

Årsmøde for dyrevelfærdsorganerne

Udvalget for forsøgsdyr og
alternativers årsmøde 1.6.2022

Infektionsforsøg med fisk

Kurt Buchmann

IVH

KU-SUND

KØBENHAVNS UNIVERSITET



Hvorfor fisk som forsøgsdyr?

- Mere end halvdelen af verdens konsumfisk (80 millioner tons) produceres i opdrætsanlæg
- Mennesket har således ansvar for sundhed og velfærd i systemerne
- Sygdomsangreb er blandt de største udfordringer
- Vi kan løse dem ved anvendelse af bæredygtige metoder herunder især: Vaccination og selektiv avl af sygdomsresistente fisk
- Vi har ikke pt et alternativ til dyreforsøg når de nye metoders effekt skal bedømmes
- Derfor må vi gennemføre smitteforsøg

Hvorfor regnbueørred som forsøgsdyr?

- Global produktion overstiger 800.000 tons om året
- Danmark producerer 48.000 tons om året
- De største sygdomsudfordringer i Danmark er forbundet med udbrud af:
 - Furunkulose
 - Vibriose
 - YDS
 - Rødmundsyge
 - Hvidpletsyge

Hvilke forsøg gennemfører vi?

- Vaccination: vurdering af nye vacciner og nye administrationsmetoder
- Smitte nødvendig ved effektivvurdering
- Markørbaseret genetisk selektion af resistente fisk: Vurdering af særlige genotyper med specifik modstandskraft mod sygdomme
- Smitte nødvendig ved effektivvurdering

Hvilke vaccinationsmetoder kan vi teste?

- Vaccinationsmetoder



- Immersion
- Bad
- Oral
- Injektion i.p.
- DNA vaccination i.m.
- RNA vaccination i.m.

Vaccination ved immersion eller i.p. injektion



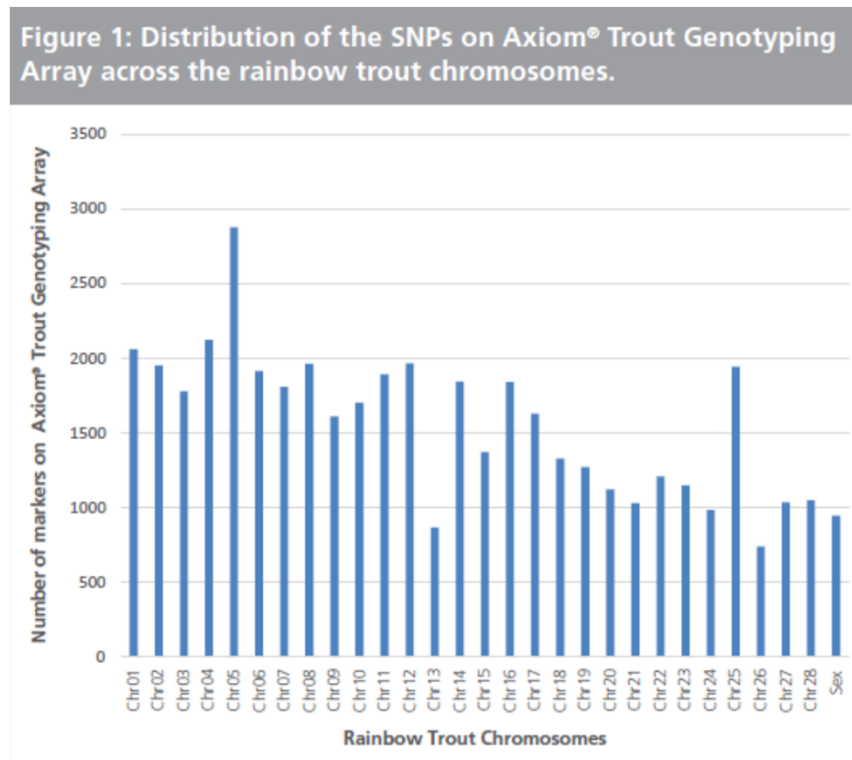
Hvilke avlsmetoder kan vi teste?

- QTL for naturlig og medfødt modstandskraft over for:
- Rødmundsyge
- Yngeldødelighedssyndrom
- Furunkulose
- Vibriose
- Hvidpletsyge



Klassisk avlsmetode: smitte af et højt antal familier - selektion af ønskede varianter – afventen af kønsmodning – produktion af ny generation (3-4 år). Resultater i produktionen efter årtier.

Vor metode: Markør-baseret selektion af sygdomsresistente fisk ved genotypnings-assay: Microarray bestemmelse af 57,100 SNPs i regnbueørred-genomet.
En ny generation med forhøjet resistens klar allerede inden for 6-12 mdr.



Desinfektion af øjenæg ved ankomst til klækkeri



Øjenæg – ægskal indeholdende
fiskefoster med udviklede øjne

Blommesæklarver udklækket



Startfodring og fremkomst af pigmenteret ørredyngel

Tilvækst til ønsket størrelse



Hvordan smitter vi fiskene?

- Badning i en opløsning af den specifikke patogen
- Injektion i.p.

Hvordan udtager vi prøverne?

Aflivning af sygdomsramte fisk ved en overdosis Tricain-methan-sulphonat (immersion) og dernæst prøvetagning



Smitte: YDS fremkaldt af *Flavobacterium psychrophilum*



Smitte i små
eller større fisketanke



Tilsætning af bakterier

YDS fish infected with *Flavobacterium*

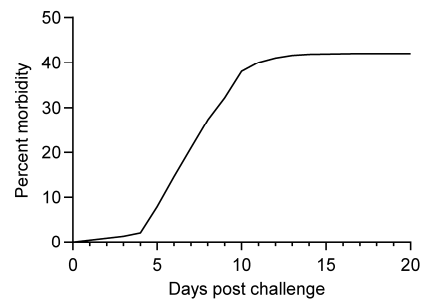


Eksponering i 6 timer med
Flavobacterium



Eksempel: rødmundsyge-smitte med *Yersinia ruckeri*

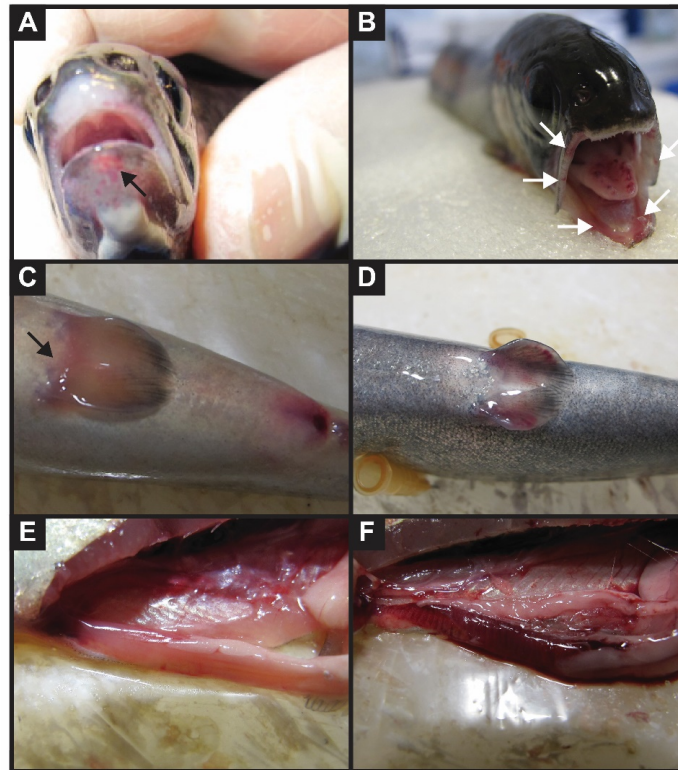
Yersinia challenge



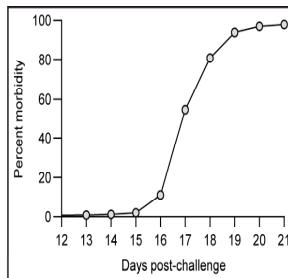
Rødmundsygesmitte: Badning med *Yersinia* i mindre volumen og høj koncentration i 2 timer



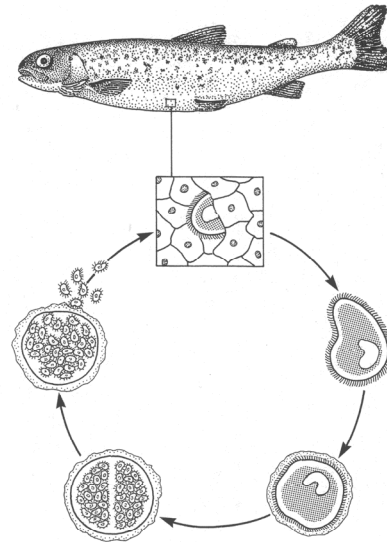
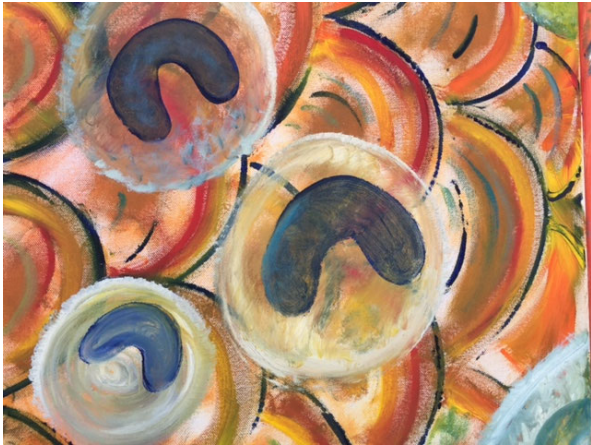
Kliniske tegn på rødmundsyge



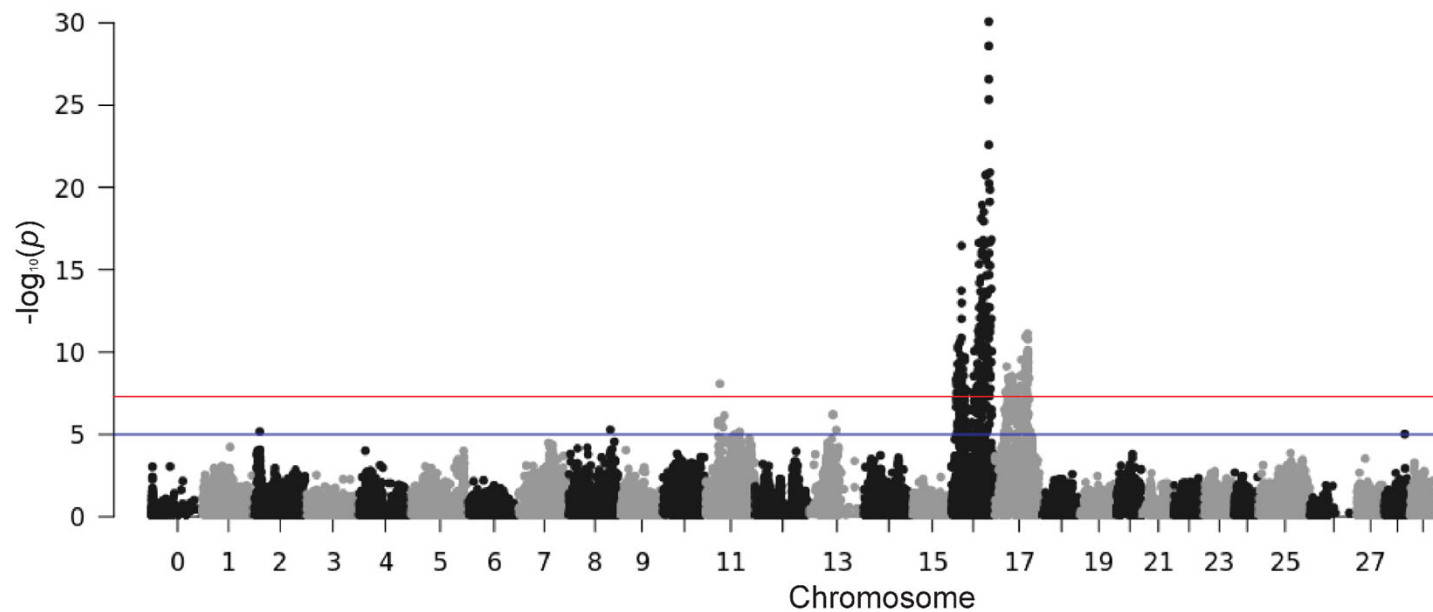
Smitte med *Ichthyophthirius multifiliis* – hvidpletsygeparasitten



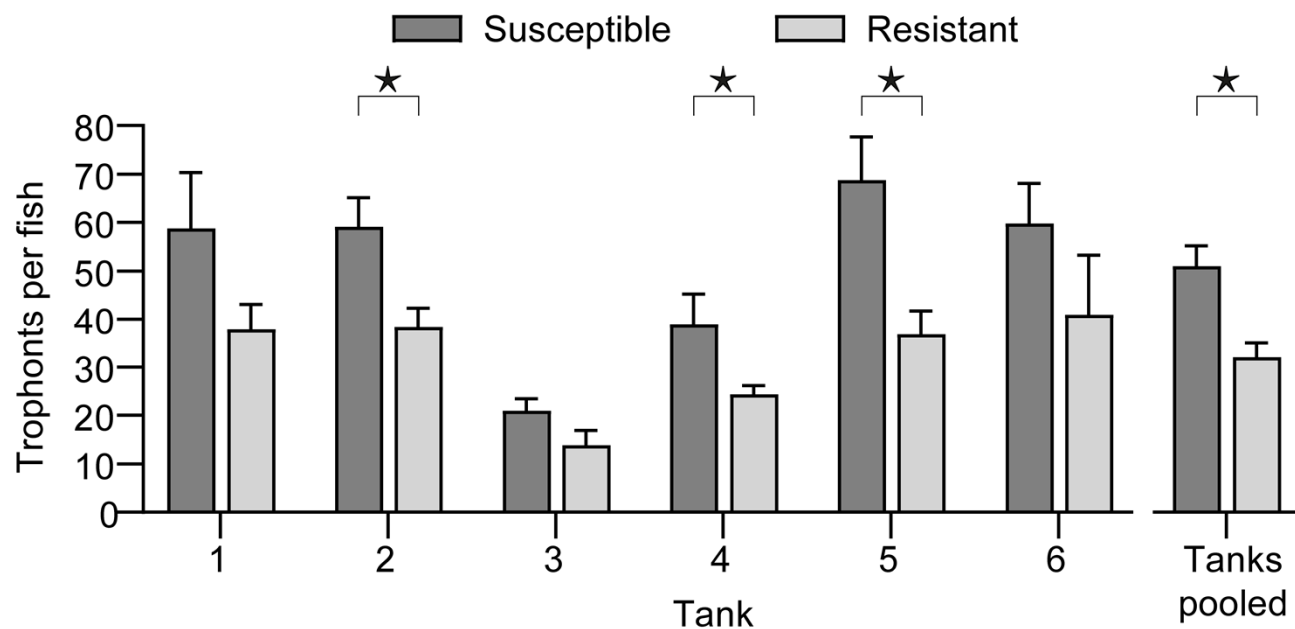
Livscyklus for hvidpletsyge-parasitten *Ichthyophthirius*



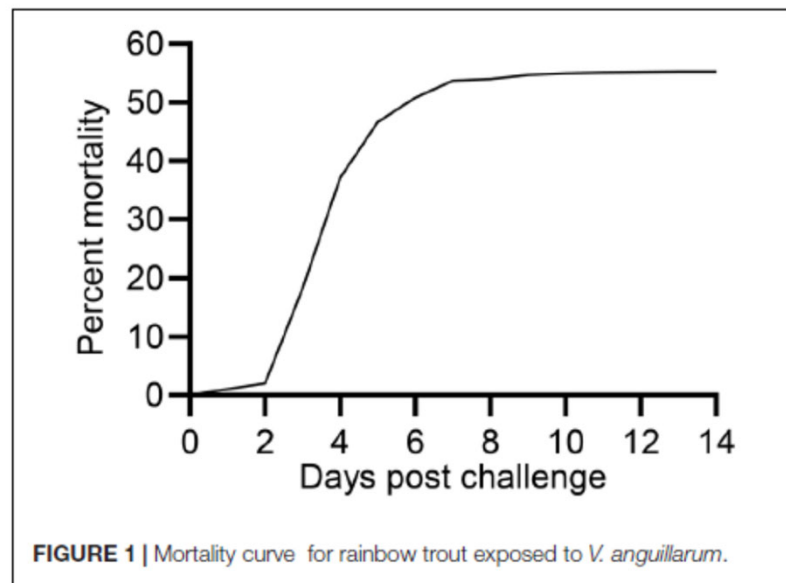
SNP analysen viser, at kromosomerne 16 and 17 bærer gener for en relative resistens overfor parasitten *Ichthyophthirius*



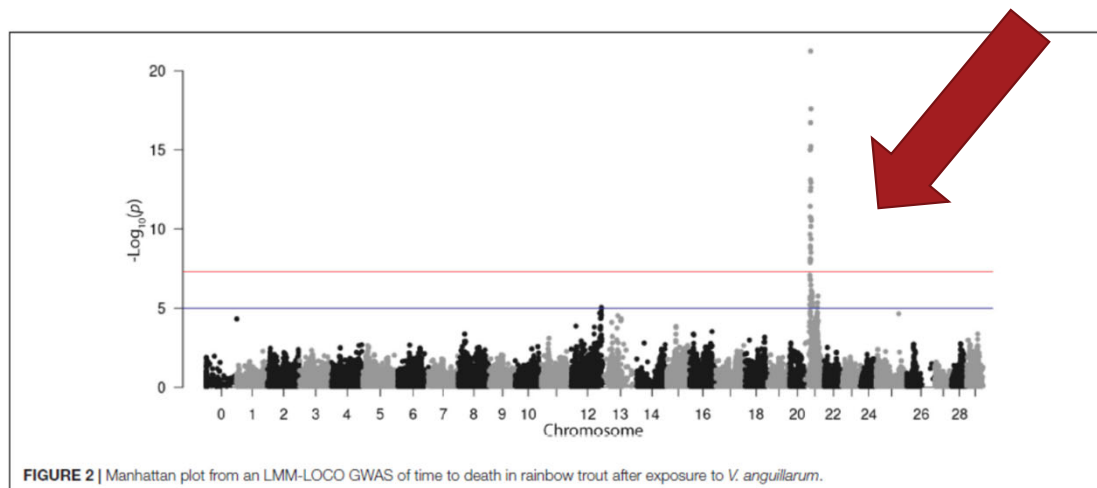
Validering af de fundne QTL: Heterozygote regnbueørreder testet i hexaplikate smitteforsøg: Lavere *Ichthyophthirius* infektion og nedsat sygelighed.



Bad-smitte med *Vibrio anguillarum*, der fremkalder vibriose. Fisk udtages ved fremvisning af sygdomstegn. Alle fisk DNA-types og SNPs analyseres



Analysen viser at de fisk, der ikke fremviser sygdomstegn, alle bærer markører på kromosom 21. Validering af denne QTL gennemført: 30-50 % reduceret sygelighed i heterozygote ørreder.



Hvordan fungerer overvågningen i praksis?

- Observation over 24 timer i hele forsøgsperioden (tjek mindst hver anden time døgnet rundt) fra smitte til endelig aflivning af overlevende fisk.
- Kliniske tegn som begrundet udtagning og aflivning er balanceforstyrrelser, sløvhed, misfarvning, blødninger, markant ændret adfærd (ligger på fisketankens bund eller søger overfladen med uregelmæssige bevægelser).
- Vagtordning omfattende ofte 8-10 medarbejdere anvendes.
- Natarbejde nødvendigt.
- Udmattende for medarbejdere.
- Kan give diskussion om sikkerhed i nærmiljøet på Frederiksberg Campus, når medarbejderen tager hjem ved midnat.
- Men metoden sparer masser af fiskeliv – laboratoriet og på dambrugene - og masser af andet klassisk avlsarbejde.

Tak for opmærksomheden

