

Sammendrag

Bruk av medikamenter, Resistens og bruk av bioassay til måling av følsomhet

Dr PhD Sigmund Sevatdal, Veterinærmedisinsk Oppdragssenter (VESO)

Utvikling av resistens er et resultat av en arts egenskaper til å tilpasse seg forandring i omgivelsene. Resistens oppstår på grunn av seleksjon ved at oppdrettsanlegg behandles med kjemikalier. I en populasjon er det variasjon mhp egenskaper. Det er følsomme og mindre følsomme individer. Ved subletale doser (doser som ikke er høye nok til å drepe alle individer) er det lus som overlever (mindre følsomme). Disse formerer seg med hverandre og produserer avkom der frekvensen av mindre følsomme individer er høyere enn i foreldregenerasjonen.

Forhold som bidrar til utvikling av resistens er ensidig bruk av behandlingsmidler. Det er derfor viktig å veksle mellom midler som virker på ulike mekanismer. Oppdrettsnæringen tar mer og mer i bruk stormærer (- opp til 160 m i diameter). Disse er teknisk vanskelige å behandle riktig med bademidler (pyretroider: AlphaMax – deltametrin og Betamax – cypermetrin). Virketiden er kort 30 – 40 min, og det skal være dødelig dose i tilstrekkelig tid i hele volumet der det er fisk. I tillegg krever en badebehandling ekstra utstyr, mannskap og godt vær lenge nok til å behandle hele anlegget. Det er derfor lettvinnt og praktisk å ty til orale midler. Det er kun et oralt middel tilgjengelig pt (Slice – emamektin), noe som fort fører til ensidig bruk.

Ved sykdom vil appetitten bli redusert i anlegget, dvs syk fisk spiser dårlig og vil ikke bli behandlet. Ubehandlet lakselus vil fordele seg i anlegget etter behandling, og på den måten bli utsatt for subletale doser. Svimere spiser også dårlig, og lakselus på disse vil heller ikke bli behandlet. Det er også viktig å behandle med et middel lakselusa er følsom overfor, og ikke et middel der det allerede er utviklet noe nedsatt følsomhet.

Bioassay er en metode som går ut å eksponere grupper av lakselus for forskjellige doser av lakselusmiddel. Dette gir en dose – respons kurve, som følsomheten kan beregnes ut fra. Med probit estimering beregnes EC_{50} som er et mål for følsomhet (EC_{50} = effektiv konsentrasjon – den konsentrasjonen som inaktiverer 50 % av individene).

Bioassay emamektin (Slice)

- Pre-adult II, 50 % av hvert kjønn
- Eksponeres i petriskåler
- Eksponering i 24 timer deretter evaluering
- 6 doser (0, 50, 100, 200, 400 og 800 ppb)

Bioassay med pyretroider (Alphamax og Betamax)

- Pre-adult II, 50 % av hvert kjønn
- Eksponering i 30 min AlphaMax og Betamax
- 6 doser (AlphaMax: 0, 0.03, 0.1, 0.3, 1 og 3 ppb, Betamax: 0, 0.15, 0.5, 1.5, 5 og 15 ppb)
- Evalueres 24 h etter endt eksponering

Det er funnet korrelasjon (lav) mellom følsomhet for pyretroider og enzymaktivitet. Det er også kryssresistens mellom de to pyretroidene deltametrin og cypermetrin. Testen er også verifisert med tilfeller av nedsatt følsomhet i felt. I disse tilfellene er det samlet inn

eggstrenger etter mislykkede behandlinger. Disse er kultivert fram til preadult II, som er testet i bioassay. Det er også funnet en mutasjon på samme sted i Na-kanalen som for KdR resistens ("Knock down Resistance") på populasjoner av lakselus som har vist nedsatt følsomhet i bioassay. Bioassay med emamektin er verifisert med dokumenterte resistente populasjoner fra felt på samme måte som for pyretroider. Det er også verifisert motsatt vei, dvs det er utført bioassay på lakselus før behandling. Det har vært dårlig effekt av behandling i tilfeller der bioassayet viste lav følsomhet. Imidlertid trenger bioassayet med emamektin ytterligere kalibrering, dvs følsomheten til ulike stadier bør undersøkes bedre, for at resultatet kan tolkes optimalt.

Bioassay har den fordel at det gir resultat uavhengig av resistensmekanisme. Vi har også etter hvert et godt historisk arkiv for sammenligning og tolking av resultater. Resultatene til nå viser god korrelasjon med effekt av behandlinger. Imidlertid er bioassay en "grov" metode som kun indikerer følsomhet. Det er derfor usikkert om metoden kan brukes til tidlig "varsling" av resistens. Den er avhengig av at forsøksmaterialet er av god kvalitet. Dette betyr at testene må gjøres på stedet, eller aller helst på 1. generasjon dyrkede individer. Testene ble standardisert med 1. generasjon dyrkede lakselus, men dette er kostbart, og tar lang tid (6 uker). Bioassay med dyrkede lakselus brukes kun til verifisering og kontroll i dag.

Resultater fra bioassay med emamektin viser en økende frekvens av populasjoner med redusert følsomhet. Det er også funnet populasjoner der respons har vært lav i de høyeste dosene som er benyttet i bioassayet. Dette betyr at vi bør øke dosene, eventuelt legge til en dose (1600 ppb).

Resultater fra bioassay med pyretroider, viser det samme som for emamektin; en økende frekvens av populasjoner med redusert følsomhet.

Det er mye mulig at følsomhetsmålingene ikke gir et riktig bilde av situasjonen. Målingene er i all hovedsak utført på anlegg der det er mistanke om nedsatt følsomhet, og de beskriver derfor ikke den generelle følsomheten.

Konklusjoner

Resistens er en konstant trussel så lenge det behandles med kjemiske behandlingsmidler. Bioassay er en praktisk anvendbar metode som benyttes til å måle følsomhet overfor pyretroider og emamektin benzoat ved mange lokaliteter i Norge. Dette medfører mer rasjonell bruk av behandlingsmidler, men gir ikke kunnskap om den reelle situasjonen fordi vi måler kun ved mistanke om resistens.

Det ser ut til at det er økt antall lokaliteter med lav følsomhet, både emamektin og pyretroider.