

Fordeling av lus på laks og betydning for reproduksjon og kontroll

Rapport fra FHF prosjekt

Eystein Skjerve
Senter for Epidemiologi og Biostatistikk
Norges veterinærhøgskole
25.12.2011

Innhold

Innledning	2
Arbeid med oppdraget.....	3
Kommentar til artikkel.....	3
Vurdering av behandlingseffekt ved lusebehandling.....	5
Konklusjon.....	7

Innledning

Norges veterinærhøgskole (NVH) v/ Senter for Epidemiologi og Biostatistikk (EpiSenteret) fikk 8.2.2011 tildelt midler til gjennomføring av prosjektet *Fordeling av lus på laks og betydning for reproduksjon og kontroll*. Følgende mål var skissert for oppdraget:

1. Beskrive fordelingen av lakselus på enkelfisk i merd og relatere dette til en poissonmodell der en også inkluderer usikkerheter kobla til sampling og tellingene.
2. Tolke data for å vurdere graden av hopping mellom fisk og hvordan dette påvirker modellene.
3. Etablere en simuleringsmodell der en kobler data opp til en vurdering av når terskelnivået nærmer seg tilstrekkelig til at tiltak bør vurderes.
4. Drøfte resultat og betydning av dette for kontrollstrategier

Resultater fra studien skulle etter planen være som følger

- Artikkel i Norsk Fiskeoppdrett (01.06.2011)
- Utkast til vitenskapelig artikkel for internasjonal publisering (01.06.2011)
- Sluttrapport (kan bli identisk med artikkelen i Norsk Fiskeoppdrett (01.06.2011))

Jeg beklager at det har tatt noe lengre tid med slutføring av dette. Det hadde blant annet sammenheng med at vi konsulterte medlemmene i forskningsprosjektet SALMODIS og trakk inn vesentlige momenter fra dette nettverket i forbindelse med møter høsten 2011. Resultatene er nå klare ved at artikkel (Vedlegg 1) er sendt inn til publisering i *International Journal of Fish Diseases (Modelling Salmon lice (Lepeophtheirus salmonis, Krøyer) reproduction on farmed Atlantic salmon (Salmo salar L))*.

Artikkel til Norsk Fiskeoppdrett er ikke fullført, men skal sendes inn innen utgangen av 2011, og blir da ettersendt denne rapporten.

Arbeid med oppdraget

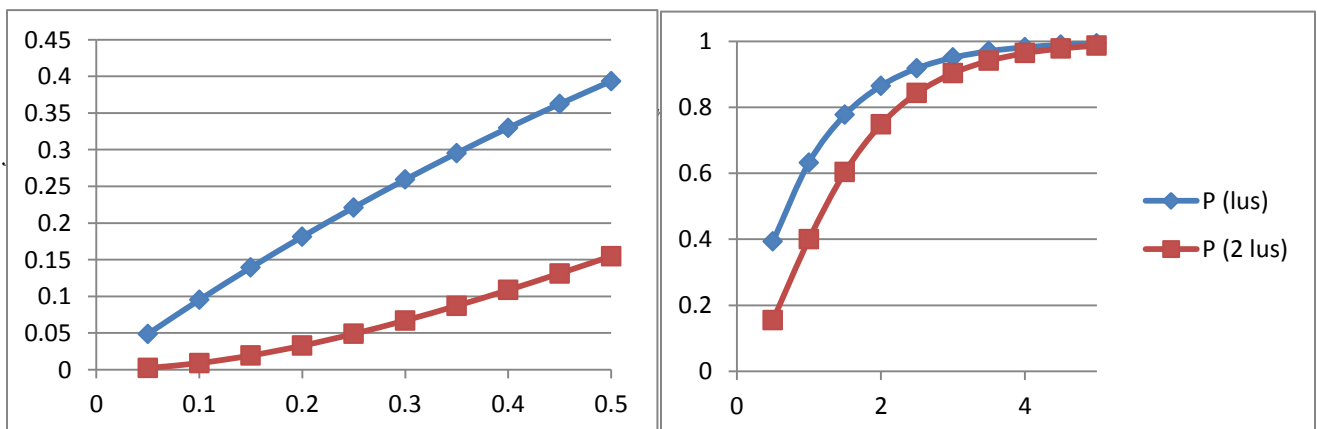
Oppdraget er gjennomført av stipendiat Marit Stormoen og professor Eystein Skjerve med vesentlig bistand fra forsker ved EpiSenteret Arnfinn Aunsmo. Stormoen har gjort det meste av arbeidet med artikkelen, under veiledning av Eystein Skjerve og Arnfinn Aunsmo. Artikkelen tar ikke med vurdering av behandlingseffekt og dette er lagt inn som eget avsnitt i denne rapporten. Rapporten er ellers en viss popularisering av innholdet i artikkel. Når det gjelder referanser henvises i sin helhet til vedlagte artikkel.

Kommentar til artikkel

Som det går fram av artikkelen, viser det empiriske materialet at luseantallet når det gjelder modne lus følger brukbart en poisson-fordeling som antatt. Det er flere årsaker til at en kan regne med en viss ekstravarians ved telling – hvilke fisk som telles, størrelse, fase i forhold til utvikling av lus mm. Empirisk materiale som er omtalt i vedlagte artikkel viser imidlertid at det i hovedsak er en mild ekstravarians (1.13 i gjennomsnitt) som ikke vil representere et større problem ved estimering av antall lus. Vi antar at merder med stor ekstravarians representerer merder i en spesiell situasjon med mye sykdom eller andre forhold som har med management å gjøre. Det som er viktig å forstå og som er et hovedmoment i artikkelen se (figur 2) er at uansett vil antallet reproduserende hunnlus IKKE være lineært relatert til antall modne lus som telles ved lave lusetall. Artikkelen illustrerer dette godt, men kan vises på en enklere måte ved å forestille seg at hunnlus og hannlus fordeles helt tilfeldig og uavhengig ut fra en poissonfordeling. Ved lave lusetall vil det i all hovedsak være snakk om kun 0 eller 1 lus på hver fisk og sannsynligheten av å finne lus av begge kjønn lett å beregne. Ved høyere lusetall og ekstravarians blir dette mere komplekst – som forklart i artikkelen, og ved høye lusenivå vil de fleste hunnlus være i stand til å møte en hann og bli befruktet. Med utgangspunkt i poisson-formelen blir da sannsynligheten for lus på en fisk $P(x>0)$ som følger:

$$P(x) = \frac{e^{-\lambda} \lambda^x}{x!}; P(0) = e^{-\lambda}; P(> 0) = 1 - P(0) = 1 - e^{-\lambda}$$

En svært forenklet modell kan være som vist i Figur 1. Her er sannsynlighetene beregnet på en enklest mulig måte, der en ser bort fra ekstravarians og samplingusikkerhet – altså vi kjenner her det sanne gjennomsnittet i en merd. Tilnærmingen er bare gyldig opp mot en forventning på 0,15 - likt for hunnlus og hannlus, der en enkelt kan kvadrere sannsynligheten for en lus for å få sannsynligheten av å ha en hannlus og en hunnlus på samme fisk. Legg merke til at kurvefasongen (som vist i artikkelens Figur 2) har fasong som høyre del av figuren, men dette skjuler den sanne formen på kurven ved lave nivå, som er flat inntil den tar av og går mot en sannsynlighet på 1.

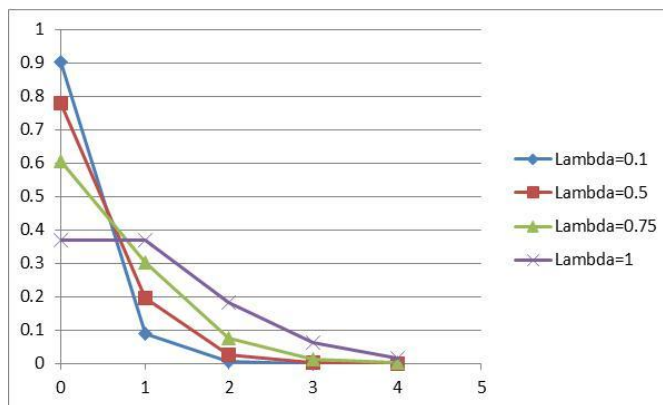


Legg merke til at denne figuren er svært forenklet og ikke tilsvarer tallene som finnes i artikkelen. Det er en grunn for at slike tall bør simuleres og ikke direkte beregnes, og det henvises til artikkelen for nærmere omtale.

Samplingusikkerhet er et eget tema og som klart berører alle vurderinger av lusenivå. Våre tall og mange andre konkluderer altså med at en i en normal merd kan anta at antall lus er tilnærmet fordelt etter en poissonfordeling. Dette er sannsynligvis et utgangspunkt som er greit å bruke og som kan gjennomføres uten for mye teoretiske funderinger.

Figur 2. Sannsynlighetsfordelingen av telling av 0,1,2,3 eller 4 lus gitt forskjellige nivå av forventning

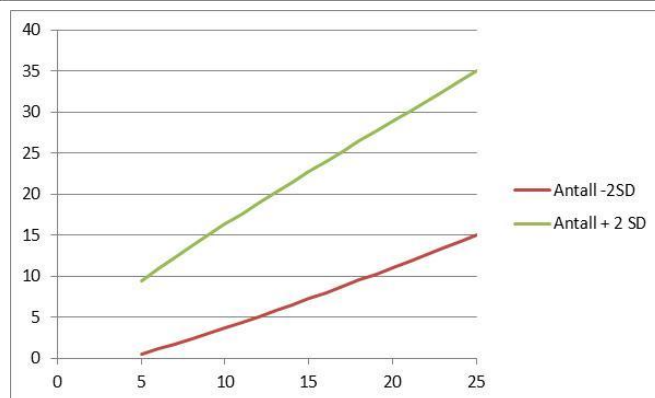
Poissonfordelingen antar at en kan beregne sannsynligheten for å telle et visst antall lus gitt at en kjenner det «sanne» nivået i en merd (lambda). Figur 2 viser grafisk sannsynlighetene for å telle 0,1,2,3 eller 4 lus på forskjellige «sanne» nivå av lambda (forventningen).



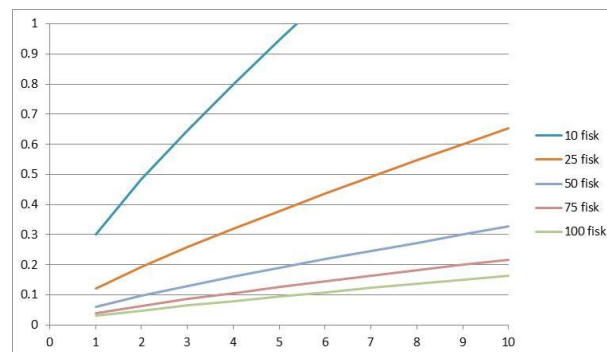
Figur 3. Tilnærmet samplingusikkerhet ved estimering av lusenivå i en merd ved telling av 5-25 lus.

Samplingusikkerheten er avgjørende for presisjonen når en via sampling gjetter på det sanne nivået i en merd. Vi vet altså ikke det sanne nivået, men håper at en telling vil gi oss informasjon om dette. Ved å anta at variansen er lik forventningen er det lett å beregne usikkerheten ved en telling, som vist i figur 3. Med basis i poissonfordelingen er variansen større ved høyere antall, men den relative variansen blir mindre jo flere en teller.

Ved vurdering av effekt av behandling er det strengt tatt dette en bør ta utgangspunkt i. Kort fortalt er det eneste som betyr noe hvor mange lus som telles og ikke antall fisk. Det er vanskelig å se at en kan se på samplingusikkerhet hvis en teller 3-5 lus i en merd. Rutiner bør ha rom for dette og ikke fokusere på antall fisk. Dette har bare betydning i forhold til å telle tilstrekkelige antall for å oppnå et antall som er relevant. I artikkelen er for øvrig brukt en noe annen modell ved at en har parametrisert denne usikkerheten ved en gammafordeling, som er mer fleksibel i forbindelse med simulering.



Figur 4. Samplingusikkerhet oversatt til øvre estimat for sant lusenivå ved telling av 1-10 lus på 10 – 100 fisk.



Dilemmaet er selvsagt om en skal telle nok fisk på merd-nivå eller på lokalitetsnivå. Figur 4 viser oversetting mellom sampling-usikkerhet og antall fisk ved å legge inn telling + 2 SD og dele på antall fisk. Figur 4 er kanskje litt deprimerende hvis en ønsker å basere estimering og mulig igangsetting av behandling basert på enkelttelling eller serier med enkelttelling. Uansett er hovedbudskapet at en må fokusere på antall lus. Figur 4 gir også en antydning på hva som trengs for å dokumentere nivå. Figuren er litt unøyaktig for lave tall, men enkelt regna kan en se at en kan tillate maks 2 lus på 100 fisk hvis en ønsker å være rimelig sikker på at det sanne nivået er under 0,1/ fisk. Ved 0-tellinger bør en opp i 30 fisk for å kunne si at nivået er under 0,1. På høyere akseptable nivå er dette selvsagt enklere. Figur 4 er altså noe pessimistisk, men husk at den da ikke tar opp den ekstravariansen som kan opptre, da bildet blir enda dystre.

Vurdering av behandlingseffekt ved lusebehandling

I forbindelse med etablering av systemer som skal måle effekten av lusebehandling ser det ut til at en ser bort fra problemet med samplingusikkerhet og tellevarians. Det er for det første åpenbart at en bør telle så nært behandling som mulig hvis en kan ha noen som helst statistisk sikkerhet for at behandlingen er effektiv. Uten dette vil det være svært spekulativt å påstå at en har vist noe som helst. Hvis en teller to uker før behandling og et visst antall uker etterpå vil en suksessrik behandling kunne vurderes som ineffektiv.

Hvis en beholder forutsetningen om poissonfordeling, kan en effekt av behandling vurderes på bakgrunn av to tellinger – før og etter behandling ved bruk av en enkel kji-test (med samme antall fisk i hver telling).

$$X^2 = \frac{(O-E)^2}{E} = \frac{(\text{Antall lus etter } B - \text{Antall lus før } B)^2}{\text{Antall lus før } B}$$

Her benyttes testen for å se på et forventet nivå (før) i forhold til et nivå etter behandling. Sannsynlighetsfordelingen av denne testen er relativt enkel, og strengt tatt viser en effekt med ens statistisk sikkerhet på 80 % hvis kji-kvadratet >2 og 95 % hvis det er >4. Disse enkle beregningene er gjengitt i Figur 5, der røde celler viser situasjon der det ikke er påvist forskjell mellom tellinger før og etter, gule viser en effekt med en sikkerhet på 80 % og grønne på 95 %.

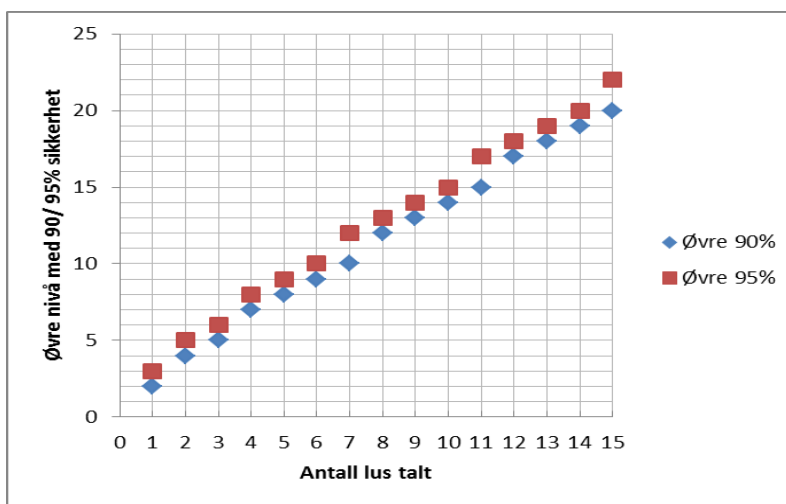
Tolkingen her er ganske enkel. Hvis en baserer effekt av behandling på telling like før behandling og en relevant tid etter kan figur 5 brukes til å vurdere om en kan påberope seg effekt av behandling. Igjen er det mange forutsetninger bak dette, men det er fint mulig å bruke som praktisk metode. Det betyr f.eks. at hvis en baserer en effekt på telling av 6 lus, kan en ikke tillate en eneste lus ved telling etter behandling. Teller en flere (15) ser vi at vi kan tolerere opp til 7 lus ved 95 % sikkerhet og opp til 10 ved 80 % sikkerhet. Dette gir imidlertid ikke noe mål for grad av effekt.

Figur 5. Relasjonen mellom antall lus talt før og etter behandling og statistisk effekt av behandling med 80 % sikkerhet (gult) og 95 % sikkerhet (grønt).

		Antall lus talt før behandling														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Antall Lus talt etter behandling	0	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	1	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	2	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	3	80%	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	4	80%	80%	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	5	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	6	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	7	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%	95%
	8	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%	95%
	9	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	95%	95%	95%	95%

Ved lusebehandling snakker en altså ikke nødvendigvis om vist statistisk forskjell, men dokumentert prosentvis effekt. Problemstillingen ligner på den som er skissert i figur 5, men krever litt mere informasjon, der en både spesifiserer grad av virkning og sikkerheten for at dette er oppnådd. Hvis tar en forenklet tilnærming og først beslutter hvor mange lus en kan akseptere etter behandling på et viss antall fisk setter sikkerheten på 95 % nivå, vil en ved hjelp av Figur 6 (beregna på en mere nøyaktig måte enn Figur 3) kunne se det reelle akseptable nivå. Igjen vil nøkkelen for sikkerhet være at en teller et minsteantall lus.

Figur 6. Øvre 90 % og 95 % sikkerhet for at sant nivå ligger under en grense ved telling av samme antall fisk før og etter lusebehandling. Beregna ved hjelp av stokastisk simulering med @RISK.



Ved bruk av denne tilnærmingen kan en f.eks. hvis en skal ha en 80 % effekt av behandling oversette dette til antall lus akseptabelt på et visst antall fisk, gå inn på y-aksen i graf og se på tilsvarende x-verdi. Hvis en har en grense på 10 lus etter behandling, vil en ikke kunne akseptere mere enn 6 lus på en telling. Et prinsipielt spørsmål er hvorvidt en bør ta inn usikkerheten også ved telling før behandling. En konservativ vinkling vil være å basere seg på et nedre

konfidensintervall ved telling før og et øvre etter behandling. Eksempelvis vil en telling på 25 lus på 30 fisk (Figur 3) gi et nedre estimat på 15 lus. En 80 % behandlingseffekt vil da tilsvare tre lus hvis en teller det samme antall fisk. En må da øke antall fisk for å kunne oppnå en tilstrekkelig sikkerhet (Figur 6), og hvis en øker til 60 fisk vil en da tolerere 3 lus i dette utvalget.

Hvis en baserer opprinnelig vurdering på samletelling av flere merder, kan det si noe om nivået på anlegg, men hvis en skal vurdere enkeltmerder eller sammenligne merder på samme lokalitet må en sikre seg tilstrekkelig med lus talt i samme merd.

Et ekstra moment er å holde styr på telling av stadier og kjøtt. I visse tilfelle bør en telle og registrere separat, i andre tilfelle kan en benytte samletall. Dette er særlig viktig hvis en antar at visse behandlinger har preferanse for modne hunner (leppefisk), og det er disse som er drivende for utviklingen av antall lus over tid.

Hvis en skal sette dette inn i et system, er det viktig at en baserer vurderinger på registreringer på enkeltfisk og foretar en statistisk beregning som grunnlag for effektmål. Det er ikke rom for å gå inn på tekniske sidere ved dette i denne rapporten, men i videre arbeid skal vi ved EpiSenteret vise hvordan dette kan gjøres.

Konklusjon

Prosjektet har gitt resultater som er av interesse i forbindelse med praktisk drift av anlegg og ved vurdering av om behandling mot lus bør igangsettes. Vi kommer til å publisere den siste del av denne rapporten også etter at vi har lagt fram grunntrekkene i en artikkel i Norsk Fiskeoppdrett. Vi håper at vårt arbeid kan være til nytte for næringa ved utvikling av fornuftige behandlingsregimer mot lakselus.