



FISKERI- OG HAVBRUKSNÆRINGENS
FORSKNINGSFOND

FHF

Prosjekt 901036

Foreløpige resultater fra behandlingsforsøk mot *Paramoeba perurans*

Sigurd Hytterød

Tor Atle Mo

Haakon Hansen

Saima N Mohammad

Trygve Poppe

Linda Andersen



Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Hensikt og målsetning

- Prosjektet skal resultere i bedre forståelse for hvordan laks kan behandles med H_2O_2 og ferskvann mot AGD på en mest mulig effektiv måte
- Dose-responsstudier for optimalisert behandling



5 eksperimentelle forsøk

- H_2O_2 - konsentrasjon og behandlingstid (dose)
- H_2O_2 - effekt av vanntemperatur ved ulike doser
- Effekt av behandling med H_2O_2 og ferskvann ved forskjellig gjellescore
- Ferskvann - tid, temperatur og ionestyrke
- Ferskvann + H_2O_2 - behandlingstid ved ulike sjøvannsinnblandinger

Forsøksoppsett og gjennomføring

- Standardisert forsøksoppsett hos ILAB:
 - Unison smitting med *P. perurans* ved 34‰ og 14° C
 - Fordeling av laks på 10 forsøkskar ved oppnådd ønsket gjellescore
 - Behandling med aktuelt medium/konsentrasjon/tid
 - Dokumentasjon av sykdom- og behandlingseffekt ved tidene:
 - Før smitte med *P. perurans* (referanse)
 - Tid 0 - like før behandling
 - 24t, 3d, 7d, 14d og 21d etter behandling

Prøvetaking og analyser

- Gjellescore - utvikling etter behandling
- RT-PCR - kvantifisering av amøber
- Gjellehistologi - sykdomsutvikling og restitusjon
- Blodprøver - fysiologiske endringer og restitusjon
 - Tid før smitte, før behandling, 24t, 7d og 21d etter behandling
- Dødelighet - behandlingsrelatert og AGD-relatert



Forsøk 1 H₂O₂ - Konsentrasjon og behandlingstid

- Dose-responsforsøk med utvalgte kombinasjoner av konsentrasjon og behandlingstid (34% og 14° C)
- Planlagt forsøksoppsett

	600 ppm 40 min	600 ppm 60 min
900 ppm 20 min	900 ppm 40 min	900 ppm 60 min
1100 ppm 20 min	1100 ppm 40 min	
1300 ppm 20 min		
1500 ppm 20 min		Kontroll

Foreløpige resultater forsøk 1

Målte H₂O₂-konsentrasjoner og observert dødelighet

Planlagt behandling	Gjennomført behandling	Dødelighet (%)
Kontroll	Ikke behandlet	-
900 ppm / 20 min	930 ppm / 20 min	0
1100 ppm / 20 min	1150 ppm / 20 min	0
1300 ppm / 20 min	1400 ppm / 20 min	13,8
1500 ppm / 20 min	1600 ppm / 20 min	29,3
600 ppm / 40 min	620 ppm / 40 min	3,5
900 ppm / 40 min	910 ppm / 40 min	45,6
1100 ppm / 40 min	1100 ppm / 40 min	25,8
600 ppm / 60 min	400 ppm / 60 min	0
900 ppm / 60 min	1350 ppm / 20 min*	0

- * H₂O₂ inndosert over en periode på 5 minutter



Forsøk 1 - Effekter av behandling

- Skader på slim?
- Pigmentforandringer?
- Sturende fisk uten fluktrespons



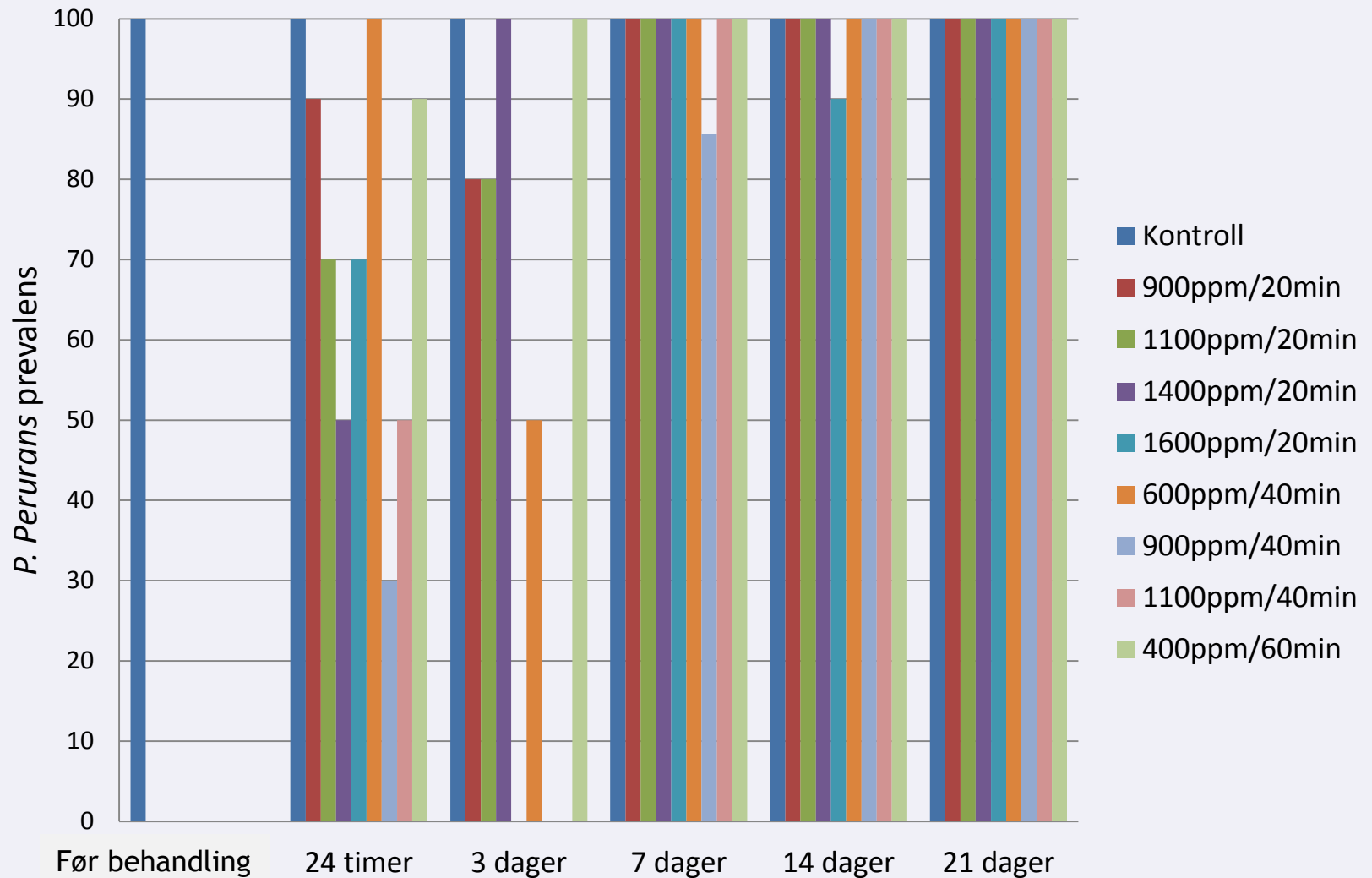
Forsøk 1 - Effekter av behandling

- Gjelleblødninger



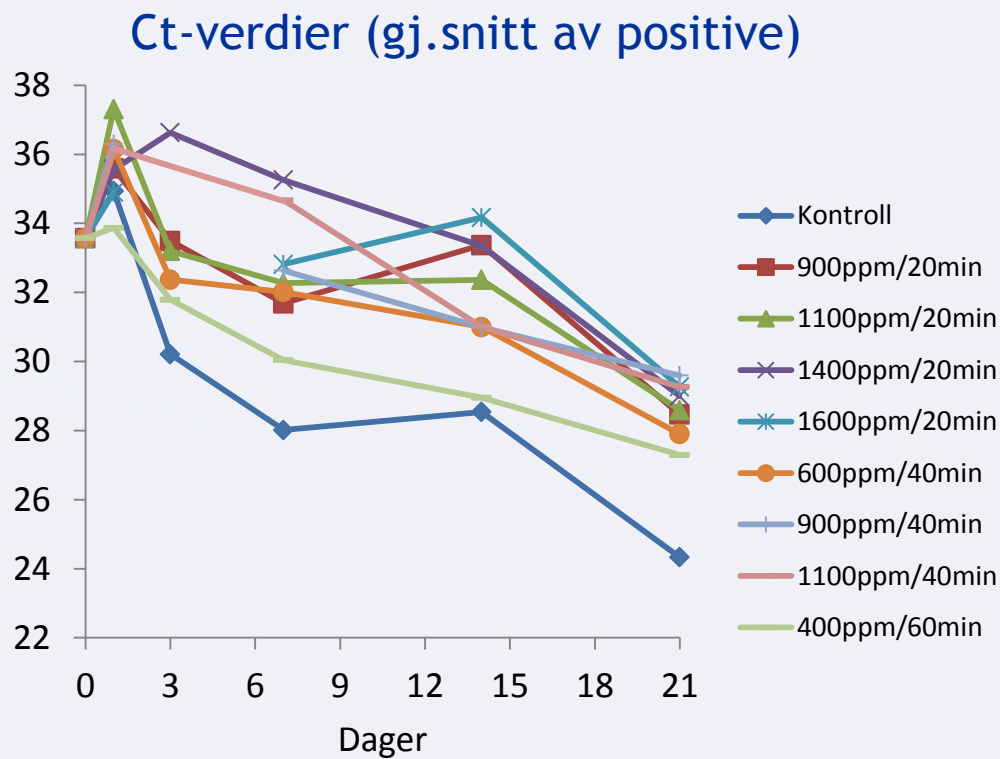
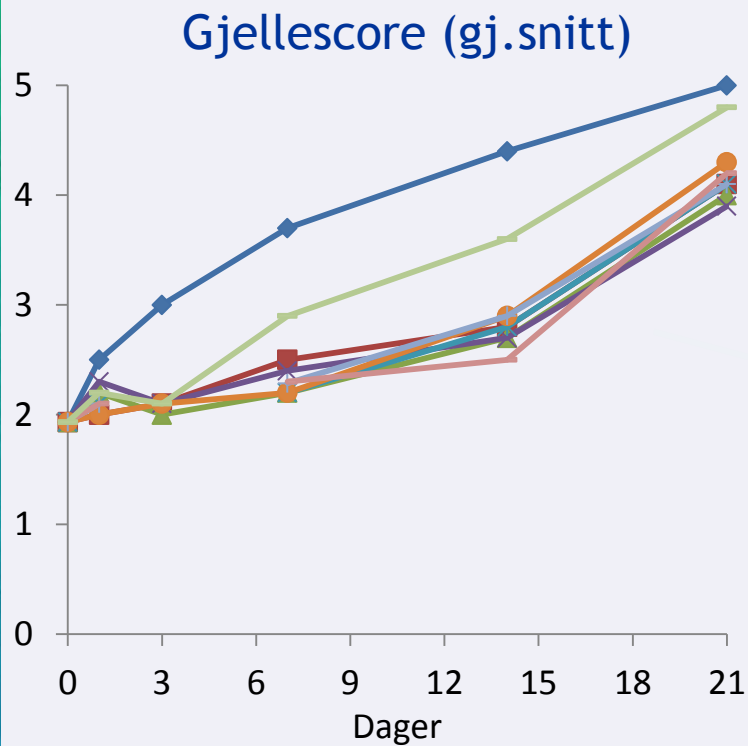
Forsøk 1 - foreløpige resultater

Prevalens for *P. perurans*



Forsøk 1 - foreløpige resultater

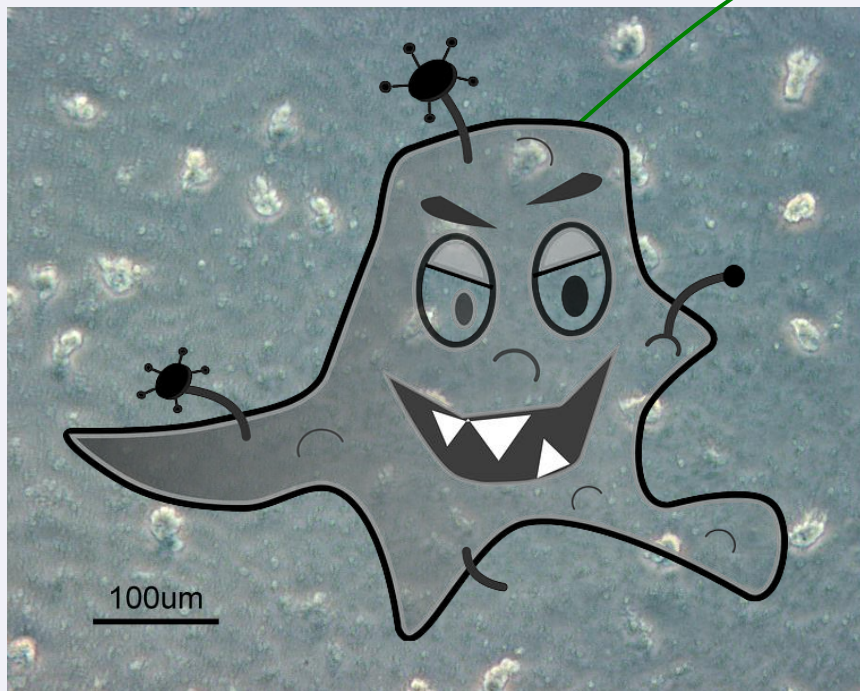
Utvikling i gjellescore og *P. perurans*



Oppsummering forsøk 1

- Positive effekter av behandling
 - Alle behandlingsdoser reduserte utviklingen av AGD sammenlignet med ubehandlet kontroll
 - Lave H₂O₂-doser reduserte utviklingen av AGD
- Negative effekter av behandling
 - H₂O₂-behandling med doser som er vanlig å bruke i anlegg ga dødelighet i flere av gruppene
 - Blødning i gjellene og tilsynelatende skader i slimlaget
 - Ingen av de testede dosene fjernet amøben

In-vitro forsøk med amøbekulturer og H₂O₂

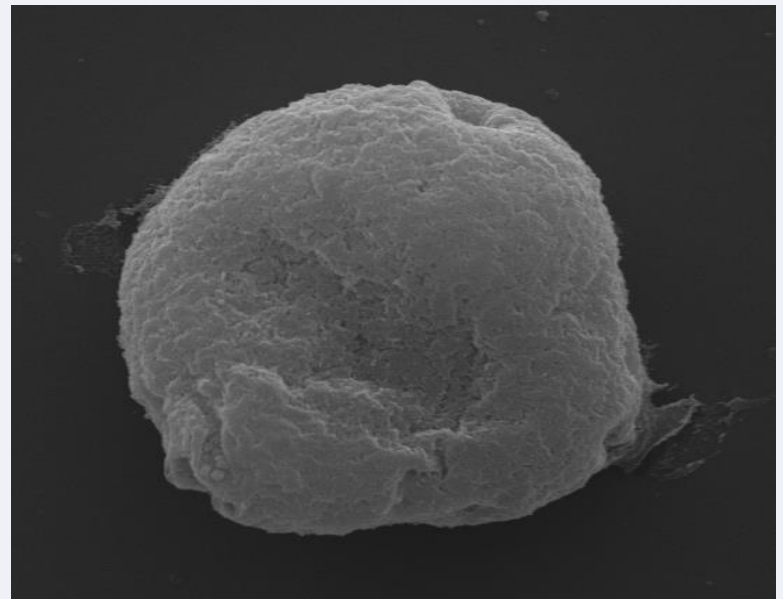
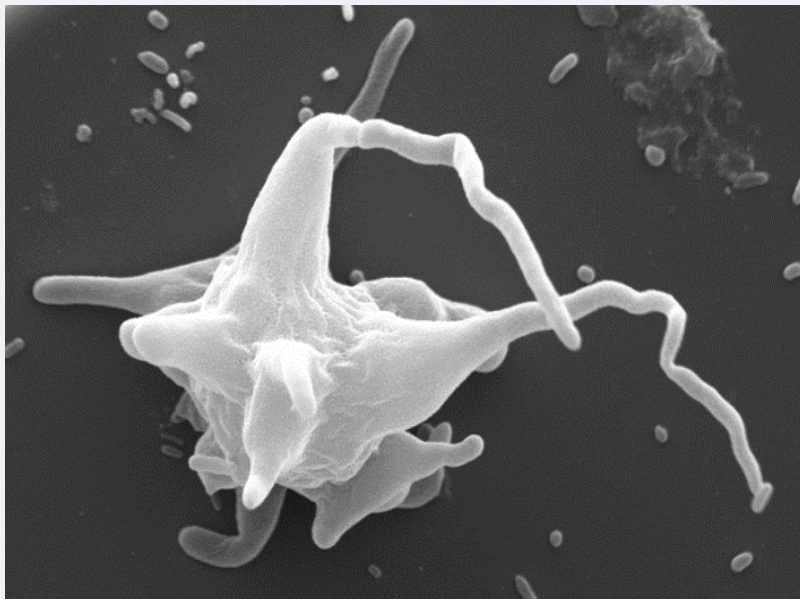
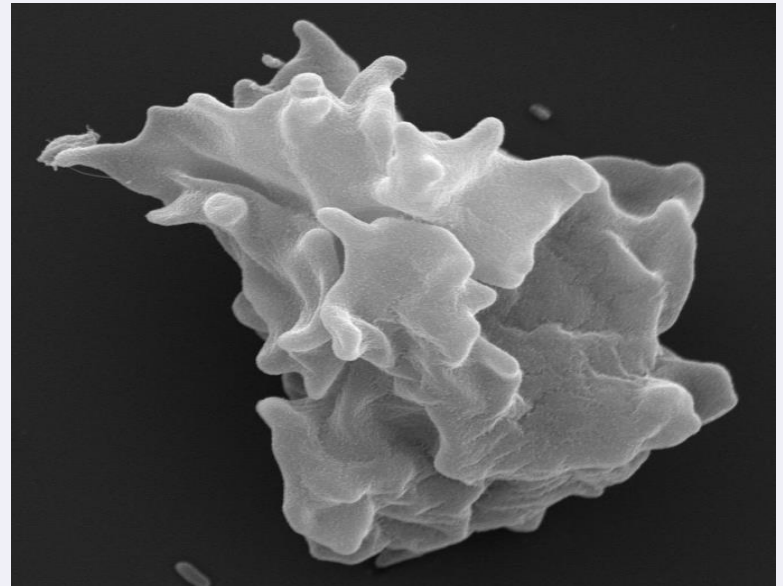
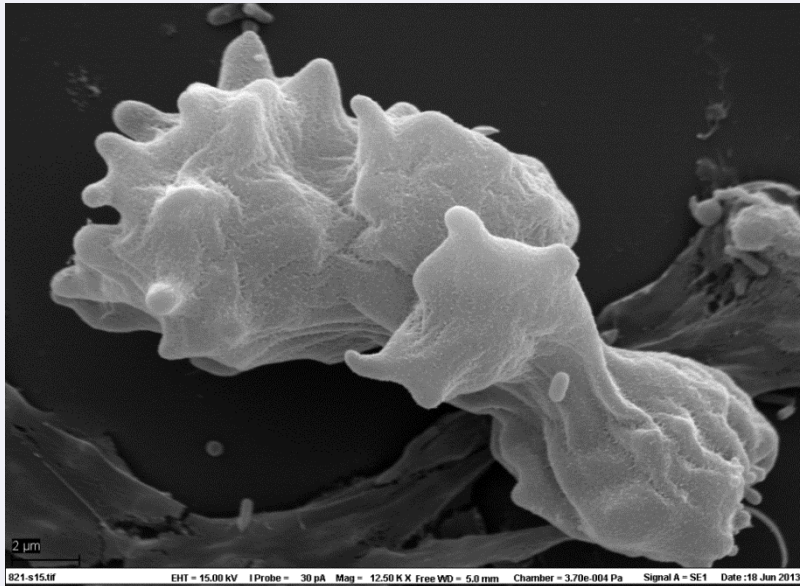


- 1100 ppm
- 1300 ppm
- 1500 ppm
- 1800 ppm
- 2100 ppm
- 3000 ppm
- Ferskvann
- Sjøvann 34 ‰ - kontroll



- Ca 30 000 amøber (200 µl) til 50 ml behandlingsvann
- Behandling i 20 min ved 15 °C
- Tilbakeføring av amøber til MYB
- Ukentlig observasjon i mikroskop

Paramoeba perurans - ulike former



In-vitro H₂O₂ resultater

- H₂O₂ 1100 og 1300 ppm:
 - Små runde amøber etter 3 uker. Store, «normale» amøber etter 4 uker
- H₂O₂ 1500, 1800, 2100 og 3000 ppm:
 - Antydning til vekst etter 3 uker. Tett vekst etter 4 uker, men små amøber
- Ferskvann: Små runde amøber etter 4 uker
- Verifisering av *P. Perurans* med positiv RT-PCR ved alle eksponeringer
- Enkeltamøber overlever eksponering for 3000 ppm i 20 min
- Enkeltamøber overlever eksponering for destillert FV i 20 min

In-vitro forsøk med amøbekulturer og ferskvann



- FV-40 min
- FV-60 min
- FV-120 min
- FV-180 min
- FV-240 min
- FV-300 min
- SV-300 min

- Antydning til vekst etter 5 uker i enkelte eksponeringer
- Store fine amøber etter 9 uker i alle eksponeringer
- Lengre tid fra eksponering til observert vekst ved FV-enn ved H₂O₂-eksponering