönd á agarósahlaupi eftir rafdrátt, en hver arfgerð gefur sérstakt bandamynstur.

Af íslenska úrtakinu voru 46,6% arfhrein um metíonín í tákna 129, þ.e. með arfgerðina M/M, arfblendnir M/V voru 44,7% og 8,7% voru arfhreinir fyrir valín V/V. Samsætuhlutfall M:V var 0,69:0,31 og fylgir Hardy-Weinberg jafnvægi.

Helstu niðurstöður voru þær að Íslendingar eru með svipaða dreifingu arfgerða í tákna 129 í príongeninu og grannþjóðir okkar í Evrópu þar sem þessi breytileiki hefur verið kannaður. Tíðni arfgerðarinnar M/M er þó tæplega 10% hærri hjá Íslendingum en Bretum ($p > 0,05$), en fræðilega gæti það gert Íslendinga næmari fyrir vCJD. Tíðni mismunandi arfgerða í tákna 129 hafa verið skoðaðar í ýmsum löndum og kemur ákveðinn stigull fram í arfgerð M/M frá vestri til austurs þ.e. frá Ameríku þar sem hann er lægstur til Mið-Asíulanda þar sem hann mælist hæstur.

V-6

Einangrun og rannsóknir á þroskunar sögu komplementþáttarins C3 hjá þorski (*Gadus morhua* L.) og lúðu (*Hippoglossus hippoglossus* L.)

Sigrún Lange¹, Alister W. Dodds², Slavko Bambir¹ og Bergljót Magnadóttir¹
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²MRC Immunochemistry Unit,
 Department of Biochemistry, University of Oxford

Komplementkerfi fiska er vel skilgreint og gegnir mikilvægu hlutverki í ónæmisviðbrögðum fiska. Komplementþátturinn C3 er lykilprótín í öllum þremur ferlum komplementkerfisins, er bæði aðaláthúðunarþáttur (opsonin) þess og hluti af klippum (convertases) sem ræsa blóðrofsferlið. Mjög lítið er vitað um þroskunar sögu C3 hjá fiskum.

Í þessu verkefni var C3 einangrað úr þorska- og lúðusermi með jónskipta- og gelsíusúluskiljun. Virk C3 alfa-keðja var greind með innlimun methylamine á thioestersvæði hennar og N-enda aminosýrugreining var gerð á alfa-keðjunni og borið saman við þekktar raðir annarra tegunda. Sértek mót efni voru framleidd gegn C3 beta-keðju þorsks og lúðu og notuð við greiningu á C3 með ónæmisvefjaskoðun á þorsklirfum frá 1 – 57 dögum eftir klak (d.e.k.) og á lúðulirfum frá 5 – 99 d.e.k.

Ónæmislitun þorskasneiða greindi C3 í kviðpokahimnu og vöðva frá 1 d.e.k. og í lifur, heila, auga, nýra og maga frá 2 d.e.k. C3 greindist einnig í öðrum líffærum eins og hryggstreng, vélinda, görn, brisi, hjarta og tálknum á seinni stigum. Hjá lúðu greindist C3 fyrst í kviðpokahimnu, vöðva og húð og seinna í lifur, heila, auga, mænu, hjarta, maga og görn og tiltölulega seint í nýra.

Niðurstöðurnar benda til þess að komplement sé ekki aðeins mikilvægur þáttur í ónæmisvörnum heldur gegni líka hlutverki í líffæramyndun.

V-7

Er Apolipoprotein A-I stjórnpótín í komplementkerfi þorsks (*Gadus morhua* L.)?

Bergljót Magnadóttir og Sigrún Lange
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Apolipoprotín (ApoLP) eru fjölbreytilegur flokkur fitutengdra prótína í sermi. ApoLP A-I er hluti af vatnsækinni himnu sem umlykur fitur og er aðalprótínþáttur eðlisþunga fituprótína (high density lipoprotein, HDL). Aðalhlutverk ApoLP A-I er að ræsa lektín-kolesterol-acyltransferasa, ensím sem tekur þátt í kólestról efnaskiptum í sermi. ApoLP A-I gegnir auk þess ýmsum öðrum hlutverkum, t.d. hefur verið sýnt fram á að ApoLP A-I hindri frumurofsferli komplementkerfisins (C5b-9).

Á undanförunum árum hefur komplementkerfi þorsks verið rannsakað að Keldum. Mikilvægur liður í þeim rannsóknum var að einangra og skilgreina þáttinn C3, sem er lykilorð þáttur í öllum þremur ferlum komplementkerfisins, og að framleiða sérvirk mótefni gegn þessu prótíni.

Við hreinsun á C3 kom í ljós að um 30 kDa prótín var tengt við 190 kDa C3 prótínið í öllum vatnsfösum og aðeins rafdráttur í SDS leiddi til aðskilnaðar. Gerð var N-enda amínósýrugreining á 30 kDa prótíninu sem sýndi nána samsvörun við ApoLP A-I úr regnbogasilungi. Einng einangruðust tveir klónar með samsvörun við regnboga ApoLP A-I þegar cDNA safn úr þorskalifur var skimað fyrir C3 með mótefni gegn C3.

Óvenju hitaþolin og öflug blóðrofsvirkni sem eflist enn frekar í lágum styrk af EDTA hefur greinst í sermi ýmissa þorskahópa. Svo virðist sem ApoLP A-I sé í minna magni eða á öðru formi í sermi þessara fiska en í sermi fiska sem sýna lága eða enga blóðrofsvirkni. Einnig hefur verið sýnt fram á að manna ApoLP A-I bælir blóðrofsvirkni jákvæðs þorskasermis.

Sú tilgáta er sett fram að ApoLP A-I gegni hlutverki stjórnpótíns í komplementkerfi þorsks e.t.v. með því að hindra blóðrofsvirkni með vatnsfælinni tengingu við C3 við ákveðnar aðstæður.

V-8

Faraldsfræðilegar rannsóknir á sýkingum í mönnum og skepnum af völdum *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Eggert Gunnarsson¹, Sigrún Guðmundsdóttir², Hjördís Harðardóttir³, Signý Bjarnadóttir¹, Guðbjörg Jónsdóttir¹ og Kolbrún Birgisdóttir¹

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins, ³Sýkladeild Landspítala Háskólasjúkrahúss

Í flestum tilvikum má rekja sýkingar af völdum salmónella sýkla í fólki hér á landi til smits erlendis. Salmónellu sýking í búfænaði er fremur fátíð. Haustið 1999 og fram eftir vetri árið 2000 varð vart við aukna tíðni sýkinga í búfé af völdum *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Greindust veikindi og dauðsföll af völdum þessarar sermisgerðar í hrossum og nautgripum á nokkrum bæjum á Suðurlandi og við nánari athuganir fannst hún einnig á öðrum bæjum í nautgripum, hrossum, sauðfé, hundum og einnig Suðvestanlands í hrossum, hundum, köttum og á kjúklingabúi. Samtímis varð vart við aukningu á sýkingum í fólki af völdum þessarar sermisgerðar. Á seinni árum hefur færst í vöxt að nota sameindaerfðafræðilegar aðferðir í faraldsfræðilegum rannsóknum. Í þessari rannsókn er greint frá slíkri rannsókn á salmónellu stofnum sem voru einangraðir í ofangreindum faraldri.

Rannsóknin nær til 75 stofna af *S. typhimurium*: 37 úr mönnum, 35 úr dýrum (nautgripir, 20; sauðfé, 11; kjúklingar, 1; hundur, 1; köttur, 1), úr niðurfalli í sláturhúsi (2 stofnar) og innfluttum matvælum (1 stofn).

Með PFGE aðferð og fagatýpun tókst að greina stofnana 75 í 18 undirstofna. Af þessum 75 rannsökuðum stofnum reyndst 63 (84%) vera einn og sami undirstofn.

Niðurstöður benda til þess að uppruna langflestra sýkinga í mönnum á tímabilinu megi rekja til sýkra dýra.

Heimild

Sigrún Guðmundsdóttir, Hjördís Harðardóttir and Eggert Gunnarsson. Subtyping of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium outbreak strains isolated from humans and animals in Iceland. *Journal of Clinical Microbiology* 2003, 23 (10), 4833-4835.

V-9

Samanburður á tveimur ræktunaraðferðum til einangrunar á *Campylobacter* úr alifuglum

*Sigríður Hjartardóttir*¹, *Eggert Gunnarsson*¹, *Vala Friðriksdóttir*¹, *Kolbrún Birgisdóttir*¹,
*Signý Bjarnadóttir*¹, *Guðbjörg Jónsdóttir*¹, *Norman J. Stern*² og *Jarle Reiersen*³
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²PMSRU-ARS-USDA, Athens, Georgia, USA, ³Embætti yfirdýralæknis

Á Keldum er unnið að eftirliti með *Campylobacter* spp. í kjúklingum. Fram til ársins 2001 var stuðst við NMKL aðferð sem byggir á forræktun bakteríunnar í Preston broði og áframhaldandi ræktun á modified CCD agar.

Árið 2001 urðum við þátttakendur í alþjóðlegu *Campylobacter* verkefni þar sem beitt var annarri aðferð við einangrun bakteríunnar. Þar eru sýnin þynnt og þeim síðan sáð beint á Campy-Cefex agarskálar og forræktun sleppt. Rannsókn okkar byggir á samanburði á þessum tveim aðferðum við einangrun bakteríunnar. Frá maí 2001 til desember sama ár voru aðferðirnar keyrðar samhliða til að meta hvor aðferðin væri næmari.

Ef litið er á heildarsýnafjölda gáfu báðar aðferðirnar sömu niðurstöðu í 98% tilfella, hvort sem litið var á niðurstöðurnar út frá sláturhópum eða einstaka sýnum. Campy-Cefex aðferðin sker sig þó úr með því að taka styttri tíma eða 48 klst í stað 72 klst fyrir NMKL aðferðina auk þess sem hún greinir fjölda baktería í sýni. Campy-Cefex aðferðin getur því, auk staðfestingar á smiti, gefið upplýsingar um smitmagnið sem er í umferð hverju sinni.

V-10

Genamengi mismunandi tegunda og stofna af ættkvíslinni *Aeromonas* hafa basaraðir apzincin metalloendopeptidasans AsaP1, sem er úteitur *A. salmonicida* ssp. *achromogenes*, en framleiða ekki ensímið vegna fasaskiptabreytinga

Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir, Íris Hvanndal, Helga Árnadóttir og Valgerður Andrésdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Ættkvíslinni *Aeromonas* af ættinni Aeromonadaceae tilheyra ýmsar tegundir baktería sem lifa bæði í fersku vatni og sjó. Bakteriur af ættkvíslinni hafa verið þekktar sem sýklar í fiskum og spendýrum í meira en öld og sem sjúkdómsvaldar í mönnum í meira en hálföld. Með nýjum rannsóknum er flokkunarfræði þessara baktería sífellt að breytast og nokkrum nýjum tegundum hefur verið lýst á síðastliðnum áratug. *A. hydrophila* er þekkt sem sýkill bæði í mönnum og dýrum en *A. salmonicida* er vel þekktur fisksýkill. Aukinn skilningur á sýkingarmætti einstakra bakteriútegunda er mikilvægur fyrir aukinn skilning á líffræði þessara baktería. AsaP1, er mikilvægt úteitur ýmissa *A. salmonicida* stofna. Eitrið er 19 kDa peptíðasi, sem tilheyrir fjölskyldu apzincin málmpeptíðasa (M35 í MEROPS gagnagrunni).

Fjölskyldu apzincin málmpeptíðasa var lýst í fyrsta sinn árið 1999. Þeir hafa aa raðirnar **HExxH** og **GTxDxxYG** í virkniseti, þar sem feittruðu stafirnir tákna zinkbindla. AsaP1 er fyrsta ensím fjölskyldunnar sem hefur verið skilgreint sem bakteriúteitur.

Markmið verkefnisins var að kanna tíðni arfgerðar og svipgerðar *asaP1* gensins meðal 44 *Aeromonas* stofna.

Stofnasafnið samanstóð af einkennisstofnum *A. bestarium*, *A. caviae*, *A. hydrophila* og fimm undirtegunda *A. salmonicida*, þremur *A. hydrophila* stofnum úr sjúkum fiski og 33 *A. salmonicida* stofnum úr mismunandi fisktegundum víðsvegar um heiminn. *E. coli* stofn var notaður sem neikvætt viðmið. DNA allra stofnanna var einangrað með hefðbundnum aðferðum og notað í PCR-próf og til raðgreininga. Við raðgreiningu *AsaP1* gensins var notað DNA *A. salmonicida*, stofns 265-87, og var sú röð notuð sem viðmið við gerð þreifara fyrir öll PCR-próf. Tvö mismunandi þreifarapör voru notuð við mögnun *AsaP1* gensins. Þar sem magnaði opinn lesamma (ORF) og þar sem magnaði virkniset ensímsins. Samanburðar-raðgreining var gerð á ORF valinna stofna. Útensímalausnir allra stofna voru einangraðar frá bakteríum ræktuðum á sellófanþöktum agarskálum. Einstofna mótéfnir framleidd gegn *AsaP1* stofns 265-87 voru notuð í ELISA prófi til að greina ensímið í útensímalausnum. Ennfremur voru útensímalausnir rafdrengar í SDS-PAGE með hvarfefninu kaseíni (zymogram) og hlaupin lituð neikvætt með comassie bláum lit. Til að kanna skyldleika *AsaP1* við önnur ensím í apzincin fjölskyldunni var gert skyldleikatré með aðstoð tölvuforríts.

Niðurstöður sýndu að PCR afurð fékkst frá öllum stofnunum með þreifurum sem mögnuðu upp zinkbindiset ensímsins. *AsaP1* ORF var magnað hjá 39 stofnum, en aðeins 18 þeirra seyttu líka ensíminu. Fjórir stofnar voru neikvæðir í PCR mögnun á *AsaP1* ORF og í ELISA prófi. Samanburðarraðgreining á *AsaP1* ORF tíu *A. salmonicida* stofna leiddi í ljós fasaskiptabreytingar í *AsaP1* geni, sem skýrir vöntun á afurð þess. *AsaP1* hefur 87% aa samsvörun við EprA1 peptíðasa *A. hydrophila* og 45% samsvörun við peptíðasa ætisveppsins *Grifola frondosa*.

Gen *AsaP1* bakteriúeitursins er þróunarsögulega vel varðveitt og er ekki bundið við tegundina *A. salmonicida*.

V-11.

Þættir í sermi sem hindra mæði-visnuveiruna

Benedikta S. Hafliðadóttir, Sigríður Matthíasdóttir, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir, Ólafur S. Andrésson, Guðrún Agnarsdóttir, Bjarni Ásgeirsson og Valgerður Andrésdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum.

Sermi úr ýmsum spendýrum hafa hindrandi áhrif á vöxt mæði-visnuveiru. Sýnt hefur verið fram á að þessi veiruhindri er ekki mótefni. Í þessari tilraun voru athuguð áhrif lamba- og kálfaserms á tvo klónaða mæði-visnustofna, stofnana KV1772kv72/67 og LV1-1KS1, sem báðir eru einangraðir úr tilraunakindum á Keldum og eru mjög líkir; aðeins 1% munur er á erfðæfni þeirra.

Æðaflækjufrumur voru sýktar með röð af tvöföldum veiruþynningum og ræktaðar í æti með 5% lambasermi eða 5% kálfasermi, og vöxturinn borinn saman við sömu veiruþynningar í 1% lambasermi.

Í ljós kom að bæði lambasermi og kálfasermi hafði hindrandi áhrif á vöxt mæði-visnuveiru og var hindrunin 10-100 falt meiri í kálfasermi en lambasermi. Mæði-visnustofninn LV1-1KS1 var u.þ.b. 100 falt næmari fyrir sermi en stofn KV1772kv72/67. Ýmsar blendingsveirur af þessum tveimur stofnum voru einnig prófaðar, og kom í ljós að sermisnæmið fylgdi erfðæfnisbút sem náði yfir hluta af *env* geni. Kálfasermi var hlutað með hlaupsíun og jónaskiptaskilju, og veiruhindrandi áhrif mismunandi hluta athuguð. Hlutar með veiruhindrandi virkni voru greindir í massagreini. Fetuin var áberandi í þessum hlutum. Fetuin var því keypt og virkni þess prófuð, en það reyndist ekki hafa veiruhindrandi áhrif. Enn er því ekki vitað hvaða þáttur í sermi hefur veiruhindrandi áhrif.

V-12

Sjúkdómseinkenni í sandhverfu (*Scophthalmus maximus*) sýktri með kýlaveikibróður og vetrarsárum

*Bryndís Björnsdóttir, Slavko H. Bambir, Sigríður Guðmundsdóttir og
Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Eldi sandhverfu (*Scophthalmus maximus*) er nýlega hafið á Íslandi. Kýlaveikibróðir, *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* (Asa) og vetrarsár, *Moritella viscosa* (Mv) hafa valdið vandræðum í íslensku fiskeldi og hefur verið sýnt fram á næmi sandhverfu fyrir báðum tegundunum með tilraunasýkingu. Markmið rannsóknarinnar voru að lýsa sjúkdómseinkennum í sandhverfu sýktri með kýlaveikibróður (Asa) eða vetrarsárum (Mv).

Sandhverfuseiði (50 g) voru sýkt með sprautun mismunandi bakteríulausna, Asa eða Mv, í vöðva. Fiskinum var haldið í 500 L kerum við 9°C og dauði skráður daglega. Sýking var staðfest með ræktun viðkomandi bakteríu úr framnýra. Vefjasýni úr sjúkum og deyjandi fiski voru tekin, steipt í paraffín, Giemsa lituð og skoðuð í smásjá. Allar sjúklegar breytingar sem sáust voru skráðar.

Dauði hófst 10 dögum eftir sýkingu með Asa en 4 dögum eftir sýkingu með Mv. Asa sýkt sandhverfa var með sár við stungustað og blæðingar kringum kjaft. Í kviðarholi sást gulleitur vökvi og blæðingar í lifur. Bakterían sást í ýmsum innri líffærum og blæðingar og vefjaskemmdir voru umtalsverðar. Mv sýkt sandhverfa var með stór opin sár við stungustað, hreisturlos, þaninn kvið og blæðingar kringum kjaft. Gulleitur vökvi var í kviðarholi, rot í holdi og stundum blæðingar í lifur. Aukin blóðsókn sást í lifur, nýra og milta en bakterían sást ekki við smásjárskoðun nema í vöðva.

Sjúkdómseinkenni sandhverfu sýktri með Asa eða Mv líkjast þeim sem áður hefur verið lýst í laxfiskum með kýlaveikibróður eða vetrarsár. Sjúkdómseinkenni sandhverfu voru þó vanalega ekki eins áberandi. Ekki var hægt að greina á milli Asa og Mv sýkinga í sandhverfu, nema með ræktun viðkomandi bakteríu úr framnýra. Sjúkdómseinkennum Asa og Mv sýktrar sandhverfu hefur ekki verið lýst áður.

V-13

Bólusetning sandhverfu (*Scophthalmus maximus*) gegn kýlaveikibróður og vetrarsárum

*Bryndís Björnsdóttir, Sigríður Guðmundsdóttir, Bergljót Magnadóttir og
Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Sandhverfa (*Scophthalmus maximus*) er mikilvæg eldistegund í Evrópu og er eldi hennar nýlega hafið á Íslandi. Hérlendis hafa kýlaveikibróðir, *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* (Asa) og vetrarsár, *Moritella viscosa* (Mv) valdið miklum vandræðum í fiskeldi og hefur verið sýnt fram á næmi sandhverfu fyrir báðum tegundunum með tilraunasýkingu. Erlendis hafa bakteríusýkingar valdið usla í sandhverfueldi, þar á meðal sýkingar af völdum atýpískra *A. salmonicida* stofna en *M. viscosa* hefur ekki einangrast úr sandhverfu. Markmið rannsóknarinnar var að kanna hvort markaðssett laxabóluefni gæti varið sandhverfu gegn Asa og Mv sýkingum.

Sandhverfuseiði (50 g) voru bólusett við 14°C með fjölgildu laxabóluefni, Alphaject 5200, sem meðal annars inniheldur afvirkjaðar ræktir af *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* og *M. viscosa* og olíuónæmisglæði. Bóluefnið er notað hérlendis gegn kýlaveikibróður og vetrarsárum í laxi. Sandhverfur sprautaðar með saltdúalausn eða olíuónæmisglæði voru notaðar sem neikvæð viðmið. Fiskurinn var sýktur 13 vikum eftir bólusetningu með sprautun mismunandi bakteríulausna, Asa eða Mv, í vöðva. Fylgst var með fiskinum í fimm vikur, dauði skráður daglega og sýking staðfest með ræktun viðkomandi bakteríu úr framnýra. Sjö og ellefu vikum eftir bólusetningu var fiskurinn veginn, samgróningar í kviðarholi metnir og sermi safnað. Mótefni í sermi gegn Asa og Mv voru metin með ELISA prófi.

Bólusetning með laxabóluefninu Alphaject 5200 varði sandhverfu hvorki gegn Asa né Mv sýkingu. Hækkað mótefnasvar í sermi gegn Asa mældist eftir bólusetningu. Mótefni gegn Mv voru lág eftir bólusetningu en hækkuðu eftir sýkingu með bakteríunni. Ekki var marktækur munur á þyngd bólusetts og óbólusetts fisks en vægir samgróningar í kviðarholi sáust í bólusettum fiski og fiski sprautuðum með olíuónæmisglæði.

Niðurstöður rannsóknarinnar benda til þess að breyta þurfi markaðssetta laxabóluefninu Alphaject 5200 og/eða bólusetningaraðferðinni til að hægt sé að nýta það í sandhverfu gegn Asa og Mv sýkingum.

V-14

Rannsókn á sníkjudýrum urriða (*Salmo trutta*) og bleikju (*Salvelinus alpinus*) í Elliðavatni og Hafravatni

Árni Kristmundsson og Sigurður H. Richter
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Hafist hefur verið handa við úttekt á sníkjudýrum urriða og bleikju í Elliðavatni og Hafravatni. Bæði vötnin eru í nágrenni Reykjavíkur, þau eru svipuð að flatarmáli (1,8 og 1,1 ferkílómetrar) og með ám sem renna í þau og síðan úr þeim álíka langa leið til sjávar. Elliðavatn er þó með leirbotni og hámarksdýpt þess er tæpir 2 metrar en Hafravatn er með grýtta fjöru og hámarksdýpt er 28 metrar. Lífsskilyrði í þessum vötnum eru því sennilega talsvert ólík. Auk urriða og bleikju er að finna í þessum vötnum hornsíli (*Gasterosteus aculeatus*), ál (*Anguilla anguilla*) og lax (*Salmo salar*).

Urriði og bleikja eru veidd í gildirur, á tveimur mismunandi árstímum; vor og haust. Sníkjudýr sem finnast eru greind til tegundar eða ættkvíslar, fjöldi þeirra er talinn eða metinn og athugað hvort munur kemur fram í tegundasamsetningu og tíðni milli vatna og/eða árstíma. Sérstök áhersla er lögð á að leita að einfrumungum en fram til þessa hefur vitneskja varðandi þá verið takmörkuð.

Nú þegar hafa 18 tegundir verið greindar í þessari rannsókn. Fjórar tegundir eru enn ógreindar.

Einfrumungar: *Capriniana piscium*, *Trichodina* sp., *Hexamita salmonis*, *Dermocystidium branchiale*, *Chloromyxum truttae*, *Myxobolus arcticus*, *M. cerebralis* og *M. neurobius*.

Fjölfrumungar: *Diplostomum spathaceum*, *Apatemon gracilis*, *Crepidostomum farionis*, *Phyllodistomum conostomum*, *Diphyllobothrium* sp., *Eubothrium crassum*, *E. salvelini*, *Philonema* sp., *Capillaria salvelini* og *Salmincola* sp.

Allar fjölfruma tegundirnar hafa áður greinst á Íslandi en 4 einfruma tegundanna greinast nú í fyrsta skipti hér á landi. Teknar hafa verið smásjármyndir af öllum tegundum sem fundist hafa og verða þær, ásamt sýnum, notaðar til staðfestingar á réttum greiningum og til samanburðar við tegundir fundnar annarsstaðar.

Veggspjaldið sýnir myndir af fundnum sníkjudýrategundum.

V-15

Sýkingar af völdum einfruma sníkjudýra í ásetningsgimbrum með áherslu á tegundasamsetningu og árstíðasveiflu hnísla (*Eimeria* spp.) í hjörðinni

*Karl Skírnisson*¹, *Berglind Guðmundsdóttir*¹ og *Hákon Hansson*²

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²Ásvegi 31, 760 Breiðdalsvík

Um árabíl hafa alvarlegar niðurgangssýkingar hrjáð lömb í Fossárdal í Suður Múlasýslu á haustin og hafa sum lambanna drepist þrátt fyrir margvíslegar tilraunir með lyfjagjafir. Sláturlömb hafa sum hver fengið skitu eftir nokkra daga dvöl á láglendi. Sömu sögu er að segja um ásetningsgimbrar og síðheimtungu sem oft veikjast þó ekki fyrr en húsvist er hafin um eða eftir miðjan október. Grun

Til að kanna þátt sníkjudýra í þessum sýkingum, einkum þó hnísla *Eimeria* spp., voru í september 2002 valdar til rannsókna 10 ásetningsgimbrar um leið og þær komu af fjalli. Tekin voru úr þeim saursýni á fjögurra daga fresti frá 23. september til 10. nóvember og eftir það einu sinni eða tvisvar í mánuði allt þar til gemsunum var aftur sleppt á fjall í byrjun júlí 2003 með um það bil sex vikna gömlum unglömbum sem gemlingarnir höfðu borið veturgamlir. Alls voru sýnatökuskiptin 23. Saursýni voru rannsökuð með þremur aðferðum: Í fyrsta lagi var beitt FECM botnfellingaraðferð á 5-7 sýni úr hverju lambi sem tekin voru fram eftir hausti og þolhjúpur einfumunga og egg orma í skítnum greind til tegunda við ljóssmásjárskoðun. Í öðru lagi var leitað í þessum sýnum að þolhjúpum *Giardia* sp. og *Cryptosporidium* sp. með ónæmislitun (MeriFluor®). Þriðju aðferðinni, magnbundinni McMaster saltfleytiaðferð, var beitt á öll sýni. Hnísar voru látnir mynda gró á tveimur vikum við stofuhita í 3% K₂Cr₂O₇ lausn þannig að hægt yrði að greina tegundirnar. Fylgst var með árstíðabreytingum á tegundasamsetningu hnísla í þremur gimbranna. Í júlí var einnig gerður samanburður á hníslategundum í unglömbum og mæðrum. Þar sem gemlingarnir fengu engin sníkjudýra- eða bakteríudrepandi lyf meðan á rannsókninni stóð er niðurstöðunum ætlað að endurspeglu eðlilegar árstíðasveiflur. Sníkjudýra- og bakteríusýkingar voru einnig rannsakaðar í 11 viðbótarlömbum sem fengu skitu á haustmánuðum 2002.

Að hausti og framan af vetri fundust þolhjúpur *Giardia* sp. í öllum ásetningsslömbunum og í flestum viðbótarlambanna. Mikill breytileiki var á þolhjúpafjölda í einstökum lömbum, allt frá örfáum, upp í hundruð eða þúsundir þolhjúpa í hverju skoðuðu sýni. *Cryptosporidium* sp. fannst í litlu magni í sýnum úr tveimur ásetningsgimbrum (20%). Þolhjúpur amöbunnar *Entamoeba ovis* fundust í öllum sýnum sem skoðuð voru en tegundin er talin vera skaðlaus. Tíu hníslategundir fundust í hjörðinni og reyndist hver og ein vera í öllum lömbum á bænum þar sem að var gáð. Tegundirnar voru þó misalgengar. Sumar voru hlutfallslega algengastar framan af vetri, aðrar um miðjan vetur og enn aðrar sýndu toppa undir vor. Tvær þeirra þriggja tegunda sem erlendis eru þekktar af því að vera hvað mestir sjúkdómsvaldar í sauðfé voru í fyrsta og öðru sæti í hjörðinni hvað algengi varðaði. Þannig nam hlutdeild *Eimeria ovinoïdalis* í rannsókninni í heild 40,7% en *Eimeria bakuensis* 18,9%. Þriðji þekkti sjúkdómsvaldurinn, *Eimeria ahsata* var í fimmta sæti með 5,6% heildarhlutdeild þannig að 65,2% allra hnísla sem greindir voru til tegunda tilheyrta þekktum sjúkdómsvöldum.

Engin einföld skýring fannst á orsökum skitu í haustlömbum á bænum. Sum þeirra lamba sem runnu út í sótt eftir nokkra daga á túni voru með mikið magn *Giardia* þolhjúpa í saur. Flest lömbin fengu misalvarlega hníslasótt í október sem varði fram í nóvember og jafnvel desember hjá sumum lambanna. Öll jöfnuðu þau sig af sjálfsdáðum. Ekki er ljóst hvað gerist hjá lömbum sem ekki jafna sig af sjálfsdáðum af sníkjudýrasýkingum en líkur benda til að viðnám þeirra sé á einhvern hátt skert og aðrir sjúkdómsvaldar komi þar einnig við sögu.

Verkefnið hlaut styrk úr Framleiðnisjóði landbúnaðarins.

V-16

Iðrahníslar í hreindýrskálfum - Lýsing áður óþekkrar tegundar og endurlýsing á *Eimeria mayeri*

*Berglind Guðmundsdóttir og Karl Skírnisson
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Einfrumu snikjudýr af ættkvíslinni *Eimeria* eru nefnd hníslar. Oftast lifa hníslar í þekjufrumum í meltingarvegi þótt sumir hníslar leggist á önnur líffæri. Lífsferillinn er beinn. Hvað iðrahnísla varðar smitast ósýkt dýr við að fá ofan í sig þolhjúpa sem upprunnir eru úr saur smitaðra einstaklinga. Í meltingarvegi rofna þolhjúpar utan af snikjudýrinu sem tekur til við að fjölga sér kynlaust í þekjufrumum þarmanna. Við óhagstæðar umhverfisaðstæður geta miklar sýkingar magnast upp og dýrin, einkum þó ungvíði, fengið heiftarlegan niðurgang sem gengur undir nafninu hníslasótt.

Í hreindýrum *Rangifer tarandus* eru þekktar fimm tegundir hnísla. Hníslarnir fundust í saursýnum sem safnað úr hreindýrum var í norðvestur Rússlandi og þarlendir vísindamenn rannsökuðu og lýstu á árunum 1935 til 1939. Tegundalýsingarnar eru þó það ófullkomnar að sérfræðingar sem á síðari árum hafa rekist á hnísla við snikjudýraathuganir á hreindýrum, meðal annars í Skandinavíu, á Grænlandi og í Kanada, hafa ekki treyst sér til að segja hvort þar hafa verið á ferðinni tegundir sem áður hafði verið lýst eða hvort þar eru á ferðinni áður ókunnar tegundir.

Forfeður íslenskra hreindýra komu frá Finnörku í Noregi fyrir ríflega tveimur öldum. Nýlegar rannsóknir hafa sýnt að hreindýr þar um slóðir eru sýkt af iðrahníslum. Þar sem hníslar fylgja gjarnan hýslum sínum hvert á land sem er var ákveðið að kanna hvort íslensk hreindýr væru smituð af hníslum. Væri sú raunin mætti ganga út frá því að hníslarnir hefðu borist til Íslands þegar við innflutning dýranna 1787 og ekki dáíð út þótt svo að íslenski hreindýrastofninn hafi komist í útrýmingarhættu á fyrri hluta 20. aldarinnar.

Sumarið 2003 var safnað 195 saursýnum úr hreindýrskálfum sem héldu til á Heinabergsdal á Mýrum, á Gerpissvæðinu og á Snæfellsöræfum. Spörðum var safnað í þremur sýnatökuferðum á hvert þessara svæða. Leitað var í sýnunum að hníslum með McMaster saltfleytiaðferð.

Þolhjúpar tveggja misstórra tegunda fundust. Minni hnísillinn er talin vera tegundin *Eimeria mayeri* sem lýst var árið 1936 í norðvestur Rússlandi. Fannst hún á öllum rannsóknarsvæðunum en var alls staðar sjaldgæf. Stærri tegundin fannst bæði á Snæfellsöræfum og á Heinabergsdal en einungis í sitt hvorum kálfinum. Þarna var á ferðinni tegund sem ekki hafði áður verið lýst í vísindaheiminum. Lýsingu tegundarinnar er lokið og bíður ritgerð um viðfangsefnið birtingar. Á sama hátt var *Eimeria mayeri* endurlýst og ýmis útlitseinkenni tilgreind sem talið er að höfundunum sem upphaflega lýstu tegundinni hafi yfirsétt.

Verkefnið hlaut styrk frá Nýsköpunarsjóði námsmanna með mótframlagi frá veiðistjórnunarsviði Umhverfisstofnunar. Þá var verkefnið tilnefnt til Nýsköpunarverðlauna forseta Íslands þar sem það hlaut sérstaka viðurkenningu.

V-17

Ormategundir í skötusel (*Lophius piscatorius*) við Ísland

*Matthías Eydal*¹ og *Droplaug Ólafsdóttir*²

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²Hafrannsóknastofnunin

Skötuselur (*Lophius piscatorius*) finnst í Miðjarðarhafinu og í norðaustanverðu Atlantshafi allt til Noregs og Íslands. Við Ísland finnst fiskurinn fyrst og fremst í hlýsjónum frá Suðausturlandi til Vesturlands. Fremur takmarkaðar rannsóknir liggja fyrir um sníkjudýr í skötusel. Markmið verkefnisins var að kanna hvaða ormategundir finnast í meltingarfærum skötusels hér við land.

Skoðuð voru meltingarfæri úr 34 skötuselum (lengd 21-119sm) sem voru veiddir við sunnan og suðvestanvert land á 120-340m dýpi árið 1995. Leitað var að fjölfruma sníkjudýrum, fjöldi einstaklinga talinn eða metinn og sýkingartíðni einstakra tegunda ákvörðuð. Kannað var hvort munur væri á sýkingum milli stórra og smárra fiska og hvort samband væri milli fjölda orma og fisklengdar.

Alls fundust a.m.k. 18 tegundir sníkjuorma: Ögður (*Digenea*); *Derogenes varicus*, *Lecithaster gibbosus*, *Otodistomum* sp., *Prosorhynchoides gracilescens*, *Stephanostomum* sp., *Steringophorus furciger* og *Zoogonoides viviparus*. Bandormar (Cestoda); *Grillotia* sp. og *Tetraphyllidea* lirlfur. Þráðormar (Nematoda); *Anisakis simplex*, *Capillaria* sp., *Contracaecum* sp./*Phocascaris* sp., *Hysterothylacium aduncum*, *H. rigidum*, *Hysterothylacium* sp., *Pseudoterranova decipiens*, *Spinitectus* sp. og óþekktur þráðormur. Krókhöfði (*Acanthocephala*); *Echinorhynchus gadi*.

Einstaklingsfjöldi og sýkingartíðni einstakra tegunda var mjög breytileg. Ekki reyndist marktækur munur á einstaklingsfjölda stakra tegunda milli smárra og stórra fiska.

Aðhvarfsgreining sýndi þó að fjöldi *P. gracilescens* agða jókst marktækt með lengd fiska.

Flestar þeirra ormategunda sem áður höfðu greinst í skötusel fundust í þessari rannsókn. Helmingur tegundanna sem fannst hafði hins vegar ekki áður verið staðfestur í skötusel.

Rannsóknin var að hluta styrkt af Rannsóknasjóði Háskóla Íslands.

V-18

Tegundir *Trichodina* bifdýra í íslensku þorskeldi - Umfang og áhrif á þrif þorskseiða

*Árni Kristmundsson, Matthías Eydal, Slavko H. Bambir og Sigurður Helgason
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Tilraunaeldi á þorski er hafið hér á landi og fer áhugi vaxandi. Mörgum spurningum er ósvarað, svo sem hvaða sjúkdómsvalda megi vænta og hver áhrif þeirra verði. Niðurstöður sem hér eru kynntar eru hluti af stærra verkefni, en þar er fylgst með sjúkdómum í íslensku þorskeldi.

Fylgst er með þróun *Trichodina* bifdýrasýkinga í eldi villiseiða; tegundir greindar, umfang metið og áhrif á þrif seiðanna rannsökuð.

Slembiúrtak ($n=30$) óbaðaðra eldisseiða var rannsakað. Holdstuðull var ákvarðaður út frá lengd og þyngd. Hlutfall *Trichodina* tegunda var metið og þéttleiki ákvarðaður (fjöldi/ sm^2 á roði og ugga, fjöldi/tálknboga). Samband holdstuðuls og umfangs sýkinga var kannað með aðhvarfsgreiningu. Sýkingar á tveimur hópum (baðaðra og óbaðaðra) verða síðar bornar saman og fylgst með áhrifum sýkinga á þrif.

Tvær bifdýrategundir greindust, *Trichodina cooperi* og *T. murmanica*. 60% bifdýranna reyndust vera *T. murmanica* en mikill breytileiki var milli seiða og svæða á fiski. Meðalþéttleiki bifdýra var 96,2 dýr/ sm^2 á roði (0,7-1476 dýr/ sm^2), 75,9 dýr/ sm^2 á ugga (0-1111) og 18,8 dýr/tálknboga (0-111). Marktækt neikvætt samband var milli þéttleika og holdstuðuls á roði og á tálknnum en ekki á ugga.

Niðurstöður gefa vísbendingar um að *Trichodina*-sýkingar hafi neikvæð áhrif á þrif þorskseiða í eldi.

Athugasemd: Mynd af sníkjudýrinu *Trichodina cooperi* prýðir forsiðu þessa heftis. Myndina tók Árni Kristmundsson.

V-19

Sníkjudýr í þorskseiðum í strandeldi

Matthías Eydal, Árni Kristmundsson, Slavko H. Bambir og Sigurður Helgason
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Tilraunaeldi á þorskseiðum er nýlega hafið hér á landi. Annars vegar er um að ræða eldi á seiðum sem eru veidd við strendur landsins og hins vegar seiðaeldi af hrognum úr villtum þorskum, sem klakin eru í eldisstöð. Í eldinu mun óhjákvæmilega verða vart sníkjudýrasýkinga af ýmsum toga. Í nýlegri rannsókn okkar á villtum þorskseiðum í Ísafjarðardjúpi greindust a.m.k. 26 tegundir sníkjudýra og fundust 15 þeirra þegar í 6 mánaða gömlum seiðum. Markmið þessa verkefnis er að rannsaka hvaða sníkjudýrasýkingar finnast í strandeldi þorskseiða og að meta áhrif þeirra á heilsufar seiðanna.

Þorskseiðin voru veidd í Ísafjarðardjúpi haustið 2002 (um 6 mánaða gömul) og þá að meðaltali um 4g á þyngd. Þau voru alin í 100-200g þyngd og flutt í sjókvíar snemmsumars 2003.

Eftirtalin 17 sníkjudýr greindust í seiðunum:

Protozoa (frumdýr): Ciliata (bifdýr): *Trichodina cooperi*, *T. murmanica*. Flagellata (svipudýr): *Ichthyobodo* sp. og svipudýr í þvagblöðru (ógreint). Myxosporea: *Myxidium* sp. og *Zschokkella* sp. Microsporidia: *Loma* sp.

Fjölfrumungar: Monogenea (ytri ögður): *Gyrodactylus* sp. Digenea (innri ögður): *Brachyphallus crenatus*, *Derogenes varicus*, *Lepidapedon elongatum* and *Podocotyle atomon*. Cestoda (bandormar): “plerocercoid” lirlfur. Nematoda (þráðormar): *Anisakis simplex* og *Hysterothylacium aduncum*. Crustacea (krabbadýr): *Caligus* sp. and *Clavella adunca*.

Aðrar sýkingar: Svokölluð X-frumu æxli í gervitálknium af óþekktum orsökum og vörtur í roði (veirusýking) fundust einnig. *Trichodina* spp., *Loma* sp. og hugsanlega *Ichthyobodo* sp., ásamt X-frumu æxlum ollu sjúkdómseinkennum í seiðunum á þessu tímabili.

Eins og búast mátti við þá eru sníkjudýr með einfaldan lífsferil (án millihýsla) líklegust til að valda vandræðum í eldi í strandkerum. Umfang og afföll af völdum sníkjudýra, svo sem af völdum *Loma* sp., voru meiri en búist var við. Lítið virðist vitað um áhrif sýkinga af völdum *Trichodina* bifdýra á þorsk. Niðurstöður okkar benda til að bifdýrin hafi marktæk neikvæð áhrif á holdstuðul seiða.

Rannsóknum á sjúkdómsvöldum í eldi þorskseiða er haldið áfram.

Verkefnið er styrkt af sjávarútvegsráðuneytinu.

V-20

Athugun á heilbrigði hreindýra í Lapplandi og víðar

Sigurður Sigurðarson

Embætti yfirdýralæknis, Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum og NVH/Institutt for arktisk veterinærmedisin, Tromsø, Noregi

Algennt er að hálf tamin hreindýr falli í óeðlilega stórum stíl að vetri í byggðum Sama í Lapplandi, einnig sunnar í Noregi. Fljótt á litið virðast dýrin annað hvort drepast úr hor eða vera drepin af rándýrum. Ítarleg könnun á kvillum og sjúkdómum sem hrjá hreindýrin hefur ekki farið fram en gæti komið að gagni til að finna raunhæfar leiðir til að draga úr tjóni og auka arð eigendanna. Rannsókn á dýrum, sem drepast er ýmsum erfiðleikum bundin. Könnun á „heilbrigðum“ sláurdýrum er auðveldari í framkvæmd, getur gefið mynd af ástandi viðkomandi hjarðar, og stuðlað að markvissum aðgerðum. Höfundur hefur nokkra reynslu af slíkri könnun á heilsufari fjárhjarða. Þessa reynslu var áformað að nota til athugunar á hreindýrum, sem færð væru til slátrunar í Lapplandi.

Tilgangurinn var sá að afla upplýsinga um ástand hreindýrahjarða í Lapplandi og á suðursvæði Sama í grennd við Røros til undirbúnings ítarlegri athugun seinna. Til samanburðar skyldi safna sýnum við slátrun hreindýra á fjalli í Finnmörku, dýra úr Gudbrandsdal, sýni úr villtum hreindýrum frá veiðum í Setesdal, einnig dýra á Svalbarða, Finnlandi og Svíþjóð. Áformað var að safna heilasýnum úr allt að 1000 hreindýrum til leitar að sjúkdómum í riðuflokki, sem kynnu að leynast í norsku hreindýrunum.

Fylgst var með slátrun, líffæri skoðuð og sýnum safnað úr 200 hreindýrum í Karasjok í byrjun mars 2003 og 250 hreindýrum í Røros í desember. Um mánaðamótin febrúar og mars 2004 var fylgst með slátrun um 500 hreindýra í Kautokeino, Karasjok og Sussejærvi í Finnmörku. Upplýsingum var safnað um nöfn og heimili eigenda, aldur og kyn dýranna, sumarheit og vetrarheit flokkanna, flutning til sláturhúss, holdafar og sláturþunga. Tekin voru sýni: Framtennur (100 dýr), blóðsýni (300 dýr), heilasýni (660 dýr), vefjasýni (100 dýr), saursýni (100 dýr), 100 hausar af fullorðnum dýrum og 5 kálfum. Auk þess allt afbrigðilegt. Myndir teknar af öllu sjúklegu. Úrvinnsla er í gangi, sumu er lokið og skoðun stendur yfir. Frekari úrvinnslu verður hagað með ýmsum hætti og á ýmsum stöðum vegna aðstæðna.

Við líffæraskoðun komu óvænt í ljós skemmdir á slímhúð magans í hluta dýranna. Í 30% hreindýranna voru blæðingar og sár (vinstrarsár) og mikil tíðni af magabólgu, um 90% af fullorðnum dýrum 70% af kálfum. Bólgur í heilahimnum og í heilavef fundust í uþb. 90% dýranna. Líkur bentu til að orsökinni væri heilaormurinn *Elaphostrongylus rangiferi*, sníkjudýr sem leggst á heila og mænu. Blæðingar voru algengar í slímhúðarfellingum ofarlega í vinstur hreindýranna (streita). Hins vegar voru svo sár, sem líkjast magasárum í fólki. Stofnað hefur verið til samvinnu við rannsóknarfólk við háskólasjúkrahúsið í Tromsø, sem hefur reynslu af athugun og meðferð magasára í fólki. Ekki hefur enn tekist að rækta bakteríur eins og þær sem eiga sök á magasárum í fólki en við athugun á vefjasýnum sjást bakteríur í magaslímhúð, sem bera útlit *Helicobacter pylori*. Sú baktería er erfið í ræktun. Leiðin frá Kautokeino og Røros til Tromsø hefur etv. verið full löng til þess að ræktunin heppnaðist. Gerð verður frekari tilraun til ræktunar. Upplýst hefur verið að sýking með *Helicobacter* í fólki er mun algengari í Karasjok en í Tromsø. Vinstur hreindýranna eru sérstakt hnossgæti Samanna. Þær eru notaðar til matargerðar og hafðar undir blóðpylsu eða blóðmör. Gæti verið samhengi þar á milli? Framhaldið væri þá að bera saman sýklstofna úr hreindýrum og fólki.

Verkefninu er ekki lokið en vonandi verður unnt að halda því áfram árið 2004.

Lógó eftirtalinna aðila:

Menntamálaráðuneytið

Gróco hf.

Íslandsbanki

Austurbakki

Samskipti ehf.

Prentmet

Penninn