eDNA som erstatning for akvatiske dyr

Veterinærinstituttet

Trude Vrålstad
Seksjonsleder Forskning Fiskehelse

Replace



Foto: Rudolf Svensen



Miljø-DNA (environmental DNA – eDNA)
som erstatning for avlivning og/eller fangst
av akvatiske dyr i forskning og overvåkning

eDNA som erstatning for akvatiske dyr

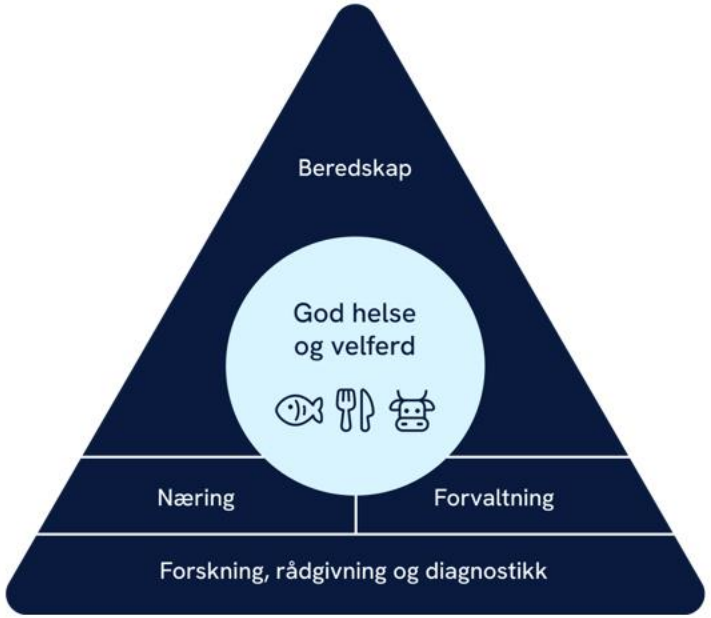
Veterinærinstituttet

Trude Vrålstad
Seksjonsleder Forskning Fiskehelse

Replace

Foto: Rudolf Svensen



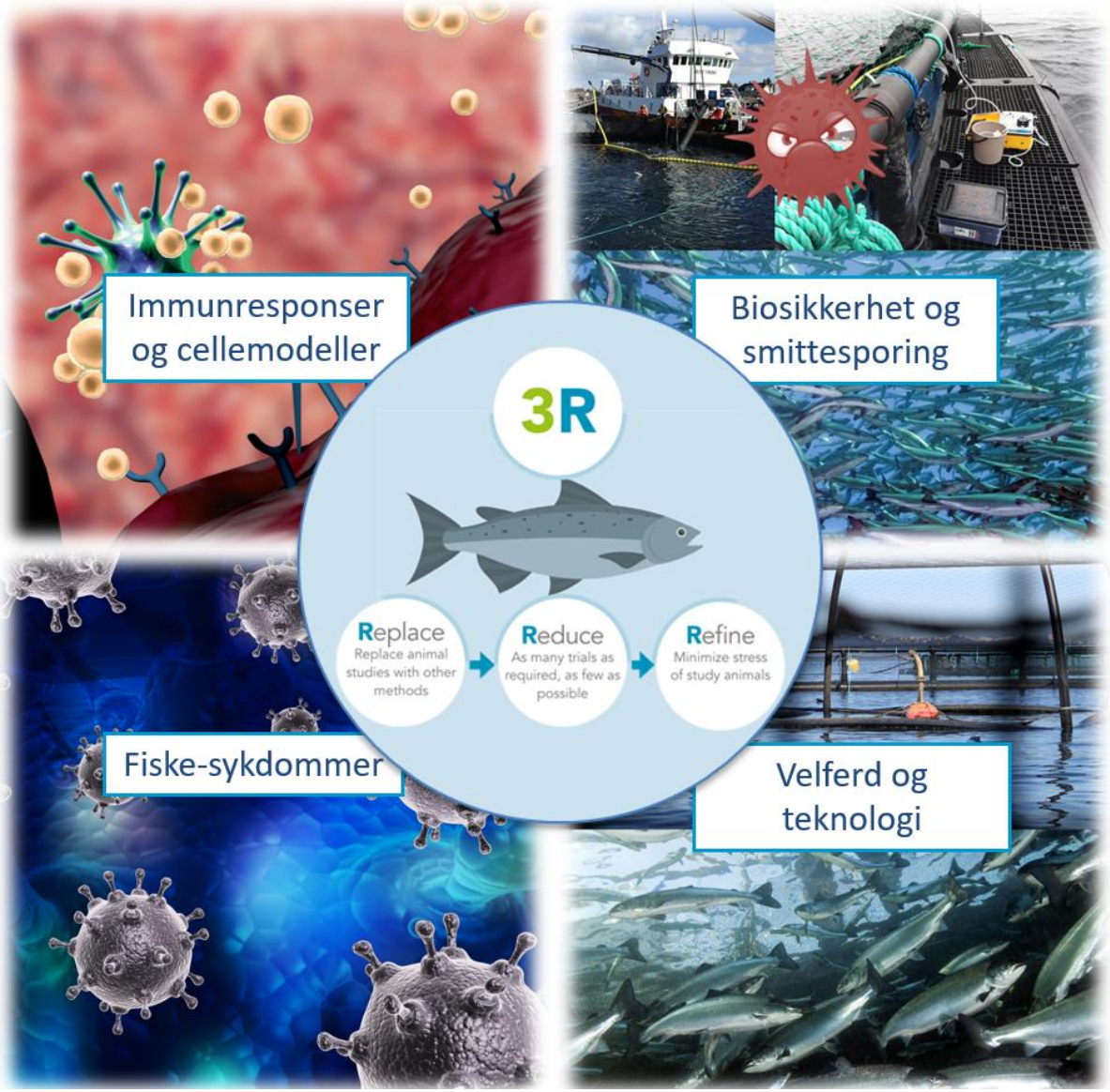


Veterinærinstituttet jobber for god helse hos dyr og mennesker. Vi er et biomedisinsk forskningsinstitutt og Norges ledende fagmiljø innen biosikkerhet for fisk og landdyr



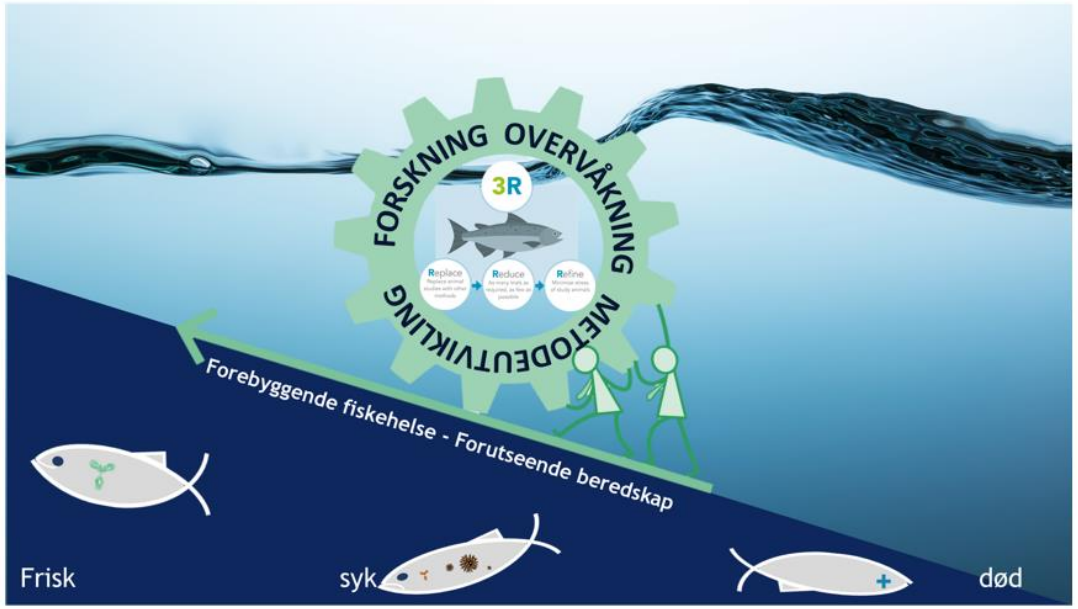
Veterinærinstituttet

Forskning fiskehelse og fiskevelferd



Øke 3R fokus & praksis i forskning, overvåkning og beredskap/diagnostikk

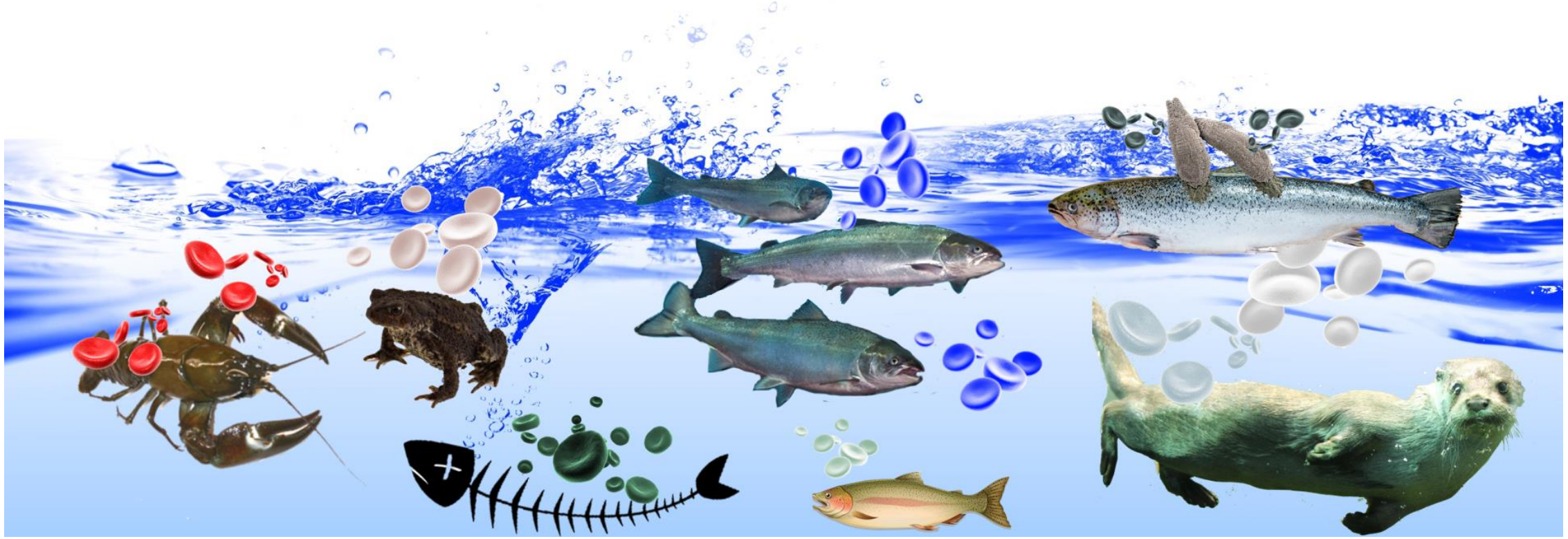
- **Erstatte avlivning/fangst/håndtering av dyr for overvåkning ved bruk av eDNA metoder**
- *In-vitro* modeller når mulig framfor dyr i forsøk
- Biomarkører for tidlig diagnostikk (levende fisk)



Veterinærinstituttet

Kilder til eDNA i vann

Celler med DNA fra avføring, hud/skjell, urin, sperm, egg, slim, blod, eller fra nedbrytning av døde individer



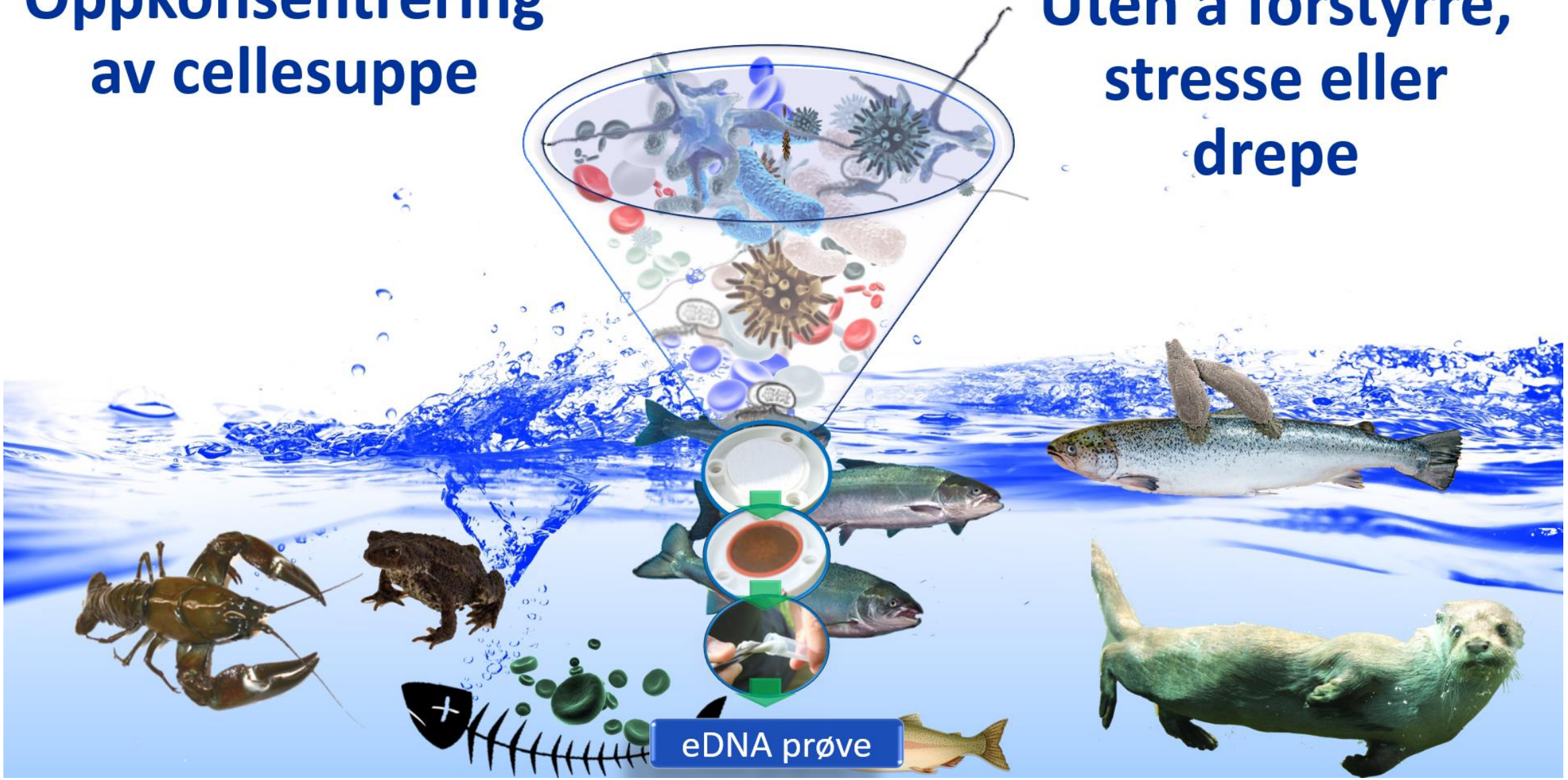
Kilder til eDNA i vann

Mikroorganismer inkludert sykdomsfremkallende patogener er i seg selv “cellepakker” med DNA eller RNA



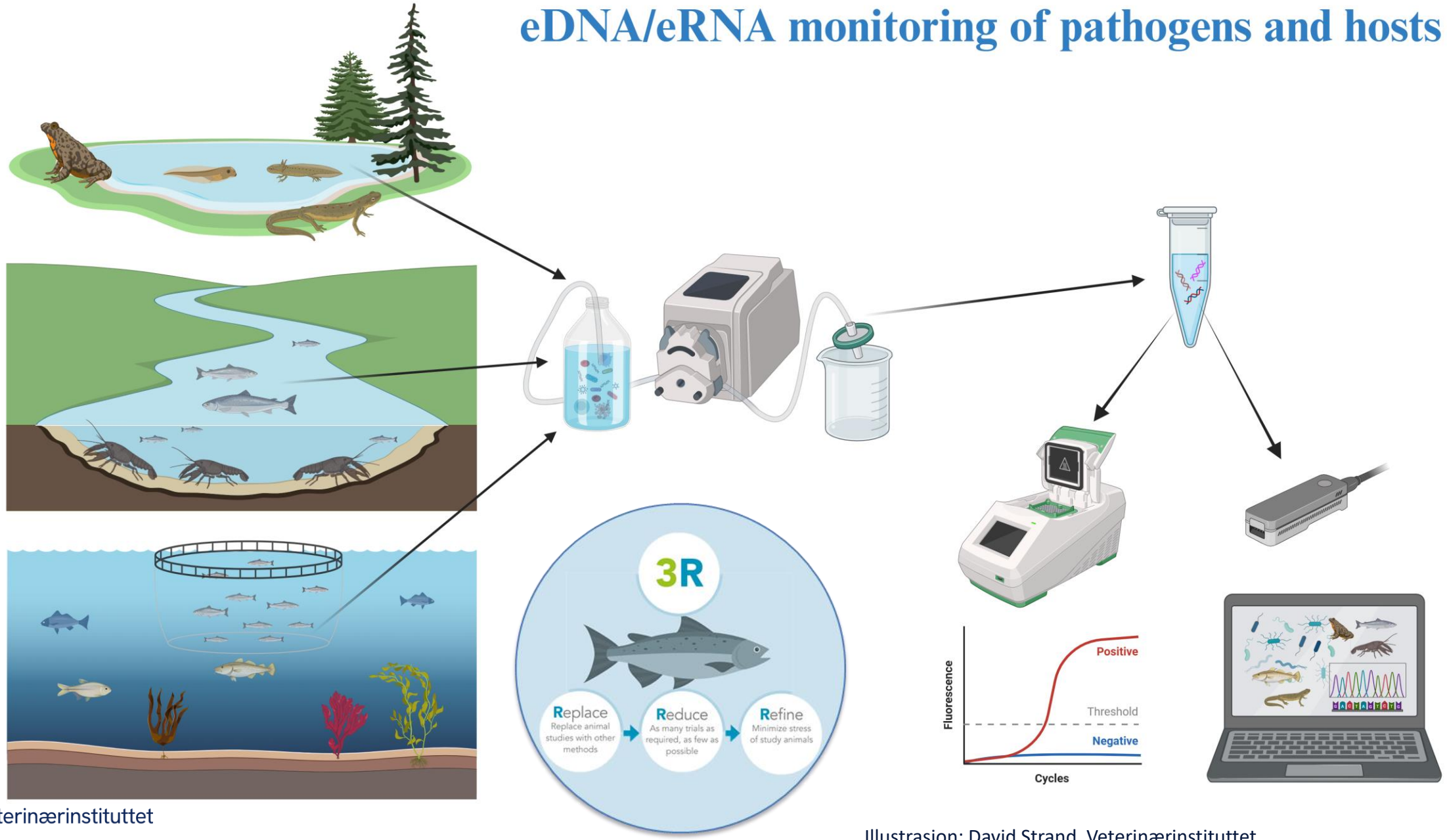
Oppkonsentrering av cellesuppe

Uten å forstyrre, stresse eller drepe



Veterinærinstituttet

eDNA/eRNA monitoring of pathogens and hosts



Veterinærinstituttet

Illustrasjon: David Strand, Veterinærinstituttet

Eksempler på Replace

Smitteovervåkning med miljø-DNA/RNA – akvatiske dyr

Erfaringer fra ville bestander og fiskeoppdrett



Veterinærinstituttet

Prosjektfinansiering

FHF Forskningsrådet Mattilsynet Norwegian Environment Agency European Commission

Slider er et utdrag fra dette webinaret:
[Opptak fra webinar om smitteovervåkning med miljø-DNA/RNA (eDNA) – Veterinærinstituttet]



David A. Strand
seniorforsker, eDNA og krepsepest ekspert

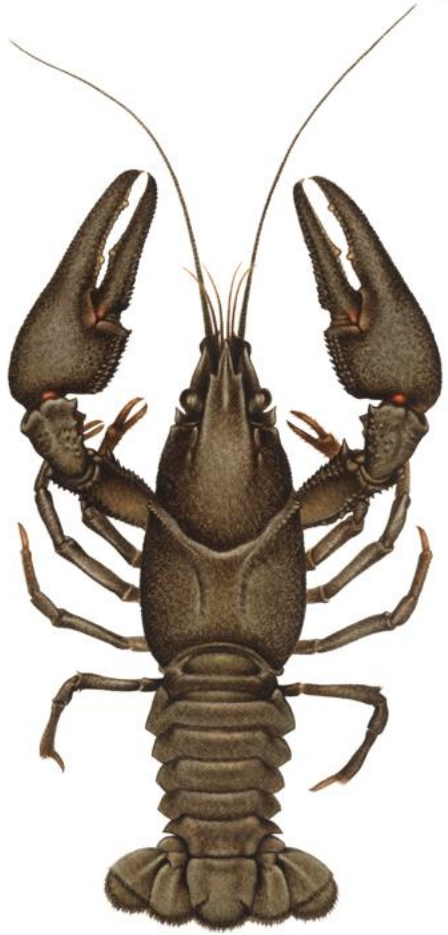
Miljø-DNA overvåking av krepsepest, edelkreps og signalkreps

(Tifotkreps omfattes av dyrevelferdsloven)

Veterinærinstituttet

Død edelkreps fra tidligere krepsepestutbrudd i Haldenvassdraget. Foto: David Strand

Edelkreps, Krepsepest & Signalkreps

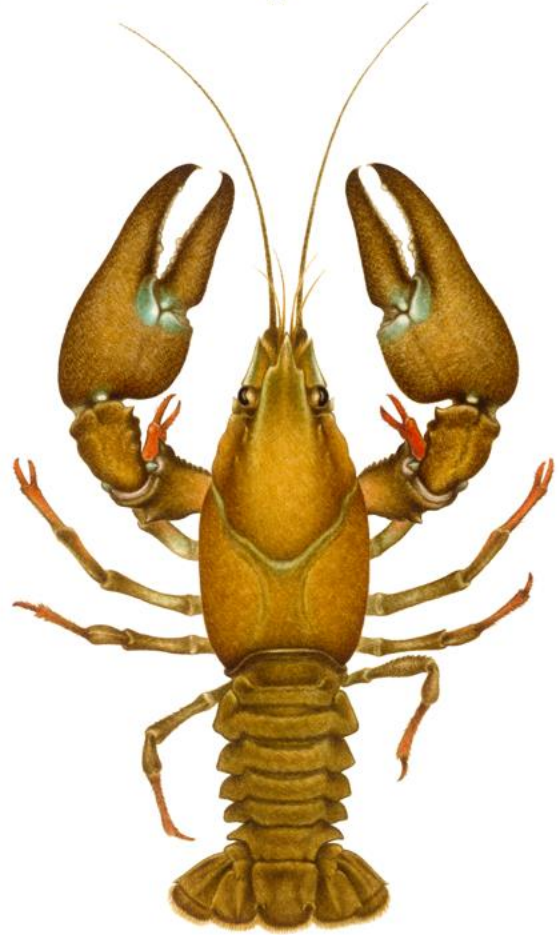


Europeisk Edelkreps (rødlistet)

SEM Mikroskopi



Aphanomyces astaci

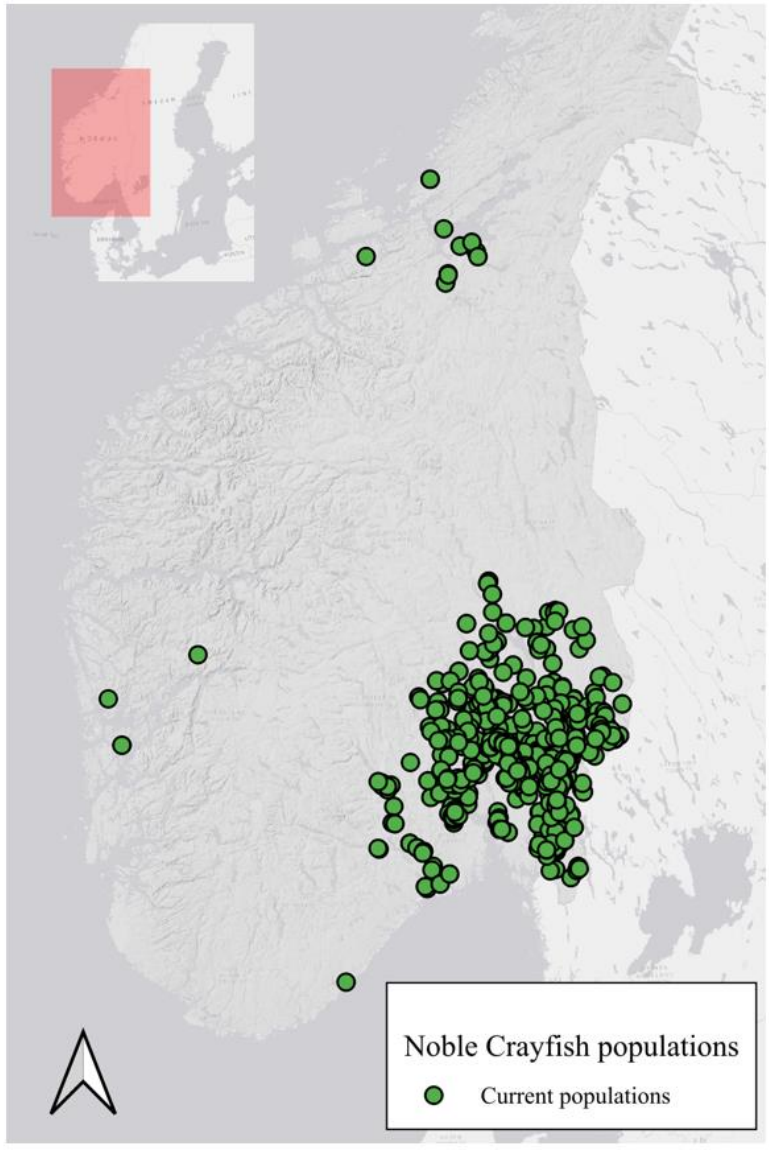


Amerikansk Signalkreps (fremmed art)

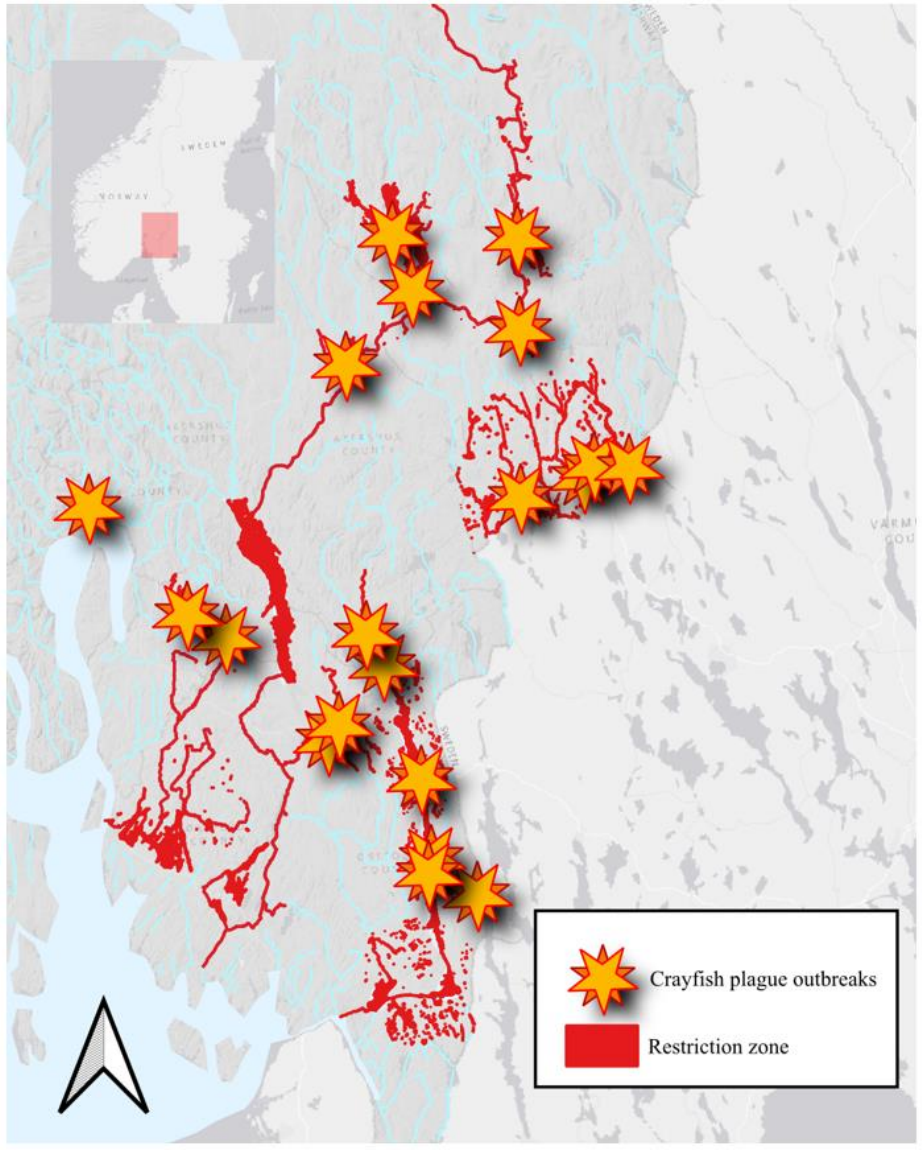
Veterinærinstituttet

Illustrasjon kreps: Linda Nyman, SEM foto: Jannicke Wiik-Nielsen

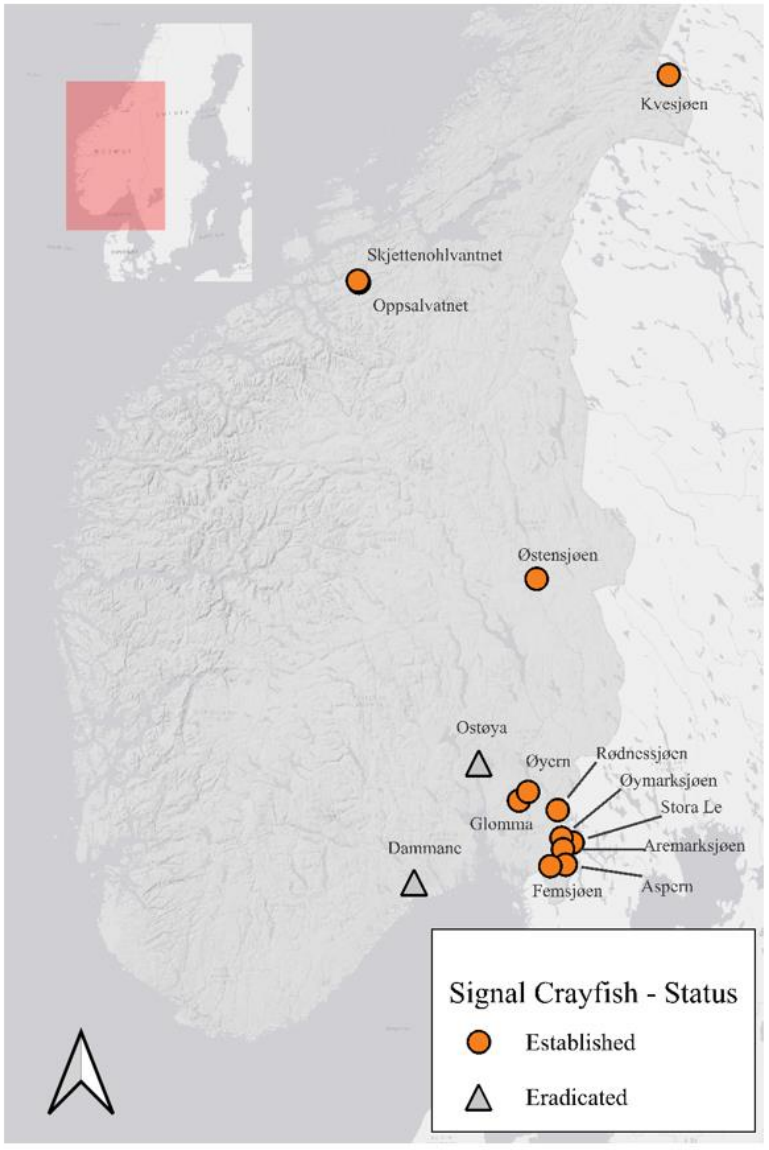
Edelkreps populasjoner



Krepsepest utbrudd 1971-2024



Signalkreps populasjoner



Veterinærinstituttet

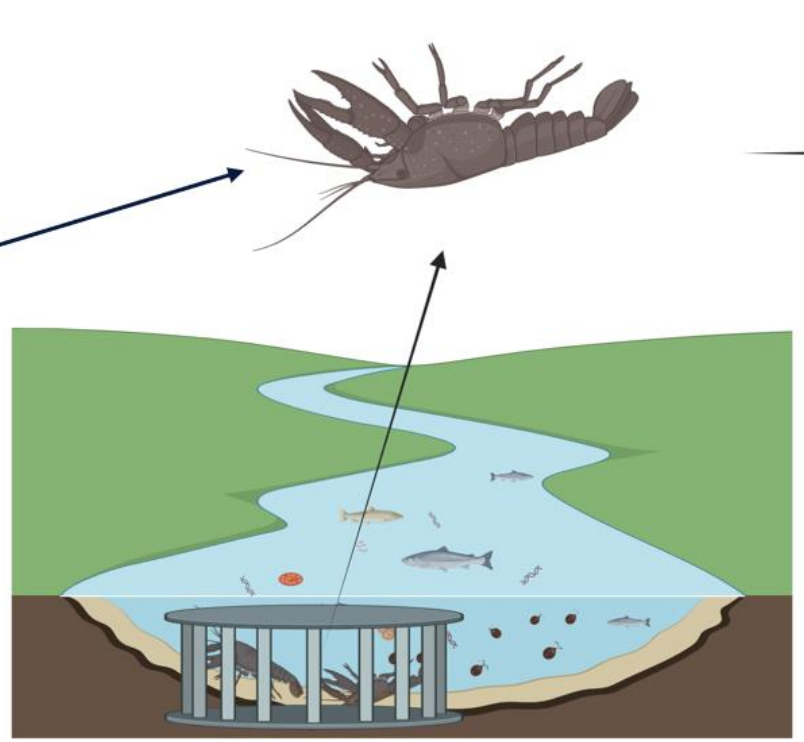
- Krepsepest er en meldepliktig sykdom. Utløser lovpålagte restriksjoner og overvåkning

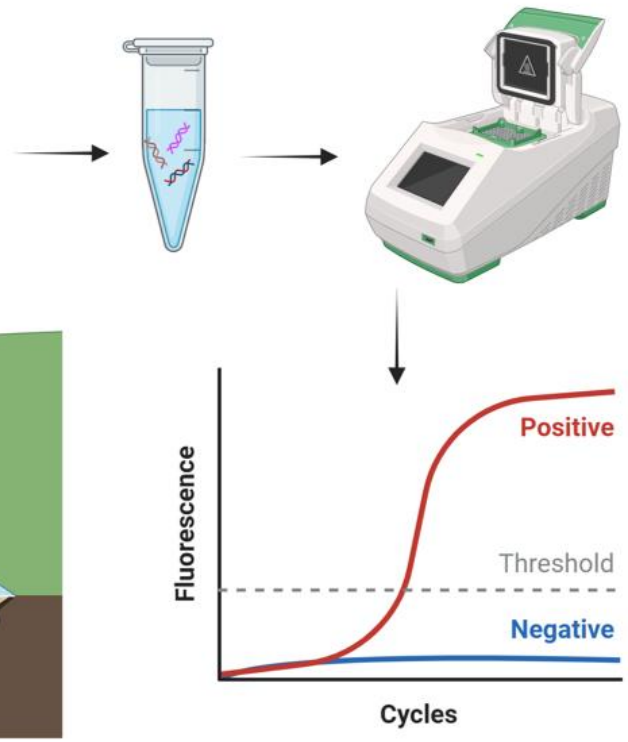
Illustrasjon: David Strand, Veterinærinstituttet

Tradisjonell overvåking av *A. astaci (krepsepest) (fram til 2016)*

- Burforsøk med edelkreps settes ut i elv/innsjø for å «fange opp» sykdom
- Smittet kreps dør av sykdom (analyseres for å stadfeste diagnose krepsepest)
- Velferd for burkreps utfordrende med eller uten smitte
- Øker lokal smitte- og spredningsfare for vill krepsepopulasjon







Veterinærinstituttet

Illustrasjon: David Strand, Veterinærinstituttet

Utvikling av metodikk for eDNA- overvåking for krepspest, edelkreps og signalkreps (oppstart 2008)











Veterinærinstituttet

UNIVERSITETET I OSLO

NINA

Forskningsrådet

Mattilsynet

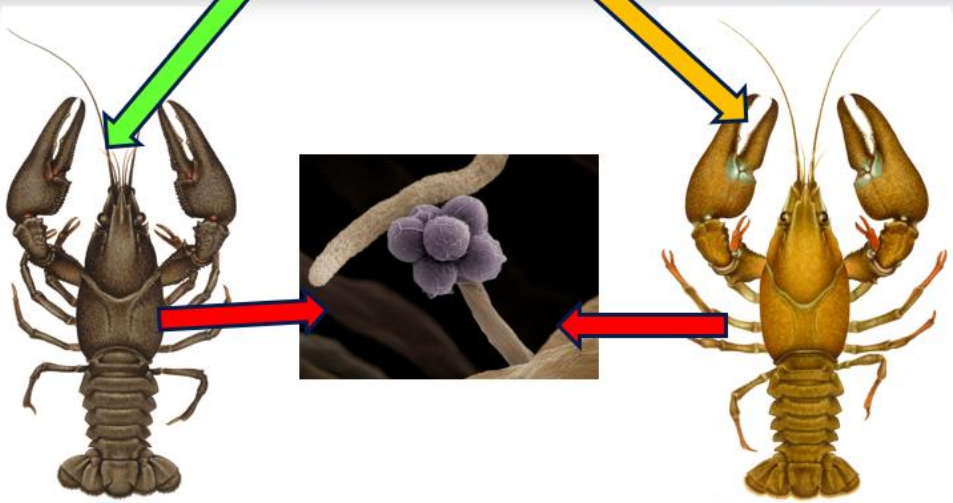
NORWEGIAN ENVIRONMENT AGENCY

Fra diverse FOU og overvåkningsprosjekter

Validering av miljø-DNA overvåking av krepsepest



- Fangst av Edelkreps og Signalkreps i Rødnessjøen (Haldenvassdraget) i sept. 2014
- Påvisning av *A. astaci* på Edelkreps og Signalkreps
- Starten på et krepsepest utbrudd
- Ga også en mulighet for miljø-DNA metodevalidering



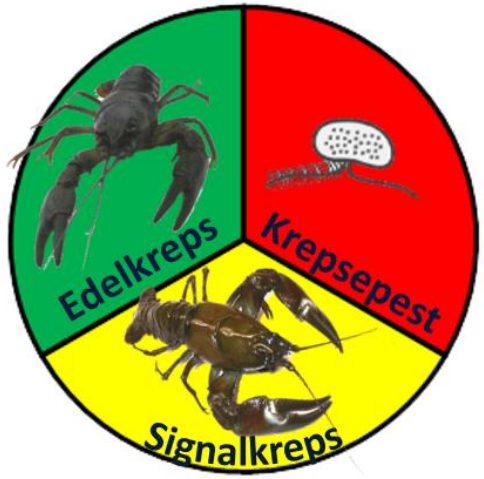
Resultater senere publisert her:
[Monitoring a Norwegian freshwater crayfish tragedy: eDNA snapshots of invasion, infection and extinction - Strand - 2019 - Journal of Applied Ecology - Wiley Online Library]

Veterinærinstitutt UNIVERSITETET I OSLO NINA Forskningsrådet Mattilsynet Miljø-direktoratet



Validering av miljø-DNA overvåking av krepsepest

- **Sammenlikne tradisjonell overvåking med miljø-DNA overvåking**
- **Nasjonal overvåking av edelkreps → Teinefiske**
- **Nasjonal overvåking av krepsepest → Burforsøk**



Miljø-DNA påvisning



Burforsøk (krepsepest)

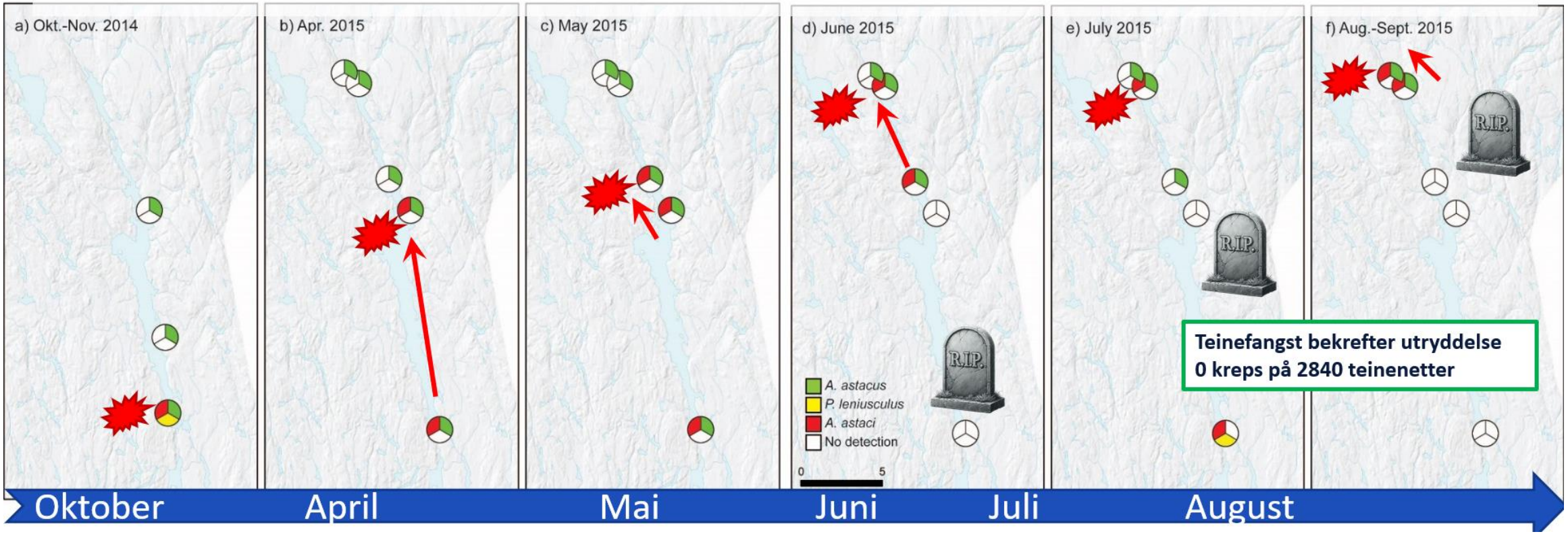


Teinefiske (edelkreps/ signalkreps)

Veterinærinstituttet

Validering av miljø-DNA overvåking av krepsepest

- ***Miljø-DNA av krepsepestsmitte kan påvises i vannet ~3 uker før krepsen dør i burforsøk***
- Både miljø-DNA fra kreps og pest forsvant raskt etter utbrudd og massedød
- Fangstinnsats med nesten 3000 teiner ga 0 edelkreps – bekrefter lokal utryddelse



Overvåknings-programmet for *A. astaci 2016-2024 – i tett samarbeid med Nasjonal overvåkning av edelkreps og spredning av signalkreps*

- Miljø-DNA aksepteres som supplement 2016
- Miljø-DNA aksepteres som erstatning fra 2017
- **Miljø-DNA overvåking av *A. astaci*, edelkreps og signalkreps erstatter bruk av dyr i overvåkning**





Koordinering av arbeid og resultater

Replace

Overvåkingsrapporter krepsepest:
[Krepsepest (Aphanomyces astaci) - Veterinærinstituttet]

Veterinærinstituttet

Mattilsynet

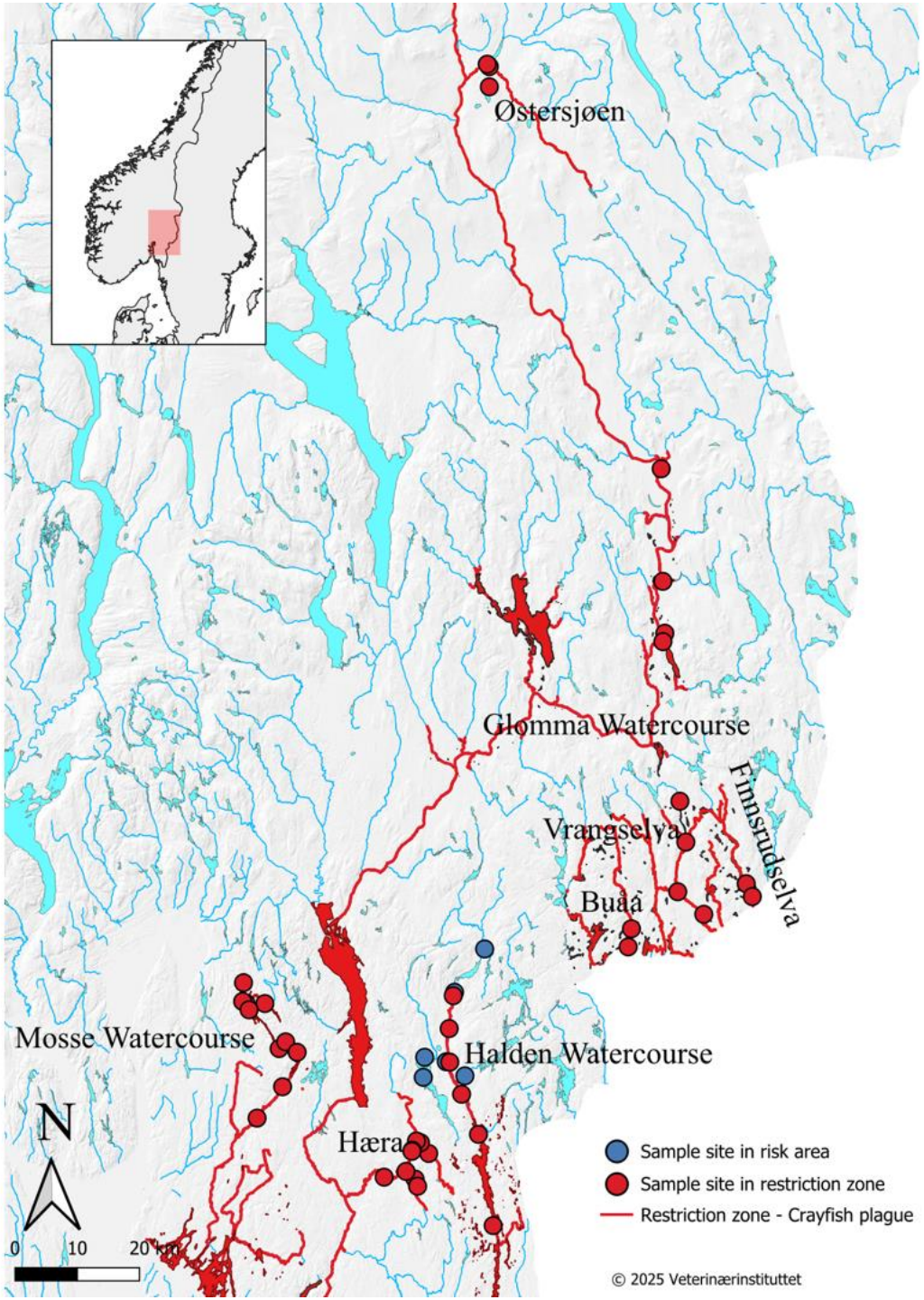
Miljø-direktoratet

Kilde:
Aphanomyces astaci 2024.pdf

Overvåking krepsepest 2024

- 176 miljø-DNA prøver fra 44 stasjoner
  - 2x 5L pr stasjon
  - Hver stasjon prøvetas i juni og i august/september

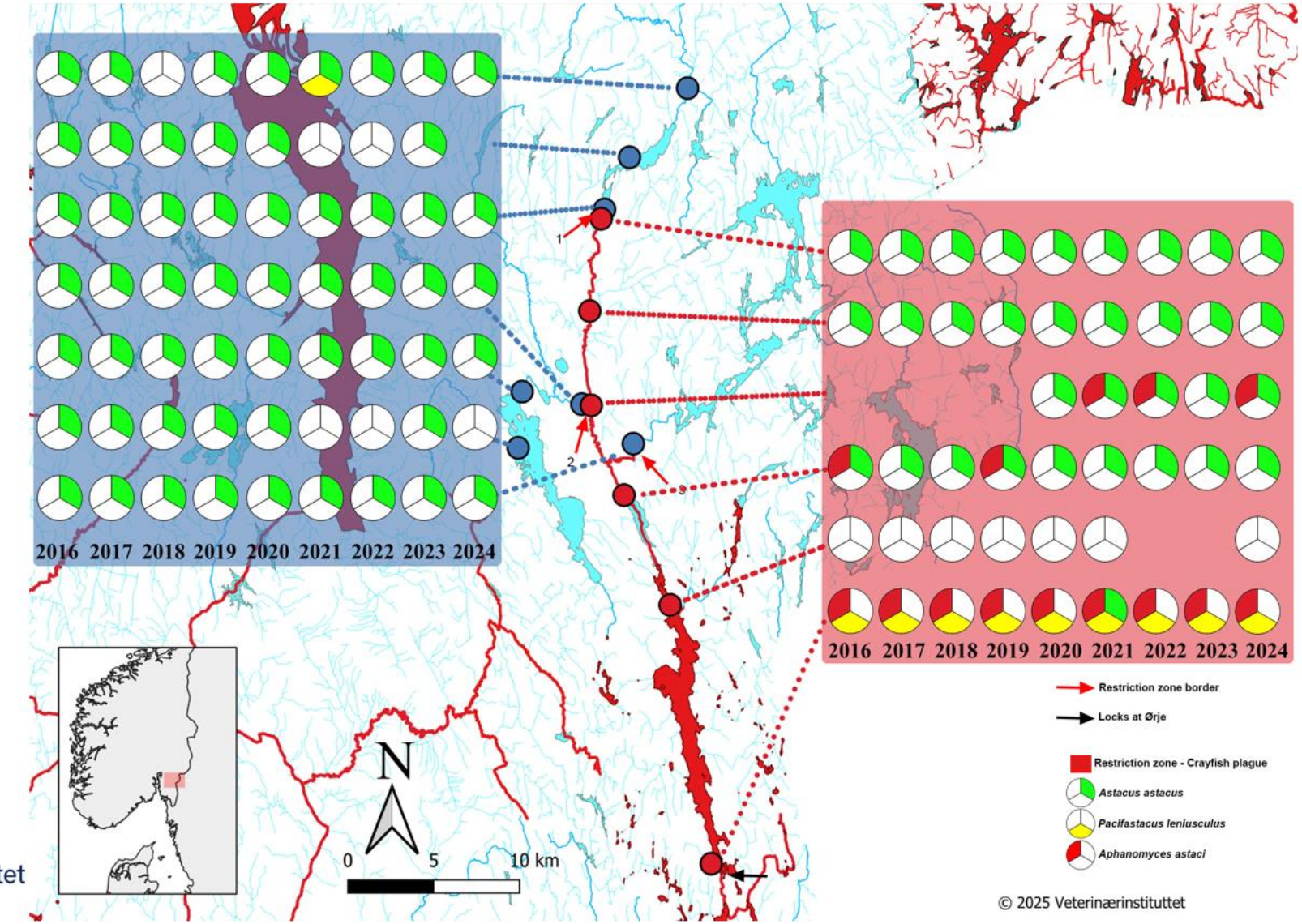
- Miljø-DNA prøver analyseres for
  - Krepsepestagens (*A. astaci*)
  - Edelkreps
  - Signalkreps



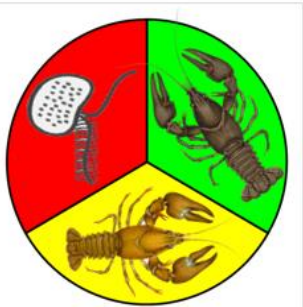
Veterinærinstituttet

Kilde:
Aphanomyces astaci 2024.pdf

Resultater Haldenvassdraget 2016-2024

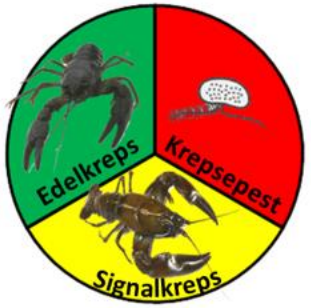


Veterinærinstituttet



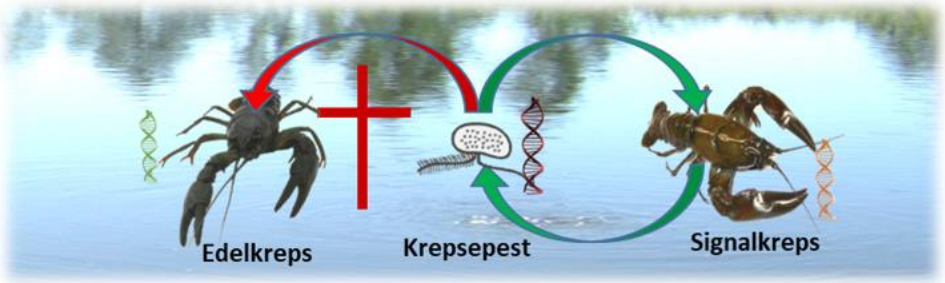
Konklusjon for miljø-DNA metode

Tre fluer i en smekk



- eDNA erstattet bruk av levende kreps i bur
- Flere vann overvåkes uten teinefangst av kreps
- Mer oversikt, bedre velferd, mindre forstyrrelse
- Overvåker krepsepest, rødlistet edelkreps og fremmedarts-listet signalkreps fra samme prøver
- Oppfyller «REPLACE»





Veterinærinstituttet

Gyrodactylus salaris – lakseparasitt og fremmed art i norsk natur

- Påvist i 54 vassdrag i Norge siden 1975
- Alvorlig trussel for norsk villaks
- Omfattende overvåkning og bekjempelse pågått i > 40 år
- Kostnadskrevende og tar mange fiskeliv – både parasitt og tiltak
- Tradisjonell overvåkning krever også avlivning av mye fisk
- eDNA påvisning av *G. salaris* i vann gir lovende resultater



Haakon Hansen, seniorforsker,
WOAH-referanseekspert *G. Salaris*



Gyrodactylus salaris – foto Jannicke Wiik Nielsen



Bekjempelse av G. salaris med klor – foto Helge Bardal

Veterinærinstituttet

Overvåkning settefisk og elver

Benytter kun «klassisk» metode – screening av fiskefinner for *G. salaris*

eDNA foreløpig ikke brukt som erstatning, men er et relevant supplement.

eDNA metode benyttes som supplement i overvåknignsprogram Drammensregionen

[Gyrodactylus salaris – kartlegging i Drammensregionen - Veterinærinstituttet]

Friskmeldingsprogram (etter bekjempelse)



Veterinærinstituttet

eDNA overvåkning av *G. salaris* har et stort potensiale særlig for grensevassdag

Prosjektet «Our precious waters» (VI, MT, Finland) skal hindre spredning av *Gyrodactylus salaris* i nord.

Fokus på elvene Pasvik, Tana og Neiden som renner gjennom begge land.

Beredskap og overvåking, inkludert miljø-DNA undersøkelser.

Interreg Co-funded by the European Union
Aurora
Our Precious Transboundary Waters

Illustrasjon/collage fra prosjektet Our precious waters, Haakon Hansen, Veterinærinstituttet



Veterinærinstituttet

Muligheter for Replace i fiskeoppdrett

Miljø-DNA

Miljø-RNA



Smittesporing i vann uten å stresse eller drepe

Muligheter for Replace i fiskeoppdrett



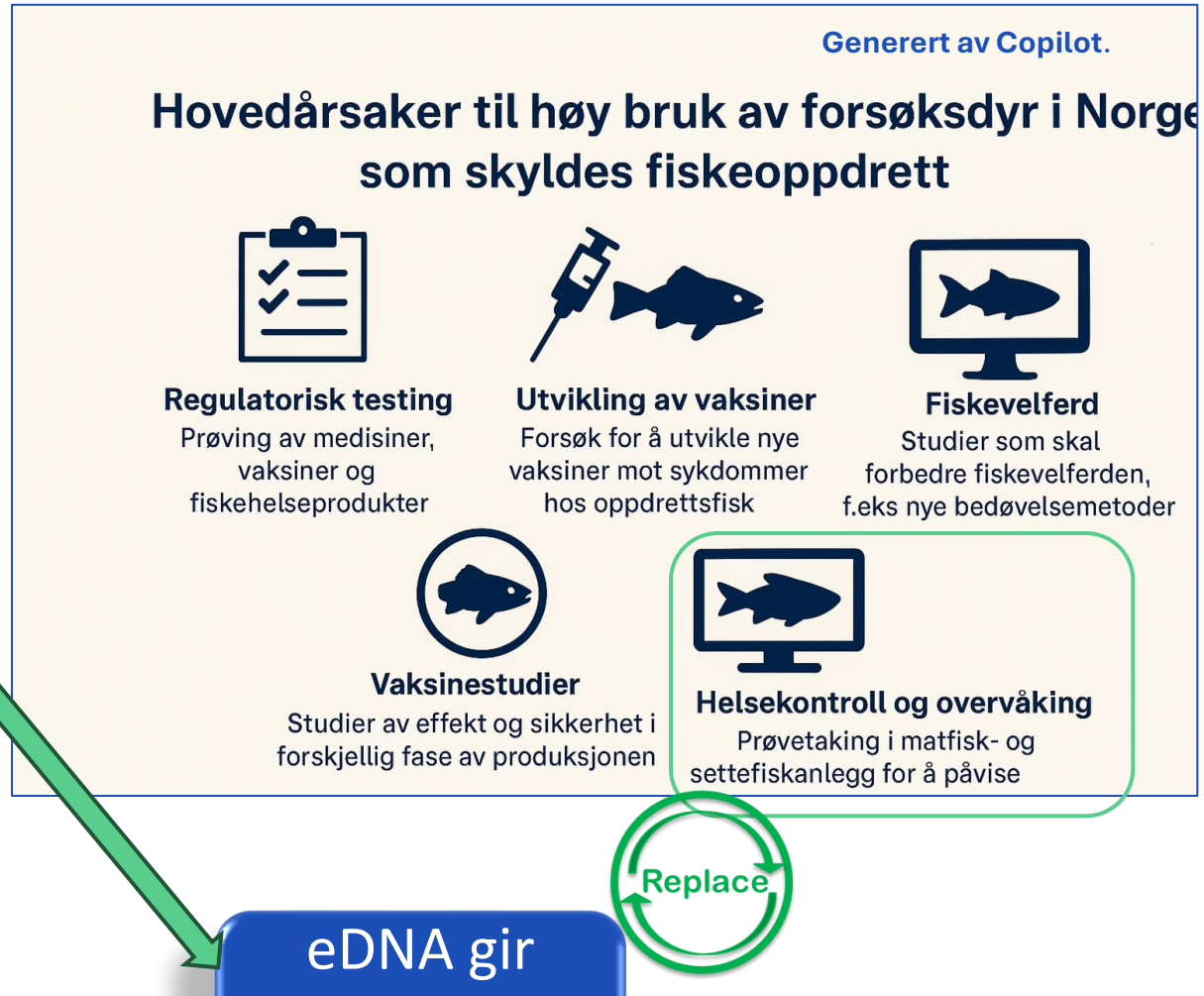
Smittesporing i vann uten å stresse eller drepe

Bruk av fisk i forsøk (eksempel 2023 – generert av Copilot)

Kategori	Estimert antall fisk	Andel av totalen
Regulatorisk testing	ca. 250 000	~20 %
Utvikling av vaksiner	ca. 300 000	~25 %
Vaksinestudier (effekt/sikkerhet)	ca. 400 000	~33 %
Fiskevelferdsforskning	ca. 50 000	~4 %
Helsekontroll og overvåking	ca. 200 000	~16 %
Totalt (alle fisk)	ca. 1,2 millioner	100 %

Generert av Copilot.

Kilder: Forsøksdyrutvalgets årsrapport, Norecopa statistikk.
Tallene varierer noe fra år til år, men fisk utgjør **95–96 % av alle forsøksdyr i Norge**, og oppdrettsrelaterte forsøk er den klart største årsaken.

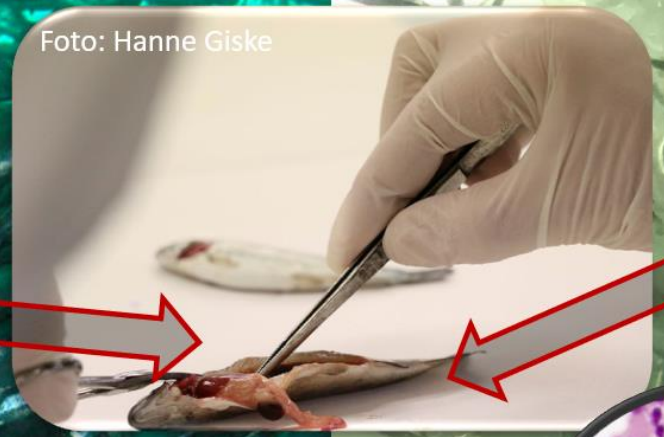


Veterinærinstituttet

Matfisk

Helsekontroll og overvåking
Prøvetaking i matfisk- og settefiskanlegg for å påvise

Foto: Hanne Giske



Settefisk

Enkeltfisk
Organprøver

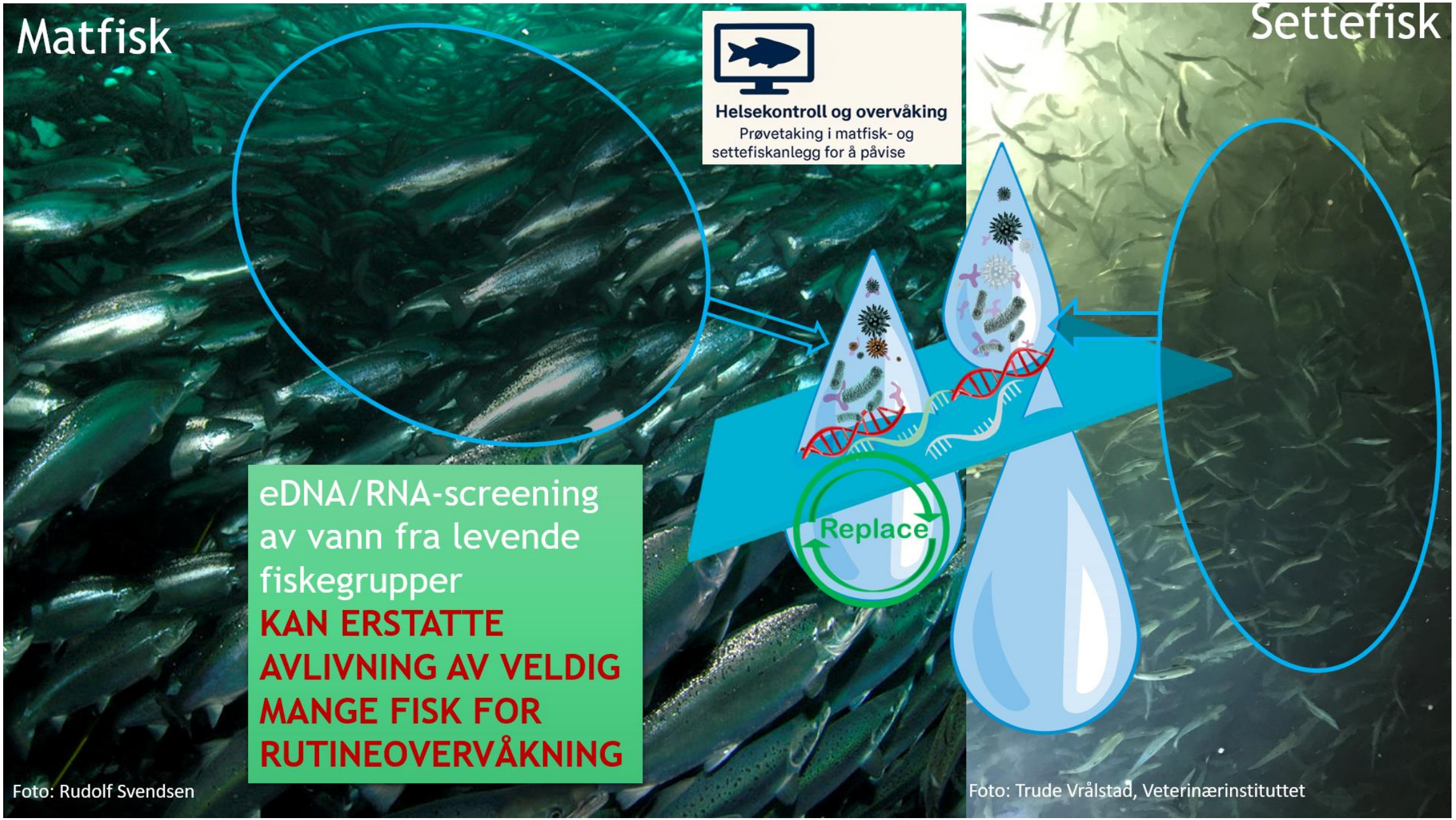


Rutinemessig helsekontroll:

- Minimum én gang per måned i stamfiskanlegg og matfiskanlegg
- 10-30 enkeltfisk tas ut for organundersøkelse diverse meldepliktige sykdommer
- **Krever veldig mange fiskeliv av frisk fisk!**

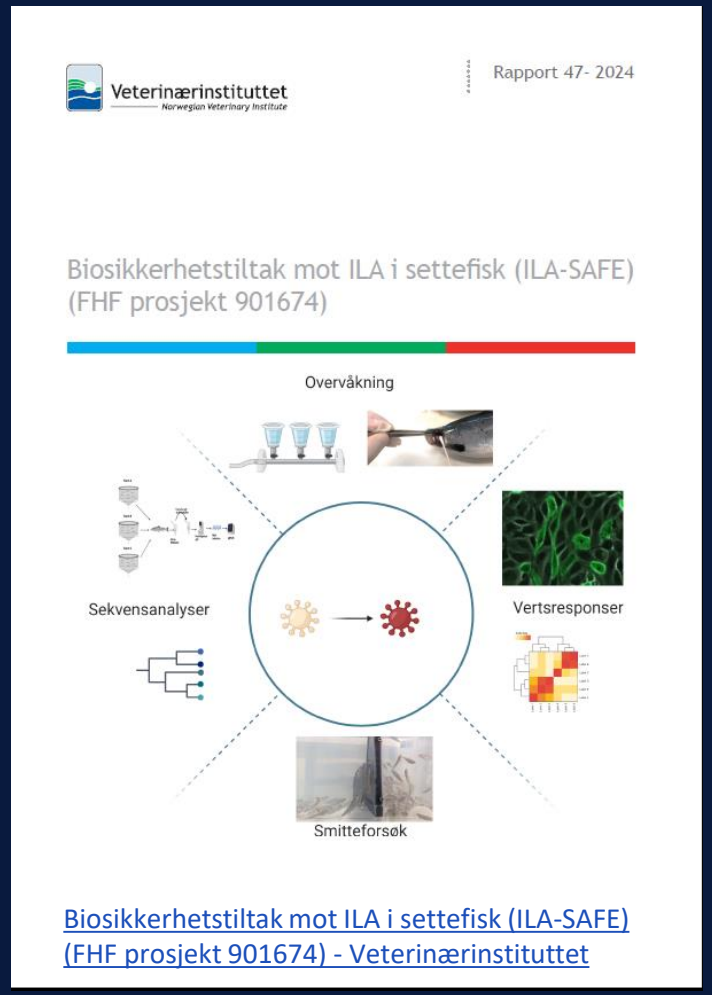
Foto: Rudolf Svendsen

Foto: Trude Vrålstad, Veterinærinstituttet



Veterinærinstituttet

Muligheter for Replace i fiskeoppdrett



[Biosikkerhetstiltak mot ILA i settefisk (ILA-SAFE) (FHF prosjekt 901674) - Veterinærinstituttet]

Bedre biosikkerhet og fiskevelferd med overvåkning av virus i miljøprøver



Torfinn Moldal, fiskehelseansvarlig



Hilde Sindre, seniorforsker, WOAH-referanseekspert PD

Slider er et utdrag fra dette webinaret:
[Opptak fra webinar om smitteovervåkning med miljø-DNA/RNA (eDNA) – Veterinærinstituttet]

Veterinærinstituttet

FHF

Dødelighet i norsk fiskeoppdrett er for høy:

Tabell 2.4.2 Tabellen gir en oversikt over andelen dødfiskregistreringer for laks innenfor de seks ulike hovedkategoriene (nivå 1) per år, basert på data fra «Fiskehelsedatabasen». *Merk: Tallene angir ikke den reelle prevalensen av de ulike kategoriene. Tallgrunnlaget vil endres hvis antall deltagende selskaper endres, og historiske data kan dermed også endres som følge av dette.

Nivå 1	2021*	2022*	2023*	2024*
Infeksjonssykdommer (A)	21,9 %	28,1 %	38,0 %	32,9 %
Miljøforhold (B)	0,2 %	0,4 %	2,7 %	8,8 %
Skader (traume) (C)	24,7 %	32,2 %	33,1 %	26,6 %
Fysiologiske årsaker (D)	5,9 %	4,5 %	4,1 %	5,7 %
Andre årsaker (E)	2,8 %	1,6 %	2,1 %	
Ukjent årsak (F)	44,4 %	33,2 %	19,9 %	
Totalt	100 %	100 %	100 %	

Infeksjonssykdommer er viktig utfordring

Tabell 6.1 Antall lokaliteter med laksefisk med påviste virussykdommer i perioden 2015-2024. *For perioden 2015-2019 er antall lokaliteter med CMS, HSMB og IPN kun basert på prøver sendt til Veterinærinstituttet, mens data som er gjort tilgjengelige fra oppdrettsselskaper gjennom de private laboratorier er inkludert i opptellingen siden 2020 (Kapittel 1 Datagrunnlag).

	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
ILA	15	12	14	13	10	23	25	15	18	13
PD	137	138	176	163	152	158	100	98	58	48
CMS	105	90	100	101	82	154*	155*	131*	129*	78*
HSMB	135	101	93	104	79	161*	188*	147*	184*	115*
IPN	30	27	23	19	23	22*	20*	12*	12*	13*

Veterinærinstituttet

[Fiskehelserapporten 2024 - Veterinærinstituttet]

Viktig å påvise smittestoffer tidlig!

Hindre spredning mellom avdelinger innen anlegg



Redusere konsekvenser av smitte/sykdom

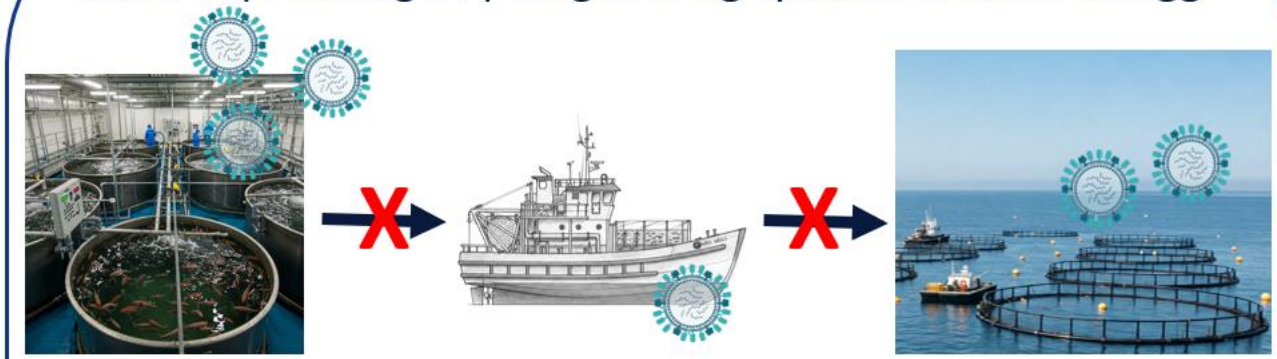
Justere fôringsregime





Begrense håndtering

Hindre spredning av patogener og sykdom mellom anlegg

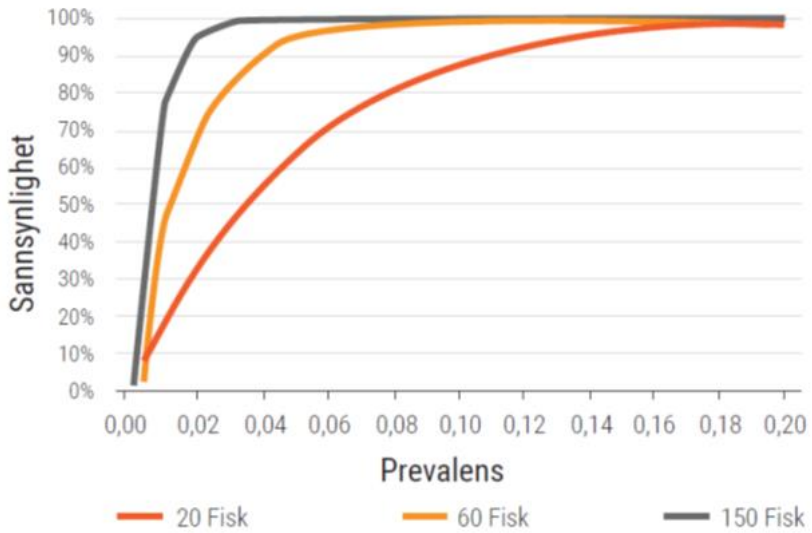


Tiltak:
Øke biosikkerhet/tidlig utslakting mm

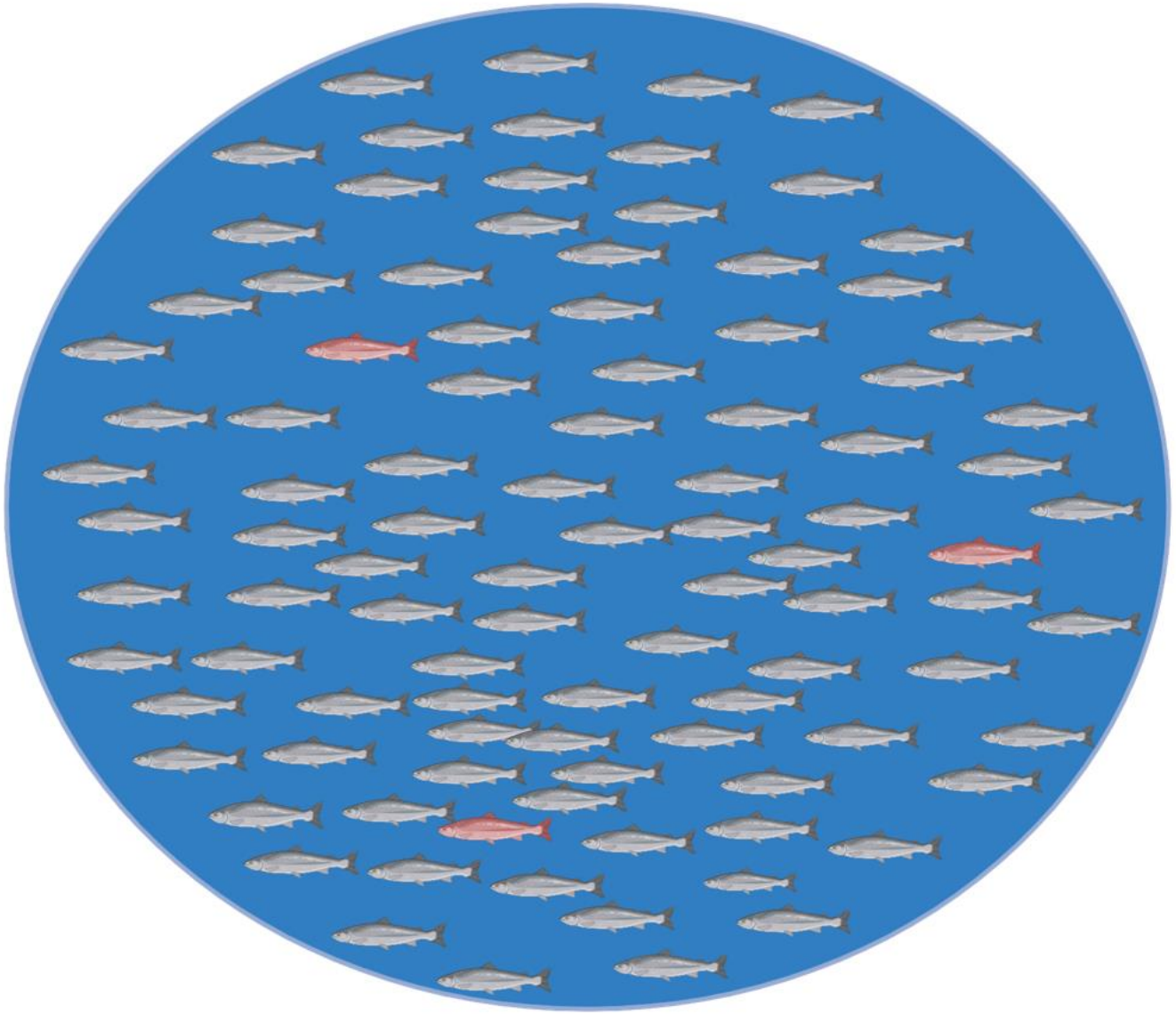


Illustrasjon: Hilde Sindre, Veterinærinstituttet

Utfordringer ved overvåkning for smittestoffer ved lav forekomst



Figur 2. Sammenheng mellom antall prøver til laboratorieanalyse og sannsynlighet for å påvise minst en smittet fisk ved ulike prevalens når testen som benyttes er perfekt (Se=Sp = 1) . Anne Gerd Gjevre, Veterinærinstituttet, Norsk Fiskeoppdrett 4, 2018

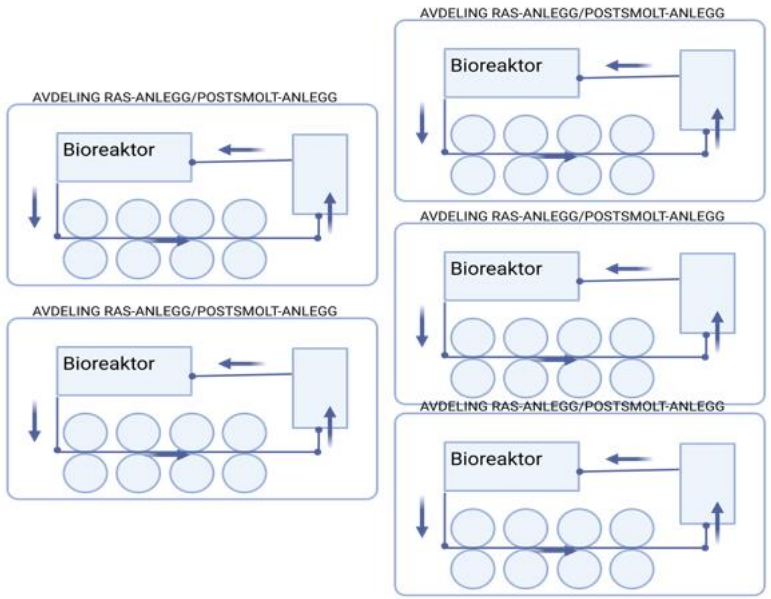


Veterinærinstituttet

Illustrasjon: Hilde Sindre, Veterinærinstituttet

Utfordringer ved overvåkning for smittestoffer:

Store anlegg med millioner av fisk



Prøvetaking av mange friske fisk



Stresse fisken unødig → Nedsatt helse og velferd

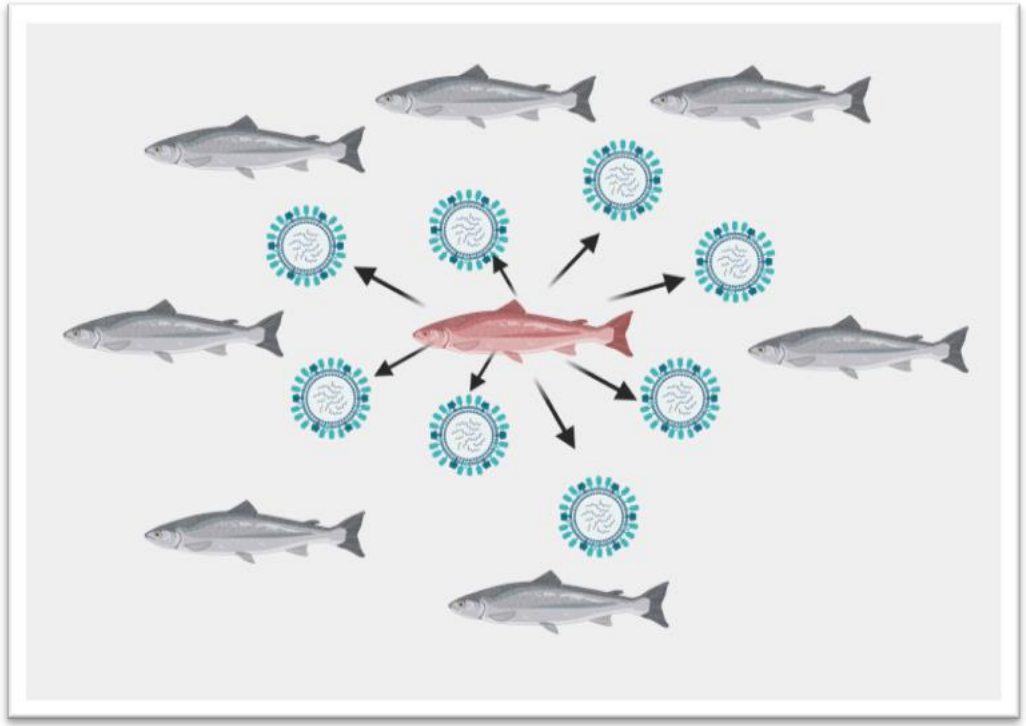


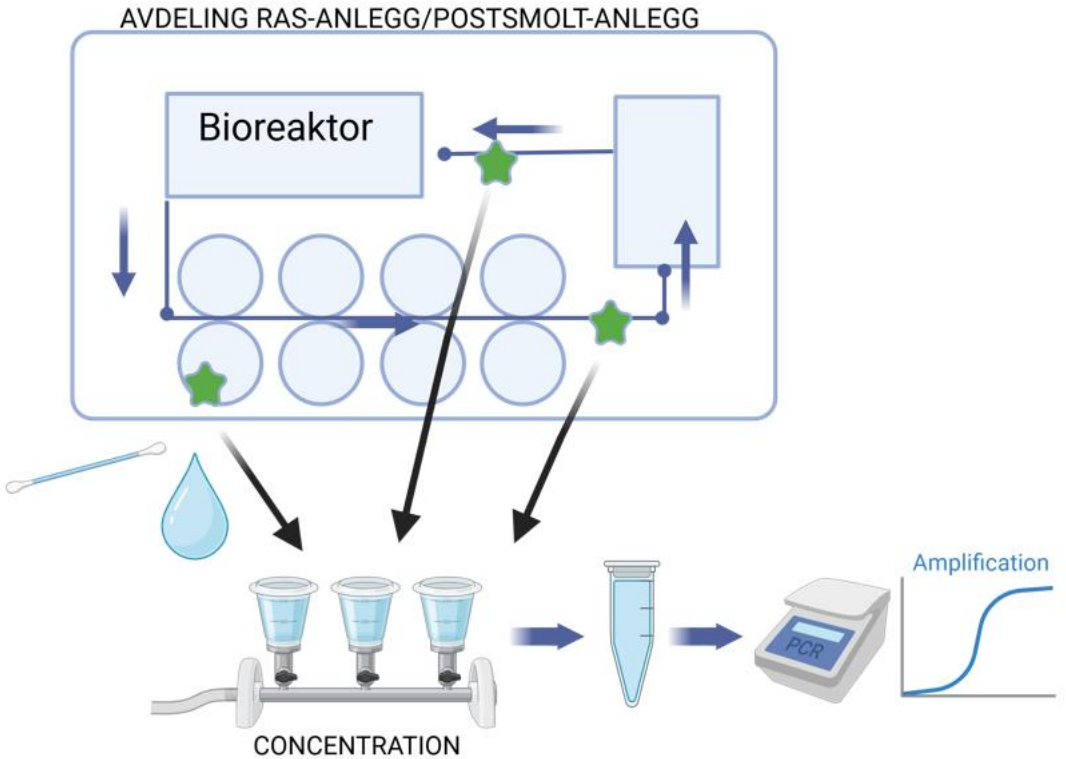
Kostnader til prøvetaking og analyser

Veterinærinstituttet

Illustrasjon: Hilde Sindre, Veterinærinstituttet

Store mengder virus skilles ut i viremisk fase – derfor er overvåkning av vann en opplagt mulighet for oppdagelse tidlig







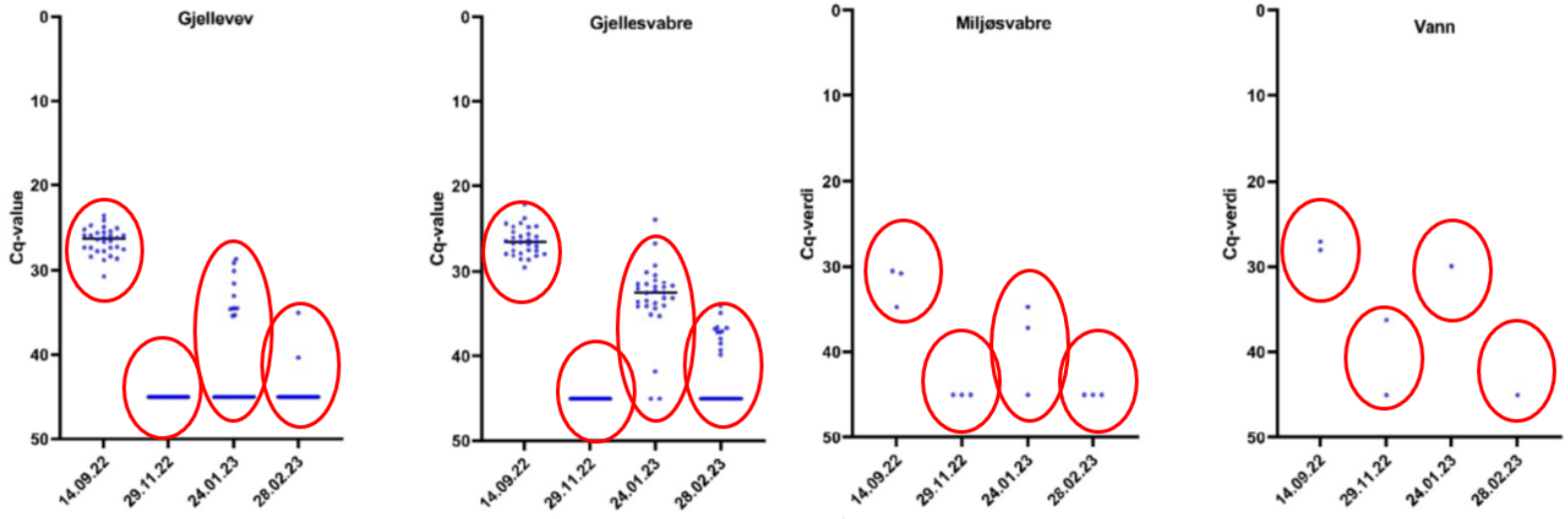
+ LITE ANTALL PRØVER
+ BEGRENSET STRESS FOR FISKEN
+ INGEN FRISKE FISK MÅ PRØVETAS
+ REDUSERTE KOSTNADER

Veterinærins

Illustrasjon: Hilde Sindre, Veterinærinstituttet

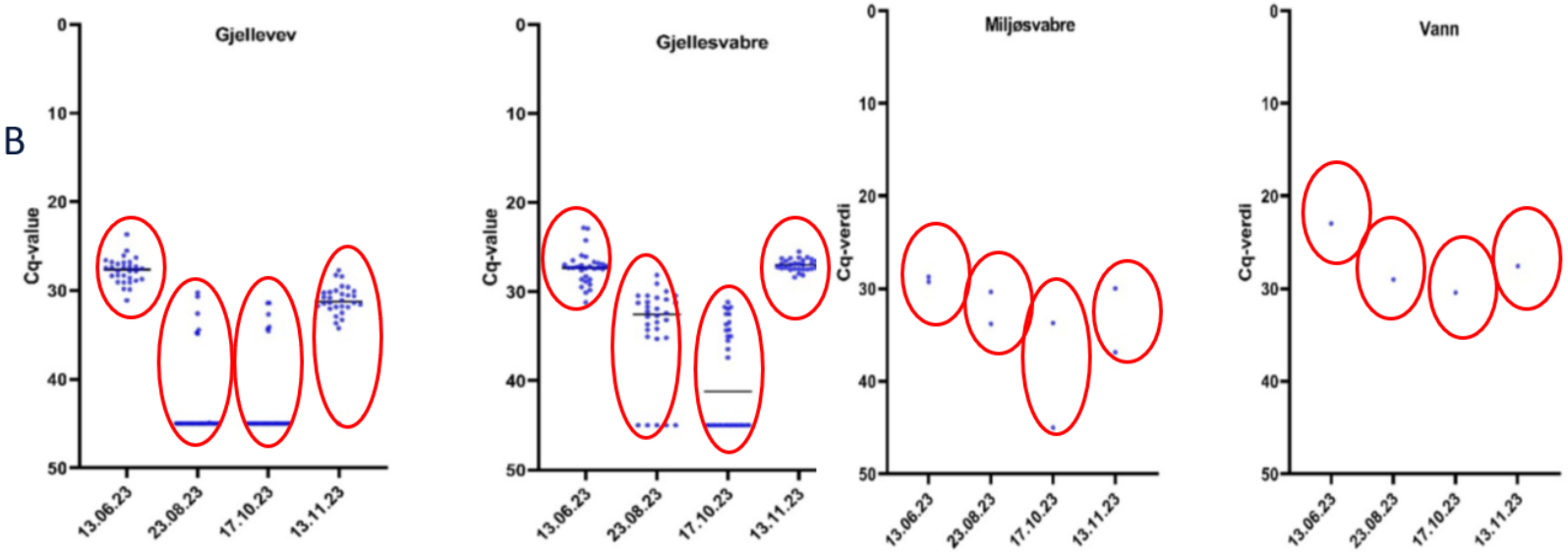
Erfaringer med miljøprøver fra settefiskanlegg (ILA-SAFE):

Anlegg A



Påvisning av ILAV HPR0 på anleggsnivå uavhengig av prøvetype

Anlegg B



SAMLEPRØVER FRA MILJØET (VANN OG BIOFILM) GIR MEGET GODE SVAR SOM KORRELERER MED ORGANPRØVER

Grafer laget av Torfinn Moldal

Muligheter for erstatning

- **Vann- og miljøprøver fungerer godt til overvåkning av virusforekomst i lukkede anlegg**
- **Øker mulighet for bedre biosikkerhetstiltak som kan bedre helse og velferd for fisken**
- **3R-vennlig og potensielt kostnadsreduserende**
- **Stort potensiale for å erstatte bruk av organer fra (ofte frisk) fisk for helsekontroll**



Utfordring med å få til endringer

- Finansiering til å validere nye 3R-vennlige metoder for bruk i oppdrett
- Insitament for å innføre 3R-vennlige metoder i næringen
- Statlig regelverk og EU-regelverk står ofte i veien for endringer
- Lang vei for å endre «gullstandard», rutiner, vaner, regler

Veterinærinstituttet

Flere slider i dette foredraget er presentert fra egne foredrag i et eDNA webinar som kan ses på her: Opptak fra webinar om smitteovervåkning med miljø-DNA/RNA (eDNA) – Veterinærinstituttet

Faglig ambisiøs, fremtidsrettet og samspillende – for én helse



Veterinærinstituttet