



Miljø-DNA-analyse gir tidlig varsel om fare for utvikling av pasteurellose hos laks

Analyse av vannprøver kan påvise bakterien *Pasteurella atlantica* i forkant av pasteurellose-utbrudd, noe som viser at bakterien er mer utbredt blant oppdrettsanlegg enn antall registrerte utbrudd tilsier. Veterinærinstituttet oppmuntrer oppdrettere i PO3 og PO4 til å sende inn prøver til kostnadsfri og anonym undersøkelse.

David Strand¹, Sonal Patel¹, Jannicke Wiik-Nielsen¹, Bjarte Langhelle², Hanne Nilsen¹, Anne Berit Olsen¹, Matilde Holmeset¹, Saima Mohammad¹, Duncan Colquhoun¹
¹Veterinærinstituttet, ²Åkerblå AS

Oppdrettere oppfordres til å sende inn vannprøver til gratis analyse på Veterinærinstituttet

På bakgrunn av denne studien oppmuntrer vi oppdrettere i PO3 og PO4 til å sende inn vannprøver fra termiske avlusere til kostnadsfri og anonym analyse. Vi ønsker også å teste miljø-DNA-analysen i forbindelse med brønnbåt-behandlinger. Deltagende anlegg vil motta snarlig tilbakemelding på resultatene.

Oppdrettere som ønsker å sende inn prøver eller få nærmere informasjon om prosjektet, kan ta kontakt med forsker David Strand (david.strand@vetinst.no / tlf. 47623716) eller prosjektleder Duncan Colquhoun (duncan.colquhoun@vetinst.no / tlf. 91179686). Prosjektbeskrivelse kan også leses på FHF's nettside: fhf.no/prosjekter/prosjektbasen/901680 og her: <https://www.vetinst.no/forskning-innovasjon/pagaende-forskningsprosjekter/pasteurellose-hos-norske-laks>

Pasteurellose i Norge

I Norge er det nesten utelukkende '*Pasteurella atlantica* genomovar *salmonicida*' som forbindes med pasteurellose hos norsk oppdrettslaks, bortsett fra én påvisning av infeksjon med *Pasteurella skyensis* i 2020. *P. atlantica* har forårsaket sykdom hos laks i Norge tidligere, men i de senere årene har sykdommen blitt et betydelig problem.

Fra 80-tallet til 2018 gikk det flere år mellom små, lokale og korte utbrudd, og den geografiske avstanden mellom utbruddene var stor. Siden 2018 har situasjonen forverret seg, og vi har havnet i en situasjon hvor det påvises rundt 50 affiserte anlegg årlig innen et forholdsvis begrenset geografisk område (figur 1 og 2). Årsaken(e) til dette er ikke kjent, men en teori har vært at bakterien er mer utbredt i oppdrettspopulasjonen enn antall diagnostiserte utbrudd tilsier, og at utvikling av sykdommen må 'trigges' av en eller flere ukjente faktorer.

Miljø-DNA-analyse

Antall fisk som er bærere av bakterien *P. atlantica* kan være relativt lav, slik at

man må undersøke mange fisk for å påvise bakterien i en fiskepopulasjon. Ved miljø-DNA-metoder analyseres derimot prøver tatt fra miljøet, i denne studien fra avlusningsvann, istedenfor fra enkeltindivider. Fordelen med miljø-DNA-metoden er at hele populasjonen 'testes' slik at man enkelt kan påvise agens selv når forekomsten er lav. En annen stor fordel er at vi slipper å avlive fisk for prøvetaking.

Miljø-DNA-analyse kan gi forvarsel om utbrudd av pasteurellose

I perioden april 2022 til april 2023 ble elleve fiskepopulasjoner, hvor det ikke var mistanke om at *P. atlantica* var tilstede, undersøkt for tilstedeværelse av bakterien (tabell 1). *P. atlantica* ble påvist i seks av populasjonene, altså i over halvparten av de undersøkte anleggene (tabell 1). Dette tyder, ikke uventet, på at selve bakterien er mer utbredt i det endemiske området enn antall diagnostiserte sykdomsutbrudd tilsier. To til fire måneder senere ble det påvist infeksjon med *P. atlantica* hos fisk i fire av disse anleggene. Dette viser at miljø-DNA-analyse kan være nyttig for å forutsi og kanskje hindre utbrudd av pasteurellose.

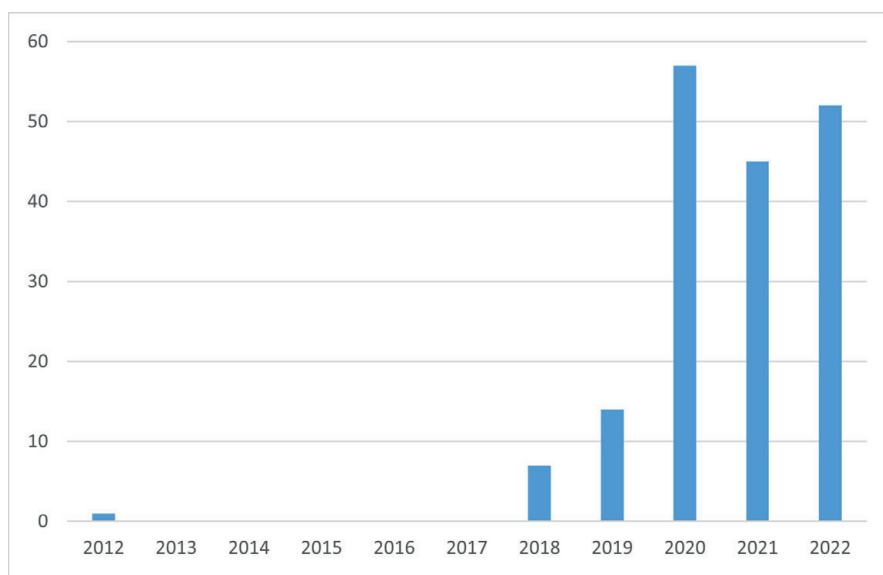
Tilstedeværelse av *Pasteurella* er ikke ensbetydende med sykdom

Resultatene fra anleggene som ble testet tyder på at funn av *P. atlantica* i avlusningsvann ikke nødvendigvis resulterer i klinisk pasteurellose-utbrudd. To av de seks populasjonene hvor bakterien ble påvist hadde ikke tegn til klinisk sykdom, henholdsvis fem og seks måneder etter undersøkelsen (tabell 1).

Dette kan bety at om infisert fisk behandles skånsomt kan sykdomsutbrudd unngås. Denne teorien støttes av resultater fra smitteforsøk utført av Veterinærinstituttet og samarbeidspartnere, hvor bakterien ikke har smittet videre og forårsaket sykdom i særlig grad under forholdsvis stressfrie omstendigheter.

Regelmessig overvåking med miljø-DNA kan være et viktig forebyggende tiltak

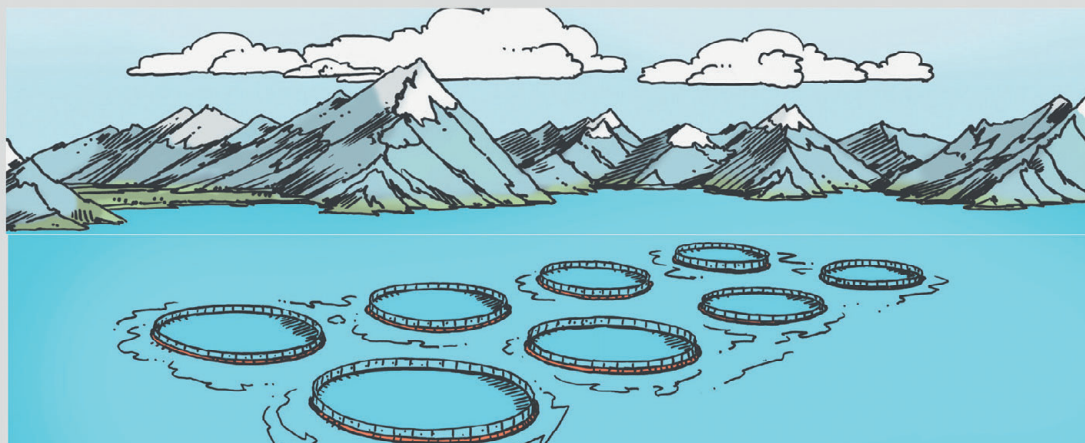
Miljø-DNA-undersøkelser forteller oss bare om den nåværende situasjonen.



Figur 1. F. Antall lakselokaliteter med påvist *Pasteurella atlantica*-infeksjon 2012-2022.

Netpolish NP coating

Biocidfri coating for deg som spylar not i sjøen.
Beskytter mot mekanisk slitasje ved spyling i sjøen og ved rengjøring i notvaskemaskin.



NetKem AS

Telefon 66 80 82 15 - post@netkem.no - www.netkem.no

Tabell 1. Miljø-DNA-analyse av anlegg uten mistanke om pasteurellose, og senere klinisk status.

Fiskegruppe	Antatt pasteurellose-status	<i>Pasteurella</i> påvist/ikke påvist	Klinisk status etter miljø-DNA-analyse
1	Negativ	Ikke påvist	Påvist i fisk ved PCR etter 5 måneder
2	Negativ	Ikke påvist	Pasteurellose påvist etter 5-6 måneder
3	Negativ	Ikke påvist	Pasteurellose-fri ved slakt etter 3 måneder
4	Negativ	Ikke påvist	Pasteurellose-fri etter 6 måneder
5	Negativ	Ikke påvist	Påvist ved dyrkning etter 3 måneder
6	Negativ	Påvist	Ingen tegn til pasteurellose etter 6 måneder
7	Negativ	Påvist	Ingen tegn til pasteurellose etter 5 måneder
8	Negativ	Påvist	Pasteurellose bekreftet ved dyrkning etter 7 uker
9	Negativ	Påvist	Påvist i fisk ved PCR etter 4 måneder
10	Negativ	Påvist	Påvist i fisk ved PCR etter 2 måneder
11	Negativ	Påvist	Påvist i fisk ved PCR etter 2 måneder

Et negativt svar på et gitt tidspunkt er dermed ingen garanti for at populasjonen er helt infeksjonsfri, eller at populasjonen ikke får en infeksjon i fremtiden. I etterkant av denne undersøkelsen har fiskene i tre av de fem anleggene hvor *P. atlantica* ikke ble påvist, utviklet pasteurellose eller fått bakterien påvist ved PCR-analyse i etterkant. Dette tilsier at regelmessige miljø-DNA-analyser bør vurderes gjennom hele sjøfasen.

Miljø-DNA-analyse som styringsverktøy

Veterinærinstituttet har i den senere tid utviklet og dokumentert anvendbarheten av miljø-DNA-metodikk for overvåkning av flere fiskepatogene bakterier, virus, sopp og parasitter. Denne studien viser at miljø-DNA-metoden er godt egnet til å detektere *P. atlantica* på et svært tidlig stadium, før fisken blir klinisk syk. Å påvise sykdomsfremkallende agens så tidlig som mulig innen en bestemt fiskepopulasjon gjør oss bedre rustet til å bekjempe

sykdommen. Eventuelle funn kan tas med i vurderingen av planlagte driftsmessige tiltak for å minimalisere konsekvensene av infeksjonen.

Etablering av miljø-DNA-metoden

Under akutte utbrudd av infeksjons-sykdommer, er ofte utskillelsen av smittestoff høy. Utskillelse av agens under tidlige stadier av infeksjonen og sykdomsutvikling kan være betydelig lavere, og dermed vanskeligere å påvise. Miljø-DNA-metodens potensiale ble derfor testet på svaberprøver fra fiskehud og gjeller, vannprøver fra merd og fra avlusningsmaskiner under behandling av tydelig syk fisk. Resultatet viste at avlusningsvann var et svært godt prøvemateriale for påvisning av *P. atlantica*, mens prøver fra merdvann var mindre egnet som grunnlag for analyse (tabell 2). Svaberprøver ble tidlig utelukket som prøvemateriale, ettersom *P. atlantica* ved flere tilfeller ikke ble påvist selv om bakterien ble påvist i merd- og

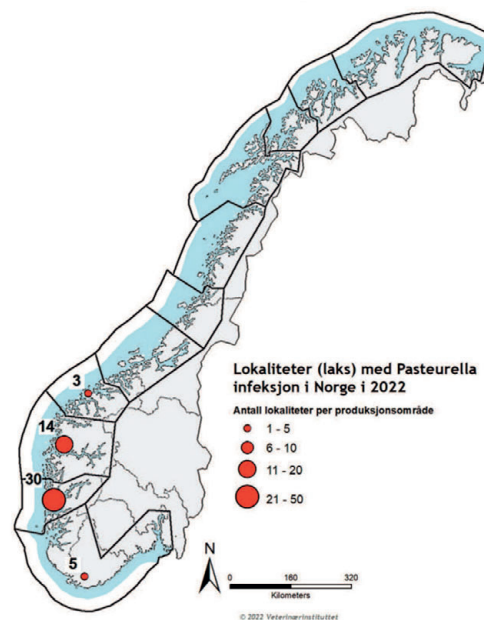
Tabell 2. Innledende testing av miljø-DNA-metode på vann fra merd og avlusningsmaskin

Pasteurellose-status	Antall anlegg	Påvisning i merdvann	Påvisning i avlusningsvann
Mildt utbrudd	5	1/5	5/5
Tidligere PCR positiv, ikke aktivt utbrudd	4	0/4	4/4
Mistanke (ikke bekreftet)	2	0/2	1/2
Usikker status	2	0/2	2/2
Kontrollanlegg (antatt pasteurellose-fri)	3	0/3	1/3

avlusningsvann. Vi utvidet studien til å inkludere anlegg med ulik, men 'kjent' smittestatus, og fiskepopulasjoner uten tidligere pasteurellose-historikk eller mistanke (tabell 2). Resultatene av denne undersøkelsen viste at metoden også egnet seg til å påvise smitte i populasjoner av fisk som tidligere hadde hatt utbrudd, men som nå var tilsynelatende sykdomsfri, og i populasjoner som tidligere har vært PCR-positive men som ikke viste tegn til sykdom.

Konklusjon

Miljø-DNA-analyse er egnet til tidlig påvisning av infeksjoner som *P. atlantica* og er derfor et viktig verktøy for norsk fiskeoppdrett. Datagrunnlaget i arbeidet som presenteres her er lavt, og bør utvides med miljø-DNA-screening av flere antatt pasteurellose-frie populasjoner.



Figur 2. Geografisk utbredelse av pasteurellose-tilfeller hos laks 2022



AQUACULTURE

Løsninger for vannovervåking



Kontinuerlig analyse-system av plankton:
Automatisert identifikasjon av skadelige alger



Trådløs overvåking av vannkvalitet:
Enkelt og pålitelig system som tilpasses alle typer løsninger og behov



Undervannskamera for virtuell visning:
Opptil 360° synsfelt og digital zoom uten behov for mekanisk panorering og tilt

Besøk oss på Aqua Nor, stand D-334 | www.aquaculture.otaq.com | Kontakt: info@otaq.com