

Optimalisert metode for vannbasert overvåkning av patogener i akvakultursystemer

Ottavia Benedicenti *, Marit Måsøy Amundsen, Saima Nasrin Mohammad, Trude Vrålstad, David A. Strand, Simon Chioma Weli, Sonal Patel, Hilde Sindre

Veterinærinstituttet, Postboks 64, 1431 Ås

*Korresponderende forfatter: ottavia.benedicenti@vetinst.no

Spesifikke og sensitive verktøy for påvisning og overvåkning av patogener i vannmiljø kan være avgjørende for å forebygge spredning av smittestoffer i oppdrettsanlegg. Overvåkning av vannbårne patogener gjennom vannfiltrering og påfølgende påvisning av målspesifikk (RT-)qPCR er en tilnærming som kan redusere eller til og med erstatte avlaving av fisk for overvåkningsformål i akvakultur, og tilrettelegge for tidligere tiltak for sykdomskontroll. Prøvetaking kan være en flaskehals, og det er behov for enkle filtreringsmetoder som kan benyttes på stedet for å sikre tilstrekkelig store vannvolum for analyse og raskt konservering av DNA og RNA. I denne studien testet vi ulike filtreringsmetoder for å forenkle og tilrettelegge for vannfiltrering i felt uten at det går på bekostning av sannsynlighet for påvisning. Dette ble testet i kombinasjon av ulike filtreringshastigheter, lysisbuffer og filtre for ferskvann og sjøvann som var tilsatt relevante laksepato gener. Resultatene viste at flere metoder er godt egnet, men de beste resultatene totalt sett ble oppnådd med en "sandwich"-filtreringsmetode som bruker to forskjellige filtre i kombinasjon. Dette ga god patogenpåvisning for alle filtreringshastigheter, og muliggjorde høy og tidsbesparende filtreringshastighet. Videre ga en temperaturuavhengig lysisbuffer svært gode resultater både for DNA- og RNA-analyser. Metodikkens egnethet og gjennomførbarhet ble deretter testet i felt, hvor en fiskegruppe ble fulgt over tid i settefiskanlegg og videre i offshore oppdrettsanlegg fram til slakting. Målet var å screene fiskepopulasjonens vannmiljø for ulike virale, bakterielle og parasittiske patogener hos atlantisk laks i forkant av flytting og transport for å øke sjansen for utsett av smittefri fisk i sjø. Smittestatus i sjø ble også fulgt opp månedlig som et forebyggende tiltak. Metoden tillater påvisning av svært forskjellige laksepato gener med ett filtreringstrinn, etterfulgt av ett enkelt trinn for automatisk total nukleinsyre-ekstraksjon (RNA og DNA) før individuell (RT-)qPCR-påvisning av aktuelle smittestoffer. Dette reduserer både analyseutgifter og tidsbruk.