

**KUNNSKAP OM FISKEHELSE**

I denne spalten vil Veterinærinstituttet i hvert nummer bidra med oppdatert kunnskap om fiskehelse. Ansvarlig for spalten er forsker Mona Gjessing  
mona.gjessing@vetinst.no



**Veterinærinstituttet**  
Norwegian Veterinary Institute



BIO-Direct; Biomarkører og bioassay for veterinær forskning og diagnostikk; er et strategisk satsningsprosjekt ved Veterinærinstituttet 2019-2022, med mer enn 20 involverte forskere fordelt på seks tverrfaglige arbeidsteam. Prosjektet omfatter både fisk og landdyr, men har mye aktivitet rettet mot laks. Et av prosjektets hovedmål er å identifisere nye biomarkører for helsediagnostikk ved bruk av slim og blodprøver, og metabolomikk, proteomikk og medisinsk biokjemi er sentralt i dette kartleggingsarbeidet. Leder for BIO-Direct er seniorforsker Maria K Dahle, og leder for teamet med fokus på identifisering av nye biomarkører er Silvio Uhlig.

# Små molekyler i hud- og gjelleslim kan fortelle oss noe om fiskens fysiologi og helsetilstand

Metabolitter er mindre organiske molekyler som inngår i, eller er et produkt av reaksjoner i celler. Produksjonen og sammensetningen av metabolittene påvirkes av miljøet utenfor organismen. Kunnskap om sammensetningen av metabolitter kan fortelle noe om samspillet mellom fisken og miljøet, og gi innblikk i sykdomsutvikling eller helsetilstanden til et dyr. Våre mål er å kunne bidra til tidlig påvisning av sykdom, gi mer informasjon om forløpet i kjente sykdomstilstander og bidra til bedre behandlingsmetoder.

Uhlig S., Tartor H., Gjessing M., Dahle M., Ivanova L.

## Metabolomikk sikter på å gi et helhetlig bilde av alle metabolittene

Suffikset «-omikk» refererer til en helhetlig analyse, og metabolomikk sikter derfor mot å analysere hele sammensetningen av metabolitter i en prøve. Noen

ganger er man kun interessert i visse typer metabolitter, som for eksempel aminosyrer (byggestenene i proteiner), lipider (fett) eller metabolitter som inngår i en spesiell type biosyntese (dannelse av molekyler i en organisme). I de tilfellene setter man gjerne opp en målrettet analyse. Denne tilnærmingen blir kalt målrettet (targeted) metabolomikk.

Figur 1. Absorpsjon av væskefasen fra hudslim hos laks.



Et eksempel for en slik type analyse kan være at man ønsker å finne ut hvordan forskjellige typer fôr påvirker fettresammensetningen i fisk. Andre ganger har man ingen forhåndskunnskap om hvilke typer metabolitter en bør studere. Da ønsker man å påvise så mange metabolitter som mulig uten at man nødvendigvis har noen klar tanke om hva man leter etter. Denne tilnærmingen blir kalt ikke-måltrettet (untargeted) metabolomikk. Et eksempel kan være at en ønsker å teste om en ny type vaksine har en målbar effekt på metabolitt-nivå.

Det finnes tusenvis av forskjellige metabolitter. Noen av disse er også reaktive og kan reagere med molekyler fra fôr og mat eller miljøet. Svært avanserte måleinstrumenter og kraftige datamaskiner inklusive egnete bioinformatiske verktøy som kan håndtere og prosessere de komplekse data brukes i analysene. Væskekromatografi som koples til høytoppløselig massespektrometri (LC-HRMS for liquid chromatography – high-resolution mass spectrometry)

er den vanligste metoden for å samle metabolomikkdata. Kromatografi separerer organiske molekyler i tid, mens massespektrometeret separerer molekyler i forhold til deres masse og ladning. Prosesseringen av rådata for metabolomikk fra slike instrumenter er omfattende og involverer flere forskjellige trinn og bioinformatiske verktøy.

### **Veterinærinstituttet har erfaring med å måle metabolitter i hud- og gjellemucus fra fisker**

Flere metabolomikkstudier har visst et stort potensial i forhold til å beskrive sykdomsprosesser og risiko for fremtidig sykdom hos mennesker. Vi ønsket derfor å utvikle liknende analyser i prøver fra hud- og gjelleslim fra fisk som ble samlet inn på en ikke-invasiv måte. Dette er et arbeid som intensiveres i den pågående strategiske instituttsatsningen Bio-Direct. Metoden vi vanligvis benytter til prøveinnsamling bruker adsorpsjon av

## **Finne oss i nærheten av deg**

**Ta gjerne kontakt for en prat om hvordan vi kan bidra til bedre fiskevelferd og bedre resultater**



Antonio Ramiro  
Veterinær/Leder Aqua EMEA  
+47 79 519 02 30  
antonio.ramiro@elanco.com



Paul Negård  
Veterinær/Produktsjef for lakselus  
+47 909 20 307  
paul.negaard@elanco.com



Ragnar Thorarinsson  
Hovedfag i fiskehelse/Fagsjef vaksiner  
+47 468 11 665  
ragnar.thorarinsson@elanco.com



Hege Hovland  
Fiskehelsebiolog/Kundeansvarlig Sør/Vest  
+47 995 00 330  
hege.hovland@elanco.com



Jeanette Wie  
Administrasjon/marked  
+47 959 44 974  
jeanette.wie@elanco.com



TROMSØ



Martin Næs  
Fiskehelsebiolog/  
Kundekontakt  
+47 913 81 205  
martin.naes@elanco.com



Dag Vollstad  
Fiskehelsebiolog/  
Kundeansvarlig Nord  
+47 901 26 120  
dag.vollstad@elanco.com



Elisabeth Nordaune  
Veterinær/Kundekontakt  
+47 995 47 821  
elisabeth.nordaune@elanco.com

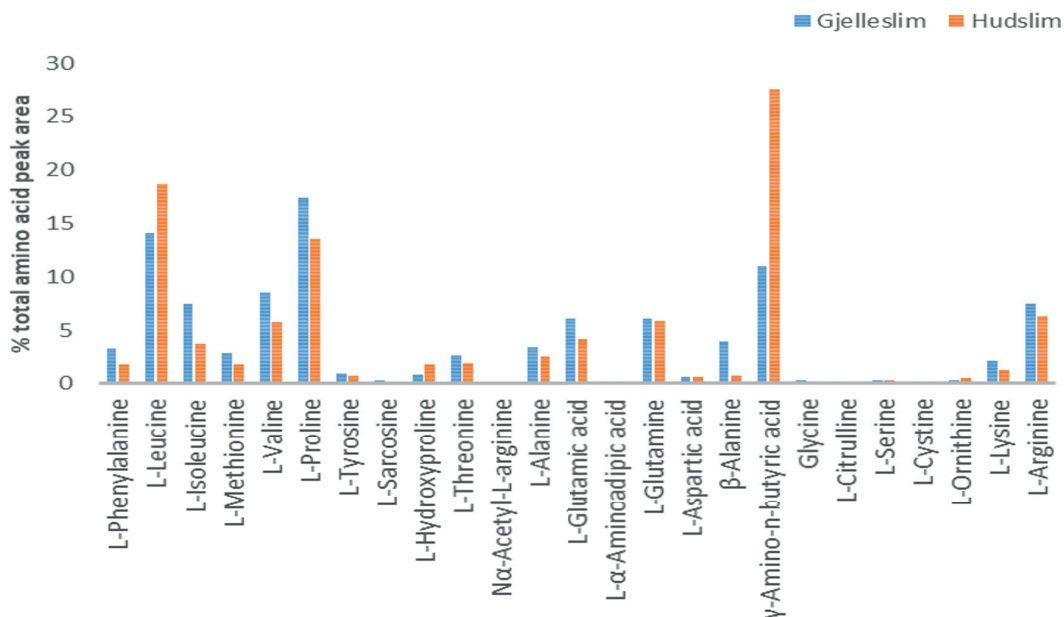
TRONDHEIM



BERGEN



Elanco and the diagonal bar logo are trademarks of Elanco or its affiliates. ©2020 Elanco. PM-NO-20-0022



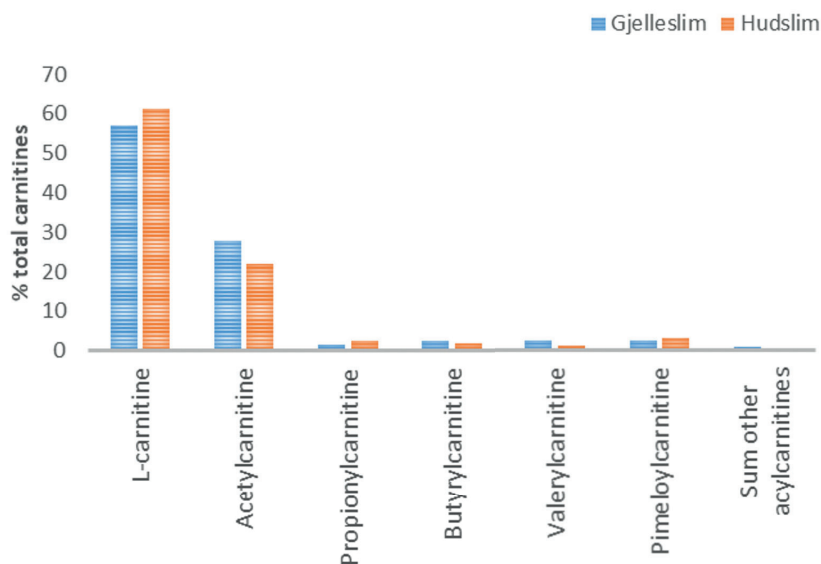
Figur 2. Aminosyreprofilene i slim fra gjeller og hud fra laks målt med LC-HRMS (n=5).

væskefasen med et medisinsk papir (Figur 1). Væsken fra papiret blir så sentrifugert og filtrert før analyse.

Gjennom flere prosjekter har vi prøvd ut forskjellige analytiske tilnærminger til målrettet og ikke-målrettet metabolomikk. Til målrettet metabolomikk benytter vi både et sett med ca. 90 referansesubstanser som vi ser etter i slimprøvene, eller vi bruker et

kvantitativt metabolomikk-kit som kan kvantifisere 365 fettstoffer og 43 andre små molekyler. Vi har også gjennomført ikke-målrettet metabolomikk, spesielt av hudslim fra Atlantisk laks, ved flere anledninger. En finner ikke like mange metabolitter i hud- og gjelleslim sammenliknet med for eksempel blod.

I våre analyser finner vi vanligvis om lag 1000 metabolitter i slimprøvene. Figurene 2–3 viser eksempler på sammensetningen av hud- og gjelleslim med to utvalgte grupper metabolitter.



Figur 3. L-karnitin of forskjellige acylerte karnitiner i mucus fra gjeller og hud fra laks målt med LC-HRMS (n=3).

### Eksempel: Gir behandling med vanlige bedøvelsesmidler (benzokain og Aqui-S) målbare utslag på metabolittsammensetningen av hud- og gjelleslim?

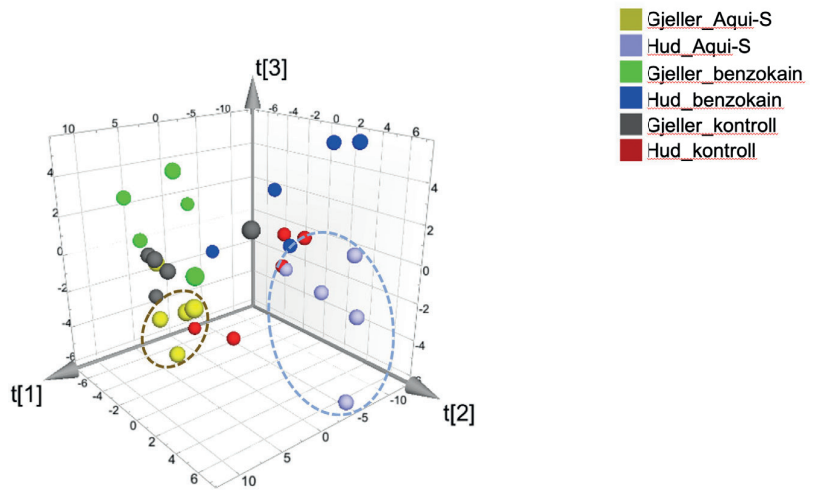
For å kunne ta slimprøver av fisk på en reproducerbar måte er man nødt til å bedøve den. Det er derfor viktig å finne ut om fisken får en målbar respons på en behandling med et bedøvelsesmiddel, slik at den responsen kan «filtreres ut» når formålet er å finne ut noe om forandringer i metabolittprofilen som følge av en sykdom. Benzokain og Aqui-S er vanlige

sedativa som er i bruk. AQUI-S er et flytende preparat som lages av nellikolje, og som inneholder isoeugenol som virkestoff. Benzokain er et lite syntetisk molekyl som brukes mye som lokalbedøvelsesmiddel.

I et forsøk ble 3x5 fisker bedøvet med enten benzokain eller AQUI-S, og det ble tatt slimprøver. En kontrollgruppe fikk ikke noe bedøvelse. Vi samlet prøver fra hud- og gjelleslim fra alle individene. Prøvene ble analysert med ikke-målrettet metabolomikk for alle individene. Analysen viste en liten men signifikant effekt av AQUI-S behandlingen på metabolittsammensetningen, mens benzokain-behandlingen ikke viste noen tydelig effekt (Figur 4).

Det betyr at behandlingen av Atlantisk laks med AQUI-S ga en målbar biologisk respons, mens benzokain ikke ga en biologisk respons med metodikken som ble brukt her. Det jobbes videre med å finne ut hvilke metabolitter som står bak den målte forskjellen, men det første målet med forsøket var å få en liste med molekyldata som hjelper oss å plukke ut mistenkelige metabolitter som kan relateres til behandling med AQUI-S når middelet har blitt brukt som bedøvelsesmiddel i et forsøk.

Slik kunnskap er viktig fordi det gjør det mulig å «trekke fra» metabolitter som kan tilskrives bedøvelsen som blir brukt i et forsøk og vi kan konsentrere oss om markørene i slimet som sier noe om fiskens helsetilstand før den ble bedøvet.



Figur 4. Tredimensjonalt scores plot fra prinsippalkomponentanalyse av rådata fra 898 metabolitter som ble detektert i slim (mucus) fra hud eller gjeller fra laks etter behandling med benzokain og AQUI-S. Et slikt plot forteller noe om den totale variasjonen i et datasett og brukes som utgangspunkt for mer målrettede dataanalyser. De innrammete klyngene markerer prøvene av hud- og gjelleslim fra AQUI-S behandlede laks og er relativt tydelig separerte fra kontrollprøvene.

## Aqua-Life hydrauliske fiskepumper

Aqua-Life hydrauliske sentrifugalpumper har svært høy kapasitet og flytter levende fisk skånsomt i en kontinuerlig vannstrøm. Fiskepumpene kan brukes både tørroppstilt og neddykket. De hydrauliske Aqua-Life pumpene er tilgjengelig i dimensjoner fra 4" til 14". Vi leverer også hydraulikkaggregat og nødvendig tilleggsutstyr.

Les mer på [fishtech.no](http://fishtech.no), send epost til [mail@fishtech.no](mailto:mail@fishtech.no) eller ring oss på tel. 64 85 94 00.

 **FishTech as**  
- vi tar vare på dine levende verdier