

Dansk Dambrugerforening.

**Forebyggelse af YDS (yngeldødelighedssyndrom) og begrænsning af
medicinformbrug i æg- og yngelopdræt i danske dambrug.**

Projektfase III: Slutrapport, oktober 2002.

Per Aarup Jensen, Niels Henrik Henriksen, Kaare Michelsen, *Dansk Dambrugerforening*,
Lone Madsen, Inger Dalsgaard, *Fiskepatologisk Laboratorium*.

Indhold

Forord	Side 2
Sammenfatning	Side 4
1) Indledning	Side 8
2) Forsøgsanlægget	Side 10
3) Bakteriologiske undersøgelser	Side 14
4) Karakterisering af YDS-bakterier for at klarlægge smitteveje	Side 22
5) Kliniske observationer og sygdomsudbrud	Side 26
6) Hygiejnetiltag	Side 31
7) Konklusion	Side 33
8) Perspektivering og forslag til videnopbygning	Side 34
9) Referencer	Side 36
Bilag 1: Tegning af anlægs ændringer	Side 37
Bilag 2: Bakteriologiske undersøgelser	Side 38
Bilag 3: Andre kliniske observationer	Side 43

Forord

Fase III af YDS-projektet er en fortsættelse af Fase II.

Fase II, som forløb fra 01.01.2000 til 31.07.2001, havde det hovedformål at undersøge om YDS-bakterien, *Flavobacterium psychrophilum*, kunne påvises på overfladen af æggene eller eventuelt inden i æggene, og om den formodede smittekæde kunne brydes, så man enten helt undgik eller kun fik minimal overførsel af smitte fra moderfisk til æg og yngel.

Det var en arbejdshypotese, at moderfiskene populært sagt kunne rense sig for bakterien ved at blive isoleret i et recirkuleret anlæg i god tid inden kønsmodning og strygning. Det var forudsat, at moderfisk, der skulle indgå i sådanne forsøg på forhånd skulle være testet for forekomst af YDS-bakterier og fundet positive.

Indkørvingsvanskeligheder, driftsuheld og generelle forsinkelser resulterede i, at der ikke indenfor projektperiodens tidsramme kunne gennemføres en hel og uafbrudt forsøgs cyklus.

Projektets Styregruppe besluttede allerede i marts måned 2001 at ansøge Strukturdirektoratet om projektet kunne forlænges, så de opstillede mål kunne nås.

Strukturdirektoratet imødekom ansøgningen og meddelte Dansk Dambrugerforening dette d. 5. oktober 2001.

Projektet (Fase III) blev derefter planlagt til at løbe fra 5. oktober 2001 til 31. oktober 2002.

Fase III blev altså en videreførelse af Fase II. Herved vil der i følgende rapport ofte henvises til denne forudgående fase.

Fase II er afrapporteret i

Jensen PA, Michelsen K, Henriksen NH, Madsen L & Dalsgaard I (2001) Forebyggelse af YDS (yngeldødelighedssyndrom) og begrænsning af medicinforbrug i æg- og yngelopdræt i danske dambrug. Projektfase II: Slutrapport, september 2001.

Denne rapport vil efterfølgende blive benævnt som: Fase II rapporten.

Projektfase III havde følgende deltagere:

- Fiskepatologisk Laboratorium (**FL**), Danmarks Fiskeriundersøgelser
- Fødevarerdirektoratets Sektion for Akvakultur i Vejle (**SAK**)
- Oxfeld Dambrug (**OD**)
- Dansk Dambrugerforening (**DDF**), projektansvarlig overfor ministeriet

Styregruppen, som blev nedsat, havde følgende sammensætning:

Dambruger Aage Christophersen, der har fungeret som gruppens formand, dambruger Ole Spicker, dambruger Preben Pedersen (OD), dyrlæge Henrik Korsholm (SAK), dyrlæge Inger Dalsgaard (FL), dyrlæge Lone Madsen (FL), konsulent Kaare Michelsen (DDF) helsekonsulent Per Aarup Jensen (DDF) og dyrlæge Niels Henrik Henriksen (DDF).

Senere ændringer:

Ole Spicker udtrådte af Styregruppen d. 4/6 2002 og blev afløst af dambruger Kjeld Jensen.

Aage Christophersen udtrådte af Styregruppen d. 28/8 2002 og blev som formand afløst af Kjeld Jensen.

Per Aarup Jensen udtrådte af Styregruppen d. 31/7 2002.

Per Aarup Jensen / Niels Henrik Henriksen har været projektets interne tovholdere. Preben Pedersen har stået for produktionen og den daglige drift af forsøgsanlægget samt registrering af data. DDF har udover den overordnede økonomistyring af projektet varetaget overvågningen af forsøgsanlægget samt været ansvarlig for opsamling og formidling af data vedrørende anlæggets drift og produktion. Desuden har DDF's helsetjeneste bidraget med kliniske undersøgelser af yngel og rådgivning vedrørende behandlingen af yngel i sygdomstilfælde samt hygiejnemæssige tiltag. Kaare Michelsen var ansvarlig for projektering og tilsyn med bygning. Lone Madsen og Inger Dalsgaard har været ansvarlig for indsamlingen og analyse af bakteriologiske prøver fra moderfisk, æg, yngel og opdrætsmiljøet samt for formidling af de bakteriologiske data. Uden indsatsen fra laborant Kirsten Kaas og levnedsmiddeltekniker Rikke Henkel har det ikke været muligt at udføre det omfattende felt- og laboratoriarbejde. Henrik Korsholm har bidraget med generel rådgivning og vejledning samt inspektion af forsøgsanlæg i forbindelse med rengøring og desinfektion.

Sammenfatning

1. Anlæg, formål, forsøg og metoder

YDS-projektets Fase III forløb fra 05.10 2001 til 31.10 2002.

Anlæg:

Forsøgsanlægget var det samme, som blev anvendt i Fase II. Der blev dog foretaget en enkelt væsentlig justering set i forhold til Fase II. Vandtilførslen blev ændret for at minimere risiko for introduktionen af smitstoffer gennem vandforsyningen.

Registreringen af produktionsresultater og vandparametre (pH, ilt osv.) blev foretaget på samme måde som i Fase II.

Formål med Fase III:

- Isolere et hold af dambrugets moderfisk i det recirkulerede forsøgsanlæg i god tid inden kønsmodning og følge YDS-bakteriens forekomst i fisken indtil og efter modenhed.
- Undersøge forekomsten af YDS-bakterier i ægvæske og sæd af de modne fisk.
- Undersøge forekomsten af YDS-bakterier på overfladen af og inde i nystrøgne æg før og efter befrugtning.
- Undersøge forekomsten af YDS-bakterier på og i øjenæg og blommesækkyngel.
- Følge YDS-bakteriens forekomst på og i yngel i forsøgsanlægget fra startfodring til en størrelse, hvor de kunne vaccineres mod rødmundsyge og flyttes ud af forsøgskummerne.
- Følge YDS-bakteriens forekomst i forsøgsanlæggets vandmiljø.
- Få karakteriseret de undervejs indsamlede YDS-bakterier (både Fase II og III).

Forsøg og metoder:

Princippet er generelt det, som blev fulgt i Fase II.

Der blev i det rengjorte og desinficerede forsøgsanlæg indsat moderfisk i juni måned 2001.

Moderfiskene gik isoleret i anlægget og blev strøget d. 24. januar 2002. Moderfiskene forblev isoleret i forsøgsanlægget i hele projektperioden. Før, under og efter strygningen blev moderfiskene undersøgt bakteriologisk.

De strøgne æg blev befrugtet og inkuberet i søjleinkubatorer i moderfiskanlægget. Den 16. februar blev æggene desinficeret og overflyttet til det rengjorte og desinficerede yngelforsøgsanlæg.

Æggene klækkede og ynglen blev holdt isoleret i forsøgsanlægget indtil ca. 1 juli. Undervejs blev der dog foretaget enkelte sorteringer, hvor de største yngel blev fraført anlægget. Første sortering blev påbegyndt d. 13. maj. Under hele forløbet blev produktions forhold og resultater registreret. Samtidig blev der løbende foretaget sygdomskontrol og bakteriologisk kontrol af æg og yngel, samt bakteriologisk kontrol af vandet.

Forudsætningen for at opretholde et minimalt smittepres i forsøgsanlæggene under henholdsvis modning af moderfisk og opvækst af yngel var, at indslæbning af smitstof udefra blev forhindret. Derfor blev der ligesom i Fase II opretholdt en række hygiejniske forholdsregler som separat vandforsyning og biofilteranlæg til henholdsvis moderfisk og yngel, forrum til hver afdeling med håndvask og desinficerende sæbe og indrettet med plads til skift af fodtøj og overtrækstøj.

For at følge forekomsten af YDS-bakterier blev der som nævnt i hele projektperioden udtaget et stort antal bakteriologiske prøver fra overflader og organer af moderfisk og yngel samt prøver af sæd og nystrøgne æg før og efter befrugtning og af øjenæg før og efter desinfektion.

Endvidere blev der gennemført undersøgelser for at finde ud af, om YDS-bakterier kunne komme ind i ægget sammen med sædcellen og herefter påvises inde i æggene.

De isolerede YDS-bakterier er blevet karakteriseret og grupperet efter ribotype, serotype og elastinnedbrydning. Dette blev gjort for at se, om der evt. kunne ses et smittebillede imellem de enkelte grupper, herunder moderfisk og yngel, samt om det var muligt, at vurdere om den enkelte bakterie var i stand til at forårsage sygdom.

2. Resultater

Det er lykkedes at gennemføre en hel og ubrudt forsøgscyklus fra indføring af moderfisk i isoleret forsøgsanlæg til udflytning af yngel i en størrelse, hvor vaccinering var mulig.

Der blev opnået en foderkvotient hos ynglen på 0,47 fra æg til en gennemsnitsstørrelse på ca. 4 g. Dødeligheden i yngelanlægget var følgende:

- Fra øjenæg til forsøgsperiodens afslutning: 8 %
- Fra blommesækstadiet til forsøgsperiodens afslutning: 1 %

YDS-bakterien blev fundet på de isolerede moderfisk både før, ved og efter strygning.

YDS-bakterien blev ved strygningen d. 24/1 påvist i ægvæsken fra moderfiskene.

YDS-bakterien kunne påvises på overfladen af æg (både før og umiddelbart efter befrugtning), mens den ikke på noget tidspunkt kunne påvises indeni æg.

YDS-bakterien blev ikke påvist på hverken øjenæg eller blommesækkyngel.

Ved desinfektions forsøg med 1 % Actomar K30 kunne påvises, at midlet har en reducerende effekt på bakteriefloraen på overfladen af æg, dog ikke 100 %, og det var muligt at genfinde YDS-bakterien efter en sådan desinfektion.

Ynglen i forsøgsanlægget blev undersøgt både klinisk og bakteriologisk mange gange. YDS-bakterien blev kun påvist bakteriologisk en enkelt gang (d. 12/6) og da kun i slim fra én fisk.

Der blev aldrig påvist klinisk YDS-udbrud i forsøgshuset.

Den påviste YDS-bakterie har en ikke før set ribotype, hvis virulens (sygdomsfremkaldende evne) er ukendt.

Inden første sortering blev der overflyttet yngel til KVL's forsøgsfaciliteter. Disse blev fulgt tæt i 5 måneder, uden at YDS-bakterien kunne påvises. Selv efter stress-forsøg blev YDS-bakterien ikke påvist.

Der har sygdomsmæssigt været meget få problemer i yngelforsøgsanlægget.

Der blev konstateret 3 forskellige smitstoffer, som normalt giver klinisk udbrud af sygdom hos ørreder: *Costia* parasitten, *Yersinia ruckeri* (rødmundsyge-bakterien) og *Flavobacterium psychrophilum* (YDS-bakterien).

Kun rødmundsyge bakterien gav anledning til klinisk sygdom med dødsfald.

Der har også i Fase III været anvendt omfattende smitteforebyggende tiltag. På trods af dette blev der, som nævnt ovenstående, indslæbt smitte til yngelanlægget.

Det mest sandsynlige er, at smitten er sket via mandskabet under de daglige tilsyn, evt. i forbindelse med sortering og udfiskning.

Der har i forår/sommer 2002 været store YDS problemer på det øvrige dambrug udenfor forsøgsanlægget. Såvel hos yngel i det gamle kummehus som i yngel der stammede fra forsøgshuset.

Smittetrykket har på denne måde været højt.

Under hele yngelperioden blev der kun anvendt et hjælpestof, fodersalt.

Ved karakteriseringen af de i Fase I - III fundne YDS-bakterier blev der fundet følgende:

Hos moderfisk blev påvist både mulige virulente (sygdomsfremkaldende) bakterier (med ribotype A, serotype Fd eller Th samt elastin-nedbrydende) samt ikke virulente bakterier (eksempelvis med ribotype B).

Bakterier med ribotype A kunne findes på alle dambrug, mens bakterier med nogle af de andre ribotyper så ud til at være specifikke for de forskellige dambrug undersøgt under Fase I.

Bakterier fundet på befrugtede æg tilhørte ribotype A, kunne nedbryde elastin samt tilhørte enten serotype Fd eller Th.

Hos yngel i forsøgsanlægget blev der i september 2000 efter sortering fundet YDS-bakterier. Her var tale om bakterier karakteriseret ved at være elastin positive samt tilhøre ribotype A. Status hos moderfiskene som de stammede fra kendes ikke, da der var tale om æg indkøbt fra et andet dambrug. Men samtidig var der sygdom hos yngel på det ordinære dambrug, fra udendørs recirkulering samt jorddamme. Disse bakterier havde ribotype A (enkelte også ribotype O). YDS-bakterier isoleret fra yngel i forsøgsanlægget i maj 2001 kunne karakteriseres som ribotype A og elastin-nedbrydende. Tilsvarende fandtes for bakterier isoleret på samme tidspunkt hos yngel i udendørs recirkuleringsanlæg.

I forbindelse med isoleringen af YDS-bakterier hos yngel i forsøgsanlæg under Fase III, var der denne gang tale om en bakterie, der kunne karakteriseres som ribotype P, en ribotype der ikke er set før, samt hvis sygdomsfremkaldende egenskaber ikke er kendt. Det kan ikke ud fra de foretagne undersøgelser spores, hvor denne bakterie er kommet fra.

3. Konklusion

- Det er lykkedes at gennemføre en hel og ubrudt forsøgscyklus fra indføring af moderfisk i isoleret forsøgsanlæg til udflytning af yngel i en størrelse, hvor vaccinerings er mulig.
- Moderfiskene kunne ikke rense sig for YDS-bakterien under de opstillede forsøgsbetingelser; et lukket system med recirkulering og UV-behandling af borevand.
- YDS-bakterien blev påvist i ægvæsken og kunne påvises på overfladen af æg (både før og umiddelbart efter befrugtning), mens den ikke på noget tidspunkt kunne påvises indeni æg.
- Der blev ikke konstateret klinisk YDS-udbrud hos yngel i forsøgsanlægget.
- Fiskene har alle haft en størrelse (gennemsnits-størrelse ca. 4 g/stk.), hvor der er håb om, at dyppe-vaccinerings mod YDS vil kunne foretages.

- YDS-bakterier fra moderfisk kunne klassificeres til både at tilhøre virulente samt ikke virulente ribotyper, og bakterier fra enten det ydre eller indre af fiskene tilhørte ikke en bestemt af disse grupper.
- YDS-bakterien blev i yngelforsøgsanlægget kun påvist en enkelt gang, og da kun i slim hos én fisk. Denne YDS-bakterie havde en ikke før set ribotype, hvis virulens er ukendt. Ribotypen var heller ikke påvist hos moderfiskene.
- YDS-bakterier fra sygdomsudbrud hos yngel (Fase II) kunne overvejende klassificeres til at tilhøre ribotype A samt serotype Fd eller Th samt kunne nedbryde elastin (virulente bakterier).
- For at være i stand til at klarlægge smitteveje i en produktion er det nødvendigt, at både fæno- og genotypiske metoder anvendes til karakterisering af bakterierne, som det er foretaget i dette projekt.
- Smitteoverslæbning er sandsynligvis sket af mandskabet via de daglige tilsyn, evt. i forbindelse med sortering og udfiskning.
- Forsøgsanlægget har med hensyn til YDS opfyldt sit formål om at kunne medvirke til sygdomsforebyggelse og minimering af medicinforbrug.

1. Indledning

1.1 YDS-bakterien i Danmark og forsøgenes baggrund.

Der henvises til side 9 i Fase II rapporten.

Sygdomsstatistikopgørelse fra Dansk Dambrugerforening viser, at klinisk YDS er diagnosticeret i mere end 25 % af 786 hold undersøgte fisk i år 2001. Statistikken bygger på oplysninger fra tre praktiserende fiskedrylæger samt Dansk Dambrugerforenings Helsetjeneste (Dansk Dambrugerforening (2002), *Helsenyt*, 1, 8).

1.2 Forsøgenes formål

Projektets overvejende formål var at fuldføre målet fra Fase II. Altså at gennemføre en hel og ubrudt forsøgs cyklus, fra indføring af moderfisk i isoleret forsøgsanlæg til udflytning af yngel i en størrelse, hvor vaccinerings var mulig (se også side 11 i Fase II rapporten)

Delmålene i Fase III kan beskrives, som følger:

- Isolere et hold af dambrugerets moderfisk i det recirkulerede forsøgsanlæg i god tid inden kønsmodning og følge YDS-bakteriens forekomst i fisken indtil og efter modenhed.
- Undersøge forekomsten af YDS-bakterier i ægvæske og sæd af de modne fisk.
- Undersøge forekomsten af YDS-bakterier på overfladen af og inde i nystrøgne æg før og efter befrugtning.
- Undersøge forekomsten af YDS-bakterier på og i øjenæg og blommesæk yngel.
- Følge YDS-bakteriens forekomst på og i yngel i forsøgsanlægget fra startfodring til en størrelse, hvor de kunne vaccineres mod rødmundsyge og flyttes ud af forsøgskummerne.
- Følge YDS-bakteriens forekomst i forsøgsanlæggets vandmiljø.
- Få karakteriseret de undervejs indsamlede YDS-bakterier (både Fase II og III).

1.3 Forsøgsplaner

1.3.1 Tidsplan for forsøg og anlægsopgaver.

Ansøgningen til Strukturdirektoratet blev af Styregruppen allerede afsendt i marts 2001 (altså før Fase II var til endebragt), da det stod klart, at formålet med Fase II ikke kunne opfyldes. Tilsagnet om tilskud til Fase III blev givet til Dansk Dambrugerforening d. 5. oktober 2001. Ifølge planen skulle moderfiskene allerede på dette tidspunkt være isoleret. Dette havde dambruger Preben Pedersen (Oxfeld dambrug) gjort efter de opstillede forskrifter i juni måned 2001, hvorved forsøget kunne køre fra tilsagnsdatoen d. 5. oktober 2001.

Tidsplan blev som følger:

- Juni 2001: Isolering af moderfisk

- Januar 2002: Strygning af moderfisk
- Februar 2002: Overførsel af desinficerede øjenæg til yngelanlæg
- Februar – juli 2002: Yngel i forsøgsanlæg
- Juli – oktober 2002: Resultatbearbejdelse og afrapportering

Af nye anlægsopgaver var der ikke planlagt nogen væsentlige ved projektstart bortset fra et nødiltanlæg. Dette blev dog aldrig etableret, da dambrugeren fandt det unødvendigt.

I løbet af efteråret 2001 fandt Styregruppen, at hvis vi skulle eliminere en mulig smitterisiko gennem den eksisterende vandforsyning, måtte der etableres ny rørføring og nyt okkerfilter. Dette blev planlagt i december 2001 og etableret i januar/februar 2002.

Vandforsyningen til æginkuberingen blev ligeledes ændret for at mindske smitterisiko. Æggene blev klækket vha. byvand.

1.3.2 Konklusion

- På trods af det sene tilsagn om tilskud til projektet er den opstillede tidsramme overholdt, og alle delmål blevet opfyldt.

2. Forsøgsanlægget

2.1 Forsøgslokaliteten, forsøgsanlæg og drift.

Forsøgslokaliteten og driften af forsøgsanlægget er ikke ændret i forbindelse med projektets Fase III, hvorfor der henvises til beskrivelsen heraf i Fase II rapporten.

Forsøgsanlæggets opbygning svarer også til den i Fase II rapporten beskrevne, undtagen nogle ganske få ændringer:

- Forsøgsanlæggets vandforsyning blev ændret før gennemførelsen af forsøgene i yngelanlægget i Fase III.
Hvor anlægget i forbindelse med forsøgene i Fase II fik vand fra Oxfeld Dambrugs okkerfilter, er vand til forsøgsanlægget ledt direkte fra dambrugets boring under tryk til forsøgsanlægget i projektets Fase III. Herved kunne en potentiel risiko for kontaminering af forsøgsanlæggets indtagsvand undgås.
For fortsat at kunne sikre et lavt jernindhold i vandet til forsøgsanlægget, blev der før dette etableret et traditionelt okkerfilter (se tegning bilag 1).
Okkerfilteret bestod af tre 1 m² store filterkamre med en dybde på 1 m. Hvert kammer var forsynet med luftdiffusor og afløb til brug ved returskylning. Filterets fyldning hvilede på en rustfri hulplade (Ø 2mm) placeret på mursten, og bestod nederst af ca. 30 cm 10 – 12 mm grus, over hvilket der var anbragt 25 cm 2 – 4 mm antracitkul. Valget af antracit som filtermedie kan begrundes med stoffets lavere vægtfylde end det traditionelt anvendte kvartssands. Herved lettes returskylningen af filteret.
I praksis har anlægget virket efter hensigten, og der er ikke på noget tidspunkt registreret okkerflejringer i forsøgsanlægget. Det har dog vist sig nødvendigt at udvise større forsigtighed med beluftningen af antracit-filteret ved returskylning end normalt ved kvartsfiltre, da filtermediet i denne situation er mere levende end kvartsen. En for kraftig beluftning kunne føre til rømning af filtermediet gennem skyllevandsafløbet. Den maksimale belastning af okkerfilteret har været på 2 l/sek., hvilket svarer til en hydraulisk overfladebelastning på 2,4 meter per time. Der er hver dag returskyllet et kammer, hvilket er sket, medens den øvrige daglige rengøring af kummerne foregik. Opiltningen af vandet til okkerfilteret skete ved at lede vandet via en enkelt bioblok-200 før filteret.
Den nye vandforsyning var færdig d. 13/2. Æggene blev lagt ind i yngelhuset d. 16/2.
- Ud over ændringen af anlæggets vandforsyning er frekvensomformereren til anlæggets ene blæser udskiftet. Denne voldte problemer i projektets Fase II.
Leverandøren har efterfølgende erkendt, at der var tale om en fejll levering og har byttet omformereren.
- Der blev opsat el-radiatorer i forrummene for at hindre dannelse af kondensvand i rummene.

2.2 Driftsovervågning og driftsresultater.

2.2.1. Indledning.

Der er i Fase III gennemført én yngel-/sættefiskeproduktion på anlægget i år 2002. I de efterfølgende afsnit refereres de faktisk opnåede produktionsresultater.

2.2.2. Produktionsresultater år 2002.

<u>Forsøgsanlæg (yngel) i perioden 16.02.2002 – 31.06.2002</u>			
16.02.	Antal øjenæg lagt ind i huset		430.000 stk. øjenæg
28.02.	Klækningen afsluttet, overlevende		400.000 stk. yngel
16.05.	Udsorteret	410 kg á 350 stk. per kg.	144.000 stk. yngel
27.05.	Udsorteret	200 kg á 315 stk. per kg.	63.000 stk. yngel
20.06.	Udsorteret	350 kg á 210 stk. per kg.	74.000 stk. yngel
<u>30.06.</u>	<u>Udfisket</u>	<u>640 kg á 180 stk. per kg.</u>	<u>115.000 stk. yngel</u>
I alt udfisket	1.600 kg		396.000 stk. yngel

<u>Foderforbrug i perioden 12.03.2002 – 31.06.2002</u>			
Skretting (Trouvit) Ålefoder	0,5 mm	25 kg	
Skretting (Trouvit) Ålefoder	0,7 mm	50 kg	
Skretting (Trouvit) Ålefoder	1,0 mm	250 kg	
<u>Skretting (Trouvit) Ålefoder</u>	<u>1,3 mm</u>	<u>425 kg</u>	
Foderforbrug i alt		750 kg	

Foderkvotient : $Q = 750 : 1.600 = \underline{0,47}$

Gennemsnitsstørrelse på udsorteret / udfisket yngel: $1.600.000 : 396.000 = \underline{4,0 \text{ g / stk.}}$

Det er vurderet, at ca. 30.000 stk. ud af de i alt 34.000 stk. døde, allerede omkom under klækningen pga. svamp (evt. for sent desinfektion).

Der er altså fra blommesæks-stadiet og perioden ud kun mistet ca. 4.000 stk. yngel.

Dette svarer til følgende dødeligheder:

- Fra øjenæg til forsøgsperiodens afslutning: $34.000 : 430.000 \times 100 = \underline{8 \%}$
- Fra blommesæksstadiet til forsøgsperiodens afslutning: $4000 : 400.000 \times 100 = \underline{1 \%}$

I yngelanlægget har periodens maksimale udfodring været 22 kg/døgn.

Elforbruget til drift af anlæggets to blæsere er blevet målt. Der er målt følgende effektforbrug ved den frekvensregulerede blæser til drift af mammutpumperne: 35 Hz = 1,7 kW, 40 Hz = 2,0 kW og 50 Hz = 2,4 kW.

Blæseren til drift af biofiltrene bruger 1,45 kW på lav effekt og 1,85 kW på høj effekt. Blæseren har været ude af drift i opstarten og ellers kørt på lav effekt.

Periodens middeleffektforbrug kan ud fra journalen opgøres til 3,45 kW, hvoraf 33 % går til drift af moderfiskanlægget. Effektforbruget til drift af yngelanlægget har således i middel været på ca. 2,25 kW.

Ved en pris på 45 øre/kWh giver dette en omkostning på ca. 1,64 kr per kg. yngel.

2.2.3. Drift 2002.

Der har ikke været problemer med anlæggets drift i Fase III. I lighed med Fase II blev vandet i anlægget dagligt analyseret for pH, ilt, temperatur, nitrit, nitrat og ammonium i anlægget. pH, ilt, temperatur blev målt med elektrode, medens ammonium, nitrit og nitrat blev målt med testkits.

De målte vandkvalitetsparametre lå generelt på linie med resultaterne fra Fase II.

Vandindtaget i år 2002 har varieret mellem 0,5 – 1 l/min. i yngelanlægget.

2.2.4. Diskussion

Ligesom i Fase II har anlægget levet op til forventningerne.

Foderkvotienten har i yngelanlægget været 0,47.

Dette skal sættes i forhold til, hvad der normalt opnås på andre dambrug. Konkrete tal på dette findes ikke. Ved optimal drift er erfaringen dog, at en foderkvotient på 0,5 - 0,6 er opnåelig, men at den rent faktisk ofte ligger mellem 0,6 – 0,7.

Den opnåede foderkvotient må altså betegnes som værende lav og dermed tilfredsstillende.

Dødeligheden har været meget lav.

Der er død ca. 8 % i alt. Som beskrevet ovenfor er en stor del af dødeligheden sket under klækningen. Efterfølgende var dødeligheden kun 1 %, hvilket må betegnes som yderst tilfredsstillende.

Til sammenligning kan nævnes, at det under Fase I blev fundet at yngeldødeligheden fra svømop til 1,5 gram størrelsen i gennemsnit er ca. 25-35 % under traditionelle opdrætsforhold med YDS.

Klækningen af øjenæggene foregik også i Fase III i det recirkulerede vand. Dette medførte (ligesom i Fase II) at æggene blev voldsomt angrebet af svamp. Svampeangreb og dermed dødeligheden er normalt mindre hvis klækningen foregår i gennemstrømningsanlæg. Heraf kan udledes, at såfremt klækningen foregår i et lignende recirkulerings system tilrådes det, at der findes en effektiv procedure til forebyggelse af svamp.

Dambrugeren har været særdeles tilfreds med anlæggets indretning og de driftsmæssige forhold, der har været nemt at passe. Arbejdsindsatsen har været lille i forsøgshuset sammenlignet med et traditionelt kummehus.

Den daglige rengøring af kummerne har hurtigt kunne udføres med ”støvsuger”, hvilket har været let og effektivt med et lille vandforbrug. Dette har bidraget til at opretholde meget stabile vandparametre.

2.2.5. Konklusion

- Anlægget har ligesom i Fase II levet op til de stillede ønsker om kapacitet, driftsomkostninger og let håndterbarhed.
- Foderkvotienten for ynglen har været lav.
- Dødeligheden hos ynglen har været lav.

3. Bakteriologiske undersøgelser

3.1 Bakteriologiske undersøgelser af moderfisk

3.1.1 Indledning

En af konklusionerne fra Projekt YDS Fase II var, at bakterien *Flavobacterium psychrophilum*, årsagen til Yngeldødelighedssyndromet (YDS), kan findes i sæd og ægvæske hos moderfisk (Fase II rapporten). Andre undersøgelser fra ind- og udland har også beskrevet dette (Rangdale *et al.* 1996, Brown *et al.* 1997, Ekman *et al.* 1999, Madsen *et al.* 1999 (Projekt YDS Fase I)). Formålet med Fase II var at undersøge, om smittekæden mellem moderfisk og æg/ungel kunne brydes ved at isolere moderfisk i borevand i recirkulation og på den måde minimere eller eliminere forekomsten af YDS-bakterier, populært sagt undersøge om moderfisk på denne måde kunne rense sig for bakterien. Dette lykkedes ikke i den 4 måneders periode forsøget kørte, men da forsøgsbetingelserne ikke var optimale, blev det besluttet at gentage forsøget (Projekt YDS Fase III).

Under Fase III blev prøvetagningen koncentreret om moderfisk der gik i forsøgsanlægget (kummehus med recirkulering af borevand) bygget i forbindelse med opstart af Fase II. Inden kønsmodenhed blev moderfisk flyttet fra jorddamme til forsøgsanlægget. Forekomsten af YDS-bakterier i indre organer samt på overfladen af fisken blev fulgt ved regelmæssig udtagning af prøver af hanner og hunner.

3.1.2 Metoder

Moderfisk (ca. 400 stk.) blev overført til forsøgsanlægget fra jorddamme i juni 2001. I forbindelse med overflytningen blev fiskene desinficeret i formalinbad (1 : 3000). Der var tale om fisk af størrelse 2-3 kg/stk., hunner var 4 års fisk der skulle stryges 2. gang, mens hanner var 3 års fisk der skulle stryges 1. gang.

Prøver fra hud (slimlag), gæller samt indre organer (bughule, milt, ægsæk/testikel, nyre, lever, hjerte, tarm, hjerne) hos moderfiskene blev udtaget. Endvidere blev der udtaget vandprøver fra anlægget, hvor de undersøgte fisk gik. For metodebeskrivelser henvises til Fase II rapporten.

3.1.3 Resultater

Moderfisk i forsøgsanlæg

Resultater fremgår af tabel 3.1.

Den første prøvetagning foregik i november måned (16/11 2001), hvor i alt 10 moderfisk blev undersøgt, heraf 5 hanner (48-58 cm) samt 5 hunner (59-70 cm). YDS-bakterier kunne påvises hos 3 hanner, fra enten hjerne, slim eller sæd, samt hos 2 hunner, fra gæller hos den ene hun samt slim, øje og sår på kæbe fra den anden hun. Der blev ikke påvist YDS-bakterier i de to vandprøver udtaget hhv. før og efter UV-anlægget.

I forbindelse med strygning (24/1 2002) blev der udtaget prøver fra i alt 10 moderfisk. Hos de 5 hanner (52-60 cm) blev der ikke påvist YDS-bakterier. Til gengæld blev bakterien påvist hos 2 af de 5 undersøgte hunner (75-81 cm). Fra slim hos den ene hun, samt fra æg i bughulen, milt samt

hudforandring hos den anden hun. I de to vandprøver blev YDS-bakterien fundet i prøven taget før UV-anlægget, mens den ikke blev fundet i vandprøven taget efter UV-anlægget.

Ved prøvetagningen to måneder senere (20/3 2002) blev 5 hanner (længde 55-62 cm) undersøgt, hvor YDS-bakterier kunne påvises i gæller hos 1 han samt i slim, gæller, nyre, lever og sår hos 1 han. Ligeledes kunne bakterien påvises i bughuleprøven fra 1 hun ud af 5 undersøgte (længde 61-70 cm), mens bakterien ikke kunne findes i vandprøverne.

I starten af maj (3/5 2002) blev 10 moderfisk undersøgt. YDS-bakterier blev påvist hos 2 hanner ud af 5 undersøgte (længde 60-68 cm), fra hhv. sår og sæd. Fra 5 hunner (længde 58-73 cm) kunne bakterien isoleres fra de 2, i hhv. lever og bughuleprøve. Endvidere kunne *Yersinia ruckeri* (rødmundsyge-bakterien) isoleres hos 1 hun fra slim, gæller, milt, tarm og hjerte. Der var tale om samme hun hvor YDS-bakterien blev isoleret i leverprøven. YDS-bakterier kunne ikke påvises i vandprøverne.

Tabel 3.1 Forekomst af *Flavobacterium psychrophilum* hos moderfisk

Prøver 2001-2002	November	Januar	Marts	Maj
Moderfisk i forsøgsanlæg	Påvist (5 af 10)* (hjerne, slim, sæd, øje, sår, gæller)	Påvist (2 af 10) (æg i bughule, milt, hudforandring)	Påvist (3 af 10) (gæller, slim, nyre, lever, sår, bughule)	Påvist (4 af 10) (sår, sæd, lever, bughule)
Vandprøver fra forsøgsanlæg	Ikke påvist	Påvist	Ikke påvist	Ikke påvist

* I alt undersøgt 10 fisk, hvoraf YDS-bakterien blev fundet hos de 5 fisk

3.1.4 Diskussion

Resultater fra prøvetagninger af moderfisk i forsøgsanlægget (recirkuleret borevand) viser, at fiskene ikke har kunnet rense sig for YDS-bakterien i den periode undersøgelsen stod på, hvilket vil sige fra juni 2001 til maj 2002. Hos i alt 40 undersøgte fisk blev YDS-bakterien fundet hos de 14, både fra overfladen og fra indre organer. Ved hver af de fire prøvetagninger er YDS-bakterien blevet fundet hos mellem 2 og 5 af 10 undersøgte fisk, hvilket vil sige at der ikke er sket en ændring i prævalensen (antal fisk hvorfra bakterien kunne påvises i forhold til antal undersøgte fisk) i den periode hvor undersøgelsen har fundet sted. I forbindelse med strygning af fisk er prævalensen heller ikke større (bakterien fundet hos 2 ud af 10 undersøgte). Dette var ellers tilfældet under Fase II (Fase II rapporten), hvor bakterien blev fundet hos 5 ud af 7 undersøgte fisk.

Fra juni 2001 til februar 2002 har der været mulighed for, at der kunne ske et tilbageløb af vand fra det udendørs recirkuleringsanlæg til borevandsindtaget for forsøgsanlægget. Dette blev forhindret i februar.

3.1.5 Konklusion

- YDS-bakterien kunne påvises i sæd og ægsæk hos moderfisk.
- Moderfiskene kunne ikke rense sig for YDS-bakterien under de opstillede forsøgsbetingelser, et lukket system med recirkulering og UV-behandling af borevand.
- Bakterien fandtes hos ca. 1/3 af de undersøgte fisk, dog uden at der forekom sygdom og dødelighed blandt fiskene, og prævalensen (antal fisk hvorfra bakterien kunne isoleres i forhold til antal undersøgte fisk) holdt samme niveau gennem forsøgsperioden.

3.2 Bakteriologiske undersøgelser af æg

3.2.1 Indledning

En af konklusionerne på Fase II var, at YDS-bakterien kunne findes på overfladen af nybefrugtede æg men ikke indeni æggene (Fase II rapporten). Det var heller ikke muligt at genfinde bakterien på øjenæg, hverken før eller efter desinfektion. Andre undersøgelser har dog skabt bekymring for at bakterien kunne spredes vertikalt (spredning fra moderfisk til æg) (Brown *et al.* 1997, Kumagai *et al.* 2000). Derfor var det ønskeligt at gentage forsøget, hvorfor der blev foretaget en produktion af æg fra de isolerede moderfisk i forsøgsanlægget.

3.2.2 Metoder

Ægprøver blev udtaget fra moderfisk i forbindelse med strygningen. Endvidere blev der også udtaget prøver, da æggene havde nået øjenægstadiet. For metodebeskrivelser se Fase II rapporten. Ved desinfektion i forbindelse med undersøgelserne brugtes Actomar K30 1 % opløsning (100 ppm) og æggene blev desinficeret i 15 min.

3.2.3 Resultater

Æg fra strygning 24/1 2002 (forsøgsanlæg)

I forbindelse med strygning af moderfisk blev der udtaget æg. Disse ubefrugtede æg blev undersøgt før samt efter desinfektion med Actomar K30 (foretaget af Fiskepatologisk Laboratorium). YDS-bakterier kunne ikke påvises på overfladen af æggene ved direkte udsæd, men ved opformering af evt. bakterieflora på hele udesinficerede æg blev YDS-bakterier påvist i en prøve fra den ene af de 5 hunner (i alt undersøgt 30 prøver med i alt 150 æg, hvoraf 1 prøve med 5 æg var positiv (udtaget 6 prøver fra hver hun)). Evt. bakterieflora på hele desinficerede æg blev også opformeret, men YDS-bakterien kunne ikke påvises (40 prøver med i alt 200 æg). I de tilfælde hvor der ikke var vækst af bakterier, blev æggene knust, hvorpå evt. bakterieflora i de knuste æg blev forsøgt opformeret. YDS-bakterier kunne ikke påvises i de knuste 13 prøver (i alt 65 æg).

Der blev også taget prøver af nybefrugtede æg (blanding af æg fra alle strøgne hunner). I alle 3 stikprøver fra den samlede prøve kunne YDS-bakterier påvises på overfladen af æggene ved direkte udsæd. Dette var ikke tilfældet ved opformering af evt. bakterieflora på hele udesinficerede æg (18 prøver med i alt 90 æg). Evt. bakterieflora på desinficerede æg (24 prøver med i alt 120 æg) (desinfektion foretaget af Fiskepatologisk Laboratorium) blev også opformeret, hvor YDS-bakterien

kunne påvises i 1 prøve (med 5 æg). Ved opformering af knuste æg (hvor overflade-opformering havde været steril) kunne YDS-bakterien ikke påvises (13 prøver med i alt 65 æg).

Tabel 3.2 Forekomst af *Flavobacterium psychrophilum* hos æg

	Udenpå æg Direkte udsæd	Udenpå æg Ingen desinfektion	Udenpå æg Desinfektion	Indeni æg
Ubefrugtede æg	Ikke påvist (0 af 5)* (0 æg af 50)	Påvist (1 af 30) (5 æg af 150)	Ikke påvist (0 af 40) (0 æg af 200)	Ikke påvist (0 af 13) (0 æg af 65)
Nybefrugtede æg	Påvist (3 af 3) (30 æg af 30)	Ikke påvist (0 af 18) (0 æg af 90)	Påvist (1 af 24) (5 æg af 120)	Ikke påvist (0 af 13) (0 af 65)
Øjenæg (moderfiskanlæg)	Ikke påvist (0 af 3) (0 æg af 30)	Ikke påvist (0 af 18) (0 æg af 90)	Ikke påvist (0 af 32) (0 æg af 160)	Ikke foretaget
Øjenæg (yngelanlæg)	Ikke påvist (0 af 3) (0 æg af 30)	Ikke påvist (0 af 24) (0 æg af 120)	Ikke påvist (0 af 24) (0 æg af 120)	Ikke foretaget

* Positive prøver af samlede antal prøver

Da de befrugtede æg havde nået øjenægstadiet, blev der udtaget prøver (19/2 2002). YDS-bakterier kunne ikke påvises på overfladen af udesinficerede øjenæg, hverken ved direkte udsæd (3 stikprøver med i alt 30 æg) eller efter opformering (18 prøver med i alt 90 æg). Det samme var tilfældet ved desinfektion (32 prøver med i alt 160 æg). Ingen æg blev knust, da ingen af opformeringerne var sterile. På dambruget var de fleste af æggene allerede desinficerede samt overflyttet til yngelafdelingen. Ved prøvetagning af disse æg (24 prøver med i alt 120 æg) blev YDS-bakterien ikke fundet, heller ikke ved direkte udsæd (3 prøver med i alt 30 æg). Efter desinfektion foretaget af Fiskepatologisk Laboratorium (24 prøver med i alt 120 æg) kunne bakterien heller ikke findes. Da opformeringerne ikke var sterile, blev æggene heller ikke i dette tilfælde undersøgt indvendigt.

Æg fra strygning 19/2 2002

Da det var ønskeligt at gentage æg-undersøgelserne, blev hhv. 3 hanner og 3 hunner strøget, og en stikprøve af ubefrugtede æg samt en stikprøve af sæd blev udtaget og undersøgt uden at YDS-bakterier kunne isoleres. I samme forbindelse blev der udtaget prøver af befrugtede og vandhærdede æg (blanding af alle strøgne moderfisk), uden at YDS-bakterier kunne genfindes, hverken i

udesinficerede æg (18 prøver med i alt 90 æg), desinficerede æg (24 prøver med i alt 120 æg) samt knuste æg (1 prøve med i alt 5 æg).

Forsøg med *Flavobacterium psychrophilum* (YDS-bakterien) og æg/sæd

Der blev foretaget to eksperimenter, hvor en kultur af YDS-bakterien blev tilsat sæd og æg, hvorefter der blev foretaget befrugtning for at klarlægge, om bakterien kunne trænge ind i ægget under befrugtningen (forsøgene fandt sted på dambruget samtidig med prøveudtagningen 24/1 2002 samt 19/2 2002). De inficerede befrugtede æg blev undersøgt på samme måde som de ikke-inficerede æg, og resultatet var at YDS-bakterier kunne genfindes på ægoverfladen men ikke i knuste æg.

3.2.4 Diskussion

De mange undersøgelser viste, at YDS-bakterier kunne påvises udenpå æg efter befrugtningen, men at det ikke var muligt at påvise YDS-bakterier inde i æggene, heller ikke når æggene nåede øjenægstadiet. Dette blev også bekræftet af YDS-bakterie-infektionsforsøg i forbindelse med befrugtning, der også resulterede i, at bakterien kunne genfindes udenpå men ikke indeni æggene.

Et laboratorieforsøg foretaget under Fase II havde vist, at bakterien var i stand til at overleve i den knuste ægmasse og endvidere kunne formere sig under disse forhold. Så hvis YDS-bakterien var inde i ægget som antydnet af andre, ville man forvente at den ville være let at påvise.

Undersøgelserne viste endvidere, at YDS-bakterier der befandt sig udenpå æggene kunne overleve en desinfektion med 1 % Actomar K30, da der på befrugtede æg kunne genfindes bakterier både før samt efter desinfektion.

3.2.5 Konklusion

- YDS-bakterien kunne påvises på overfladen af ubefrugtede og nybefrugtede æg, mens den ikke kunne påvises indeni æg samt på øjenæg.
- Desinfektion med 1 % Actomar K30 havde en reducerende effekt på bakteriefloraen på overfladen af æg, dog ikke 100 %, og det var muligt at påvise YDS-bakterien efter en sådan desinfektion.

3.3 Bakteriologiske undersøgelser af yngel

3.3.1 Indledning

Efter klækning af øjenæg skulle YDS-status i ynglen (isoleret i borevand i recirkulation) følges ved regelmæssig prøvetagning, fra blommesækstadiet til ynglen var 2-3 g. Konklusion på yngelundersøgelserne under Fase II var, at YDS-bakterien ikke kunne genfindes hos yngel der gik i forsøgs-anlægget, men at bakterien blev konstateret i ynglen efter sortering (Fase II rapporten). Forsøget ønskedes gentaget under Fase III.

3.3.2 Metoder

Prøver fra huden (slimlag), gællerne samt indre organer (bughule, milt, nyre, lever, tarm, hjerne) blev udtaget. Hos blommesækkyngel blev der sået ud fra blommesækken, slim, nyre og hjerne. For metodebeskrivelser henvises til Fase II rapporten.

3.3.3 Resultater

Tabel 3.3 Forekomst af *Flavobacterium psychrophilum* hos yngel

Prøver 2002	Marts	Marts	Maj	Juni
Yngel i forsøgsanlæg	Ikke påvist (0 af 46)*	Ikke påvist (0 af 10)	Ikke påvist (0 af 10)	Påvist (1 af 25)** (slim)
Vandprøver fra forsøgsanlæg	Ikke påvist	Ikke påvist	Ikke påvist	Ikke påvist***

* YDS-bakterien påvist hos 0 fisk ud af 46 undersøgte

** Hos 25 undersøgte fisk blev YDS-bakterien påvist hos 1 fisk, mens rødmundsygebakterien blev påvist hos 20 fisk

***Rødmundsygebakterien påvist

Yngel i forsøgsanlæg (fra stryging 24/1 2002)

På blommesækstadiet blev 46 yngel undersøgt i marts (7/3 2002) uden at YDS-bakterier kunne påvises. Heller ikke to vandprøver var positive for YDS-bakterier.

Ved prøvetagningen senere i marts (20/3 2002) blev YDS-bakterier ikke påvist, hverken hos 10 yngel (længde 2,7-3,0 cm) eller i vandprøver udtaget før og efter UV-anlægget.

Prøvetagningen i maj (3/5 2002) resulterede heller ikke i påvisning af YDS-bakterier, hverken hos 10 undersøgte fisk (3,2-5,1 cm) eller i de to vandprøver udtaget før og efter UV-anlægget.

Herefter blev fiskene sorteret to gange, hhv. 13/5 samt 27/5 inden prøvetagningen i juni (12/6 2002), hvor i alt 25 fisk (6,4-9,0 cm, dog en enkelt fisk med længden 4,2 cm) blev undersøgt. YDS-bakterien blev påvist hos 1 fisk i slimprøven. Hos denne fisk blev rødmundsyge-bakterien også fundet, i gæller, bughule, tarm, milt, lever, nyre og hjerne. Rødmundsyge-bakterier blev fundet hos i alt 20 af de 25 undersøgte fisk. YDS-bakterien blev ikke fundet i vandprøverne, hvorimod rødmundsyge-bakterien blev fundet i vandprøven taget før UV-anlægget. Se endvidere Tabel 3.3.

Yngel overflyttet til forsøgsakvarier på Fiskepatologisk Laboratorium

Inden første sortering blev der 8/5 2002 overflyttet fisk fra forsøgsanlægget til KVL's forsøgsdyrsfaciliteter, ca. 500 stk yngel. Disse blev fulgt over en periode på 5 måneder. I juni (7/6

2002) blev 10 fisk undersøgt (gennemsnitsvægt 1,9 g), uden at YDS-bakterien kunne påvises. Der blev foretaget to stress forsøg på fiskene i juli/august. Det ene forsøg var en latent carrier test, hvor 20 fisk blev sprøjtet i bughulen med 0,1 ml/fisk dexamethason (2 mg/ml). Fiskene blev aflivet efter respektive 1, 2 og 3 uger, hvorefter der blev taget prøver ud fra slim, gæller og indre organer. YDS-bakterien kunne ikke påvises. Det andet forsøg var en crowding test, hvor tæthed hos fiskene blev øget til 0,2 kg/l i 8 dage. Derefter blev 30 fisk aflivet, og slim, gæller og indre organer blev undersøgt. Heller ikke i dette tilfælde kunne YDS-bakterien påvises.

3.3.4 Diskussion

Det kan konstateres, at YDS-bakterier først blev påvist hos ynglen der gik i forsøgsanlægget efter at denne yngel var blevet sorteret. I dette tilfælde blev bakterien påvist i slimprøven fra 1 fisk ud af 25 undersøgte og samtidig fandtes der også rødmundsyge blandt ynglen, hvilket kunne tyde på, at der igen, som tilfældet var i forbindelse med Fase II af projektet, er sket en smitteoverslæbning til forsøgsanlægget, måske i forbindelse med sortering (Fase II rapporten). På samme tidspunkt var der YDS udbrud på det resterende dambrug og YDS var også blevet konstateret hos den yngel der var blevet opdrættet i det gamle kummehus.

Efter sortering blev ynglen flyttet ud i det udendørs recirkuleringsbassin samt i jorddamme, og her optrådte der i alle tilfælde YDS blandt fiskene.

Det var ikke muligt at påvise bakterien hos den yngel, der var blevet overflyttet til forsøgsfaciliteter på Fiskepatologisk Laboratorium fra forsøgsanlægget inden sortering. Heller ikke efter at fiskene havde været udsat for stress-test.

3.3.5 Konklusion

- YDS-bakterien blev først påvist blandt ynglen i forsøgsanlægget efter sortering.
- YDS-bakterien kunne ikke efter stress-forsøg påvises hos yngel, der ikke havde været udsat for sortering.

3.4 Bakteriologiske undersøgelser af vand

3.4.1 Indledning

I forbindelse med prøvetagninger af moderfisk, æg og yngel blev der også udtaget vandprøver, både for at konstatere om YDS-bakterier fandtes i vandet men også for at få kendskab til effekten af UV-anlæggene, undersøgelser der også havde fundet sted under Fase II.

3.4.2 Metoder

For metodebeskrivelser se Fase II rapporten.

3.4.3 Resultater

Kimtal i vand med moderfisk

I forsøgsanlægget med moderfisk lå kimtallet før UV-filteret på 10^3 - 10^5 cfu/ml mens det blev reduceret til 10^2 - 10^3 cfu/ml efter UV-filteret, dvs. UV-filteret reducerede kimtallet med 90 %. Det skal også bemærkes, at den ene gang hvor YDS-bakterier kunne isoleres i vand var det i vandprøven taget før UV-filteret.

Kimtal i vand med yngel

I forsøgsanlægget med yngel var kimtallet omkring 10^4 cfu/ml, hvor der i de fleste tilfælde ikke sås forskel på prøverne taget før og efter UV-anlægget, mens der ved en enkelt prøvetagning kunne ses en reduktion på 90 % efter vandet havde været igennem UV-anlægget.

3.4.4 Diskussion

UV-anlægget hos moderfiskene i forsøgsanlægget viste sig at have en effekt på bakteriekimtallet, mens det samme ikke kunne siges om UV-anlægget i yngelforsøgsanlægget. Dette var også konklusionen på undersøgelserne foretaget under Fase II af projektet.

3.4.5 Konklusion

- UV-anlægget havde en reducerende effekt på bakteriekimtallet i forsøgsanlægget hos moderfiskene.

4. Karakterisering af YDS-bakterier for at klarlægge smitteveje

4.1 Indledning

Laboratorieundersøgelser foretaget i forbindelse med Fase I, II og III af Projekt YDS har resulteret i isolering af mange YDS-bakterier, både fra moderfisk, yngel, æg og vand. Det var hensigten at undersøge disse bakterier nøjere for at se, om der evt. kunne ses et smittebillede imellem de enkelte grupper, herunder moderfisk og yngel, samt om det var muligt at vurdere om den enkelte bakterie var i stand til at forårsage sygdom. De isolerede YDS-bakterier er blevet karakteriseret og grupperet efter ribotype, serotype og elastinnedbrydning.

Metoden der er anvendt til serotype-karakterisering er en antigen-antistof reaktion. Formålet med at inddele bakterier i serotyper har betydning for udvikling af vacciner. På nuværende tidspunkt arbejder vi med serotyperne Fd, Th og Fp^T, hvor Fd og Th er påvist i forbindelse med sygdom, mens Fp^T endnu ikke er påvist i forbindelse med sygdom i Danmark (Dalsgaard & Madsen 2000, Madsen & Dalsgaard 2000).

Ribotypekarakterisering er en slags ”fingeraftryksteknik”, hvor man isolerer bakteriens DNA (arveanlæg) og skærer dette med enzymer. Man sammenligner de mønstre (typer) der fremkommer når man kører disse ituskårne DNA oprensninger i et spændingsfelt, og på denne måde kan små forskelle mellem YDS-bakterier konstateres. Fra tidligere undersøgelser vides at der findes en dominerende ribotype kaldet A blandt YDS-bakterier isoleret ved sygdomsudbrud (Madsen & Dalsgaard 2000), mens eksempelvis bakterier med ribotype B kun blev isoleret fra fisk uden tegn på sygdom.

YDS-bakterien er meget proteolytisk hvilket også fremgår af de forandringer vi ser på fisk ved sygdomsudbrud. De fleste YDS-bakterier nedbryder mange forskellige proteiner i fisken, men det har vist sig, at elastin, som indgår i bindevæv, ikke nedbrydes af alle bakterier. Det ser ud til, at de bakterier der ikke kan nedbryde elastin ikke forårsager sygdom (Dalsgaard & Madsen 2000).

4.2 Metoder

I alt 37 bakterier fra Fase III samt omkring 450 bakterier fra Fase II og knap 100 bakterier fra Fase I er forsøgt nærmere karakteriseret.

Ribotype-undersøgelser er foretaget som beskrevet i Madsen & Dalsgaard (2000), mens serologiske undersøgelser og elastin-undersøgelser er beskrevet i Dalsgaard & Madsen (2000).

4.3 Resultater

Fase I

I forbindelse med Fase I blev der udtaget prøver på 4 yngeldambrug.

På dambrug 1 blev YDS-bakterien fundet i ægvæske hos moderfisk samt syg yngel, i alle tilfælde var der tale om ribotype A. Dette var også tilfældet da bakterien lidt over 3 mdr. senere blev fundet hos yngel. Alle bakterier kunne nedbryde elastin, og foreløbige undersøgelser tyder på at de tilhørte serotype Th.

På dambrug 2 blev ribotype A fundet i både ægvæske og sæd hos moderfisk samt i vand brugt til hærkning af æg, men andre ribotyper sås også. Ved undersøgelser 2 måneder senere optrådte ribotype A igen hos yngel samt i vandprøver (både fra udløb af kumme med yngel og fra dam med moderfisk), mens det var nogle andre ribotyper der sås hos moderfiskene. Ved undersøgelse af yngel yderligere en måned senere havde alle fundne bakterier ribotype A.

Fra dambrug 3 blev isoleret ribotype A fra sæd hos moderfisk samt fra vandprøver, mens der endvidere hos moderfiskene sås bakterier med ribotyper der ikke optrådte på de andre dambrug. Bakterier med en af disse ribotyper kunne ikke nedbryde elastin.

På dambrug 4 optrådte kun bakterier (fra ægvæske, yngel samt vand, udløb fra hele dambruget) med ribotype A.

Fase II

Under Fase II blev alle undersøgelser foretaget på samme dambrug. På dambruget var et forsøgsanlæg med recirkuleret borevand og UV-behandling af vandet, det ordinære dambrug med kummehus og jorddamme med åvand samt et udendørs recirkuleringsanlæg med borevand.

YDS-bakterier fundet i forbindelse med sygdomsudbrud hos fisk, både i udendørs recirkuleringsanlæg samt i det gamle kummehus, kunne overvejende karakteriseres som ribotype A. Da der blev fundet YDS-bakterier i yngel i forsøgsanlægget i september 2000, var der tale om bakterier der alle havde ribotype A. Bakterier fundet samtidig hos moderfisk i forsøgsanlæg (ynglen stammede ikke fra disse moderfisk) havde også denne ribotype, mens bakterier fundet hos yngel i udendørs recirkuleringsanlæg (både dem der stammede fra forsøgsanlægget samt dem der stammede fra det gamle kummehus) og bakterier fundet hos yngel i jorddam enten havde ribotype A eller ribotype O. Ribotype O fandtes både i yngel fra udendørs recirkuleringsanlæg samt jorddam, og ved undersøgelse af foreløbig ét af disse bakterier isolater, fandtes det at isolatet kunne nedbryde elastin. Da der blev fundet YDS-bakterier i yngel i forsøgsanlægget i maj 2001, kunne disse karakteriseres som ribotype A og elastin-nedbrydende. Det samme var tilfældet for bakterier isoleret på samme tidspunkt hos yngel i udendørs recirkuleringsanlæg, samt hos ynglen placeret i moderfiskforsøgsanlægget.

Bakterier fundet på overfladen af befrugtede, vandhærdede æg havde ribotype A.

Bakterier fundet hos moderfisk fra både forsøgsanlæg samt det gamle kummehus og jorddamme tilhørte flere forskellige ribotyper, herunder også ribotype A. Bakterier med ribotype A kunne både findes i slim, gæller og sår men også i indre organer. Ribotype B kunne også findes hos moderfisk, i ægsæk, slim, sår, lever, tarm, milt, nyre og bughule.

Foreløbige serotypekarakteriseringsresultater tyder på, at ribotype A bakterier tilhører serotyperne Fd eller Th (kendes også fra Madsen & Dalsgaard 2000), mens bakterier med andre ribotyper ofte tilhører Fp^T.

Foreløbige elastinundersøgelser viser, at bakterier med ribotype A kan nedbryde elastin. Dette gælder også for bakterier med ribotype G, mens bakterier med ribotype J overvejende kan nedbryde elastin. Bakterier med ribotyperne B og M kan ikke nedbryde elastin.

Fase III

Moderfisk og yngel på forsøgsanlægget (hvor der også var blevet taget prøver under Fase II af projektet) blev fulgt ved regelmæssige prøveudtagninger. For resultater af karakteriseringsundersøgelser af isolerede YDS-bakterier se Tabel 4.1.

Ved prøvetagning i november 2001, hvor kun moderfisk blev undersøgt, optrådte ribotype A i slim og sår. Der sås også bakterier med andre ribotyper hos moderfisk fra slim, gæller og sår (ribotyperne B (elastin negativ) samt V og O (begge elastin positive)). Bakterier med ribotype M (elastin negative) blev isoleret fra hjerne hos en fisk samt øje og sår hos en anden fisk.

Ved prøvetagningen i januar i forbindelse med strygningen, blev der påvist bakterier med ribotype A på overfladen af befrugtede æg. Ligeledes tilhørte bakterien fundet hos desinficerede befrugtede æg ribotype A. Disse bakterier kunne alle nedbryde elastin, mens de tilhørte serotype Fd eller Th. Andre ribotyper sås hos moderfiskene, herunder ribotype M fra slim og milt. Bakterier med ribotype M blev også fundet i moderfiskene ved prøvetagningen i marts (slim og nyre) og maj (sår). Den ene bakterie der sås hos yngel i juni, havde en ikke før set ribotype hvis betydning for at forårsage sygdom ikke kendes.

Tabel 4.1 Karakterisering af YDS-bakterier fra Fase III – foreløbige resultater

	Ribotype	Elastin	Serotype	Antal bakterier
Moderfiskanlæg				
Moderfisk	A	+	Fp ^T	4
	M	-		9
	B	-	Fd el. Fd/Th	1
	V	+		3
	O	+		1
	X	+	Th	2
	G			Fp ^T
	J	+		1
		-		1
				1
Vand (moderfisk)			Th	2
Ubefrugtede æg	K	-		1
Befrugtede æg	A	+	Fd eller Th	6
Befrugtede æg (desinficerede)	A	+	Fd	1
Øjenæg				0
Yngelanlæg				
Øjenæg				0
Yngel	P		*	1

* kan ikke serotypes efter det anvendte system

4.4 Diskussion

Hos moderfisk blev både mulige virulente (sygdomsfremkaldende) bakterier (med ribotype A, serotype Fd eller Th samt elastin-nedbrydende) samt mulige ikke virulente bakterier (eksempelvis

med ribotype B) påvist. Begge typer bakterier blev både fundet udenpå samt indeni fiskene. Påvisningen af sygdomsfremkaldende YDS-bakterier hos moderfisk uden at der registreres klinisk sygdom tyder på, at andre faktorer end tilstedeværelsen af bakterien har betydning for at der udbryder sygdom. Der blev dog på flere af moderfiskene observeret sår, hvorfra bakterien kunne påvises.

Bakterier med ribotype A kunne findes på alle dambrug mens bakterier med nogle af de andre ribotyper så ud til at være specifikke for de forskellige dambrug undersøgt under Fase I.

Bakterier fundet på befrugtede æg tilhørte alle ribotype A, kunne nedbryde elastin samt tilhørte enten serotype Fd eller Th, dvs. de kunne muligvis være sygdomsfremkaldende.

Hos yngel i forsøgsanlægget blev der i september 2000 efter sortering fundet YDS-bakterier. Her var tale om bakterier karakteriseret ved at være elastin positive samt tilhøre ribotype A. Status hos moderfiskene som de stammede fra kendes ikke, da der var tale om æg indkøbt fra et andet dambrug. Fase I har dog vist, at bakterier med ribotype A kan findes hos moderfisk på alle undersøgte dambrug. En smitteoverførsel fra de syge fisk på det ordinære dambrug til yngel i forsøgsanlæg kan ikke udelukkes, da der samtidig var sygdom hos yngel i det udendørs recirkuleringsanlæg samt jorddamme. Disse bakterier havde ribotype A (enkelte også ribotype O).

I forbindelse med isoleringen af YDS-bakterier hos yngel i forsøgsanlæg under Fase III, var der denne gang tale om en bakterie, der kunne karakteriseres som ribotype P, en ribotype der ikke er set før, samt hvis sygdomsfremkaldende egenskaber ikke er kendt. Det kan ikke ud fra de foretagne undersøgelser spores, hvor denne bakterie er kommet fra.

4.5 Konklusion

- YDS-bakterier fra sygdomsudbrud hos yngel kunne overvejende klassificeres til at tilhøre ribotype A samt serotype Fd eller Th samt kunne nedbryde elastin.
- YDS-bakterier fra moderfisk kunne klassificeres til både at tilhøre virulente samt ikke virulente ribotyper, og bakterier fra enten det ydre eller indre af fiskene tilhørte ikke en bestemt af disse grupper.
- Fundet af bakterier med samme ribotype (genetisk ensartede bakterier) hos både moderfisk og æg viser, at bakterien kan overføres fra moderfisk, evt. i forbindelse med strygningen, til æggene, dog er bakterien kun påvist udenpå æggene.
- Selvom der er YDS-bakterier til stede hos moderfiskene har disse ikke forårsaget klinisk sygdom.
- For at være i stand til at klarlægge smitteveje i en produktion er det nødvendigt, at både fæno- og genotypiske metoder anvendes til karakterisering af bakterierne, som det er foretaget i dette projekt.

5. Kliniske observationer og sygdomsudbrud

5.1 Indledning

Som i Fase II har Dansk Dambrugerforenings Helsetjeneste ligeledes i Fase III efter aftale varetaget regelmæssige undersøgelser af yngel på dambruget i projektperioden cirka 1 gang månedligt og periodevis oftere, hvis en særlig situation med behov for hyppigt tilsyn opstod. Meningen hermed var, at kontrollere ynglen for kliniske symptomer på YDS eller andre sygdomme og at følge udviklingen, hvis der forekom sygdom.

Undersøgelserne har især været koncentreret om yngelholdet i forsøgsanlægget. I mindre omfang er der også foretaget en række observationer på de hold yngel, der efter sortering og udtynding af bestandene i forsøgskummerne blev flyttet ud til andre produktionsenheder, samt på anden yngel i det gamle kummehus eller i det udendørs recirkulerede anlæg og jorddammene.

5.2 Metode

Retningslinierne for de kliniske undersøgelser adskiller sig ikke fra dem nævnt i Fase II rapporten side 44.

5.3 Observationer i forsøgsanlægget.

For oversigtens skyld er listen over Helsetjenestens kliniske observationer suppleret med en række data om ynglen. Ved fund af smitstoffer er teksten markeret med fed skrifttype.

Begivenhederne er nævnt i kronologisk rækkefølge.

(I bilag 3 er nævnt nogle af de kliniske observationer, som ikke umiddelbart har forbindelse til YDS-bakterien.)

Juni 2001: Moderfiskene isoleres i forsøgsanlægget
24.01.02: Moderfiskene stryges og ca. 550.000 æg befrugtes
24.01.02: Æggene inkuberes i byvand
30.01.02: Befrugtningsresultat tjekkes (Bau Kien-Tsing metoden), 92 % befrugtede
07.02.02: Første øjenæg
13.02.02: Frasortering af døde æg
16.02.02: Desinfektion (Actomar K 30) af øjenæg (430.000 stk.) og overflytning til yngelforsøgsanlægget
19.02.02: Let dødelighed, måske pga. for sen desinfektion
22.02.02: Saltbadning af æg (alle æg bades 3 gange i 1 % salt) pga. svamp
28.02.02: Klækning afsluttet, ca. 400.000 stk. blommesækkyngel
08.03.02: Blommesækkyngel ca. 400.000 stk., alt ok
20.03.02: ”Svøm-op”, alt ok
04.04.02: Yngel undersøges, alt ok
15.04.02: Yngel undersøges, alt ok dog enkelte med hævet epitel på gællebuer
01.05.02: **Yngel undersøges, Costia på hud på undermålsfisk, ingen behandling**

- 08.05.02: Levende yngel (1 kg, usortet) transporteres til Fiskepatologisk Laboratorium
13.05.02: Ynglen sorteres og nogle flyttes ud
17.05.02: **Yngel undersøges, stadig Costia på undermålsfisk, ingen på normale fisk, stadig ingen behandling.**
27.05.02: Ynglen sorteres og nogle flyttes ud
05.06.02: **Ynglen undersøges, gælleirritation og Costia hovedsagligt på undermålsfisk**
07.06.02: Forsøgskummer tilsættes salt. 0,3-0,5 % fodersalt i 2 døgn.
10.06.02: Ynglen undersøges, alt ok igen. Ingen Costia og gæller pænere.
12.06.02: **Enkelte døde fisk i anlægget. Der diagnosticeres klinisk rødmundsyge (senere bekræftet ved BU). Ved BU findes YDS-bakterien også i slim fra én fisk.**
14.06.02: Medicinering mod rødmundsyge påbegyndes (oxolinsyre)
20.06.02: Ynglen sorteres og nogle flyttes ud
30.06.02: Alt yngel flyttes ud af huset

5.4 Observationer (YDS) på yngel som er flyttet fra forsøgsanlæg til det øvrige dambrug.

Ynglen som er hentet ud fra forsøgshuset er fulgt i tiden frem til ca. 1/8 2002 især med henblik på forekomst af klinisk YDS.

Der er i alt flyttet 4 hold yngel ud af huset.

Tre ud af fire hold yngel, som er udsat fra forsøgsanlægget, har i Fase III været hårdt ramt af klinisk YDS. Udbruddene er typisk set fra ca. 7-14 dage efter udsættelsen. Alle hold med klinisk YDS er blevet medicinsk behandlet med florfenicol.

5.5 Observationer (YDS) på yngel udenfor forsøgsanlægget.

Der har i år 2002 generelt været store problemer med YDS hos yngel på den øvrige del af dambruget. Især i det gamle kummehus har ynglen været svært angrebet af klinisk YDS. Fra den 22/5 og fremefter til d. 1/8 (hvor vores undersøgelser stopper) har der faktisk været klinisk YDS-udbrud på dambruget hele tiden.

Der er bla. konstateret klinisk YDS udenfor forsøgsanlægget den:

22/5, 3/6, 5/6, 10/6, 14/6 og 12/7.

5.6 Observationer på moderfisk.

Moderfiskene har i forsøgsperioden ikke vist tegn på sygdom. Selv skimmelangreb efter strygning er ikke observeret.

Der er kun forekommet dødsfald, når fiskene har været hoppet af kummerne.

Der er ikke på noget tidspunkt anvendt medicin eller nogen form for hjælpestoffer, hos moderfiskene i forsøgshuset.

5.7 Diskussion

5.7.1 Fund af smitstoffer:

Der har sygdomsmæssigt været meget få problemer i yngelforsøgsanlægget. Der er dog konstateret 3 forskellige smitstoffer, som normalt giver klinisk udbrud af sygdom hos ørreder:

Costia necatrix:

Denne parasit (som også blev fundet i anlægget i Fase II) blev diagnosticeret på ynglen første gang d. 1/5. Parasitten er primært fundet på yngel, som var små og afmagrede. Der har ikke på noget tidspunkt været markant dødsfald hos fiskene pga. parasitangrebet. Forsøgsanlægget blev opsaltet d. 7/6 til ca. 0,3-0,5 %. Denne koncentration blev opretholdt i 2 døgn. Herefter blev der ikke set *Costia* igen i anlægget.

Yersinia ruckeri:

Årsag til rødmundsyge. Blev konstateret i anlægget d. 12/6 med kliniske symptomer til stede. Behandling blev iværksat d. 14/6. Denne bakterie var ikke hidtil set i yngelforsøgsanlægget (heller ikke under Fase II).

Flavobacterium psychrophilum:

YDS-bakterien. Denne bakterie er påvist i slim fra én fisk d. 12/6. Der var ingen kliniske symptomer. Ingen behandling foretaget i anlægget.

5.7.2 Smitteveje:

Det er ikke umiddelbart muligt at afgøre, hvorledes smitten er sket, men der kan dog peges på flere muligheder:

1. Smitten var i forsøgsanlægget inden øjenæggene blev lagt ind.
2. Smitten er sket med de indlagte øjenæg.
3. Smitten er sket via det indkomne vand.
4. Smitten er sket via mus/rotter/fugle
5. Smitten er sket af mandskabet ved de daglige tilsyn / fodringer
6. Smitten er sket i forbindelse med sortering og udfiskning

Kommentarer til de enkelte punkter:

Ad 1:

Dette virker ikke sandsynligt.

Huset var omhyggeligt desinficeret inden æggene blev lagt ind.

Skulle smitten alligevel være sket allerede på dette tidspunkt, ville vi forvente at have fundet smitstoffer noget tidligere i forløbet.

Specielt da fiskene allerede er sorteret (og dermed stresset) første gang d. 13/5, dvs. næsten en hel måned før bakterier påvises.

Ligeledes kunne man i ynglen, som blev overflyttet til Fiskepatologisk Laboratorium d. 8/5 ikke finde YDS-bakterier eller rødmundsyge-bakterier. Også selv om fiskene senere blev udsat for stress påvirkning.

Ad 2:

Virker heller ikke sandsynligt.

Begrundelse som i ad 1.

Desuden har det heller ikke været muligt at isolere YDS-bakterien fra de desinficerede øjenæg (hverken på eller indeni) på trods af mange prøver (se afsnit 3.2)

Ad 3:

Denne risiko blev forsøgt minimeret til et absolut minimum ved at ændre vandtilførslen. Der vil dog altid være en risiko, da det etablerede okkerfilter ikke har været afdækket.

Afdækningen er ikke sket, fordi der til et sådant filter skal være fri adgang til luften.

Ad 4:

Dette skulle være udelukket.

Mus/rotter skulle ikke være i stand til at komme ind i huset. Fugle er ikke observeret inde.

Ad 5:

Dette har via de hygiejniske tiltag været forsøgt elimineret.

Men det faktum at dambrugeren er gået ind og ud af huset flere gange om dagen sammenholdt med, at smittetrykket fra det omkringliggende dambrug i perioder har været meget stor, gør det sandsynligt, at det er på denne måde, at smitten er blevet introduceret.

Dette på trods af at dambrugeren har forsøgt at overholde alle de opstillede hygiejne regler.

Ad 6:

Dette er også forsøgt elimineret ved at have separat sorteringsudstyr.

Risikoen vil dog i denne periode altid være større end ellers, da man vil have megen trafik ud og ind af forsøgshuset. Se også ad 5.

I både Fase II og Fase III ses sygdomsfremkaldende bakterier først i yngelforsøgsanlægget, efter at sortering og udfiskning har fundet sted.

5.7.3 YDS og klinisk sygdom

På trods af at YDS-bakterien findes i slim fra én fisk d. 12/6 ses der på intet tidspunkt kliniske YDS-symptomer i anlægget.

Det lykkedes altså i Fase III at få fiskene op i en gennemsnitsstørrelse på ca. 4 g/stk. uden at se klinisk YDS.

I Fase II havde ynglen en størrelse på 1,8 g/stk. før vi så klinisk YDS.

Det er altså lykkedes i begge faser at undgå klinisk YDS-udbrud hos yngel under 1 g/stk., hvor man ofte ser den største dødelighed.

5.7.4 Vaccination mod YDS

Gennem en årrække har man flere steder i verden forsket i at udvikle en vaccine mod YDS. Dette er endnu ikke lykkedes.

Det er i dette projekt lykkedes (både i Fase II og Fase III), at holde fiskene YDS-fri indtil en størrelse, hvor fiskens immunforsvar vil kunne respondere på en vaccine. I Fase III har vi faktisk holdt fiskene YDS-fri helt op til den størrelse, hvor dybe vaccinerings mod rødmundsyge normalt foretages (4-5 g/stk.).

Dette vil kunne vise sig at være særdeles nyttigt, hvis/når der i fremtiden udvikles en effektiv YDS-vaccine.

5.7.5 YDS på det øvrige anlæg

Der har som nævnt i Fase III været store YDS problemer, såvel hos yngel i det gamle kummehus som i yngel, der kom fra forsøgshuset.

Smittetrykket har været højt og medicinsk behandling har været nødvendig.

De fleste forsøgsanlægs fisk i både Fase II og III har altså fået påvist klinisk YDS-udbrud enten i anlægget eller senere, når de er blevet sat ud på det traditionelle dambrug.

Dette tyder på, at selvom der ikke påvises klinisk YDS-infektion i et isoleret recirkuleringsanlæg, så vil de fleste hold fisk på et eller andet tidspunkt blive ramt af YDS-infektionen så længe fiskene udsættes på et traditionelt dambrug.

Skal sygdom minimeres, skal der findes en egnet vaccine.

5.7.6 YDS-fund i Fase III sat i forhold til fund i Fase II

I Fase III lykkedes det opsatte mål med at køre en hel ubrudt produktionscyklus igennem.

Resultaterne fra Fase III med hensyn til YDS-fund i forsøgshus og det øvrige dambrug afviger ikke meget fra resultaterne i Fase II.

Hovedforskellen er dog, YDS-bakterien først blev fundet på et senere tidspunkt i Fase III sammenlignet med Fase II.

Og at det i Fase III ikke kom til klinisk udbrud af YDS i forsøgshuset.

5.8 Konklusion vedrørende YDS

- YDS-bakterien er fundet i alle dambrugets yngelproduktions enheder. Der har været alvorlige kliniske udbrud udenfor forsøgshuset i maj, juni og juli. Dette har medført et højt smittetryk.
- Der blev ikke konstateret klinisk YDS-udbrud i forsøgshuset, dette på trods af at bakterien er isoleret fra én fisk d. 12/6.
- Smitteoverslæbning er sandsynligvis sket af mandskabet via de daglige tilsyn, evt. i forbindelse med sortering og udfiskning.
- Fiskene har alle haft en størrelse (gennemsnits-størrelse ca. 4 g/stk.), hvor der er håb om, at dyppe-vaccinering mod YDS vil kunne foretages.
- Ligesom i Fase II er det opfattelsen, at forsøgsanlægget med hensyn til YDS har opfyldt sit formål, om at kunne medvirke til sygdomsforebyggelse og minimering af medicinforbrug.

6. Hygiejnetiltag

6.1 Indledning

Jævnfør formålet med forsøget var det vigtigt at minimere risikoen for smitte med YDS-bakterien mellem de to forsøgsanlæg (moderfiske- og kummeanlæg). Ligeledes skulle smitterisikoen minimeres fra det omkring liggende dambrug.

6.2 Metode

Der blev anvendt de samme forebyggende foranstaltninger som i Fase II. Se rapporten vedr. Fase II, afsnit 5, side 52.

Enkelte ændringer blev dog foretaget:

- Vandtilførslen blev ændret (se afsnittet om forsøgsanlæg)
- Der blev opsat ADGANG FORBUDT skilte i forrummene.

6.3 Resultater

På trods af hygiejne-tiltagene lykkedes det heller ikke i Fase III at holde smitte fra det omkringliggende dambrug ude af forsøgsanlægget.

Der blev påvist bakterier/parasitter på følgende tidspunkter:

- 1/5 2002: Påvist Costia i yngelforsøgsanlægget
- 12/6 2002: Påvist rødmundsyge-bakterien (klinisk udbrud) i yngelforsøgsanlægget
- 12/6 2002: Påvist YDS-bakterien i yngelforsøgsanlægget

6.4 Diskussion

- På trods af de meget restriktive hygiejne foranstaltninger er det heller ikke i Fase III lykkedes at holde fiskesygdomsfremkaldende smitstoffer ude af forsøgshuset. Som nævnt i afsnit 4.7.2 er der en overvejende sandsynlighed for, at smitten er introduceret via mandskab/udstyr enten i forbindelse med de daglige tilsyn / fodringer eller i forbindelse med sortering / udfiskning.
- Som nævnt i rapporten til Fase II må det igen her fastslås, at man ved anlæggelse af et sådant anlæg skal gøre sig klart, at smitterisikoen forøges kraftig, når anlægget lægges midt i eksisterende traditionelt dambrug. Måske bør lignende yngelanlæg slet ikke anlægges direkte på eksisterende dambrug.
- I Fase II var det påfaldende, at YDS-infektionen altid først blev set efter, at der var konstateret tarmsnylter (Hexamita salmonis). Denne gang blev parasitten ikke fundet i forsøgsanlægget.

6.5 Konklusion

- Ligesom i Fase II må det konstateres, at der på trods af omfattende smitteforebyggende tiltag i flere tilfælde er påvist sygdomsfremkaldende bakterier og parasitter i og på de i forsøgsanlægget isolerede fisk.
- Lignende isolerede anlæg bør måske ikke anlægges midt på eksisterende dambrug.

7. Konklusion

- Det er lykkedes at gennemføre en hel og ubrudt forsøgs cyklus fra indføring af moderfisk i isoleret forsøgsanlæg til udflytning i en størrelse, hvor vaccinerings er mulig.
- Moderfiskene kunne ikke rense sig for YDS-bakterien under de opstillede forsøgsbetingelser; et lukket system med recirkulering og UV-behandling af borevand.
- YDS-bakterien blev påvist i ægvæsken fra moderfiskene.
- YDS-bakterien kunne påvises på overfladen af æg (både før og umiddelbart efter befrugtning), mens den ikke på noget tidspunkt kunne påvises indeni æg.
- YDS-bakterien blev ikke påvist på hverken øjenæg eller blommesæksyngel.
- Desinfektion med 1 % Actomar K30 har en reducerende effekt på bakteriefloraen på overfladen af æg, dog ikke 100 %, og det var muligt at genfinde YDS-bakterien efter en sådan desinfektion.
- Der blev ikke konstateret klinisk YDS-udbrud hos yngel i forsøgsanlægget.
- Fiskene har alle haft en størrelse (gennemsnits-størrelse ca. 4 g/stk.), hvor der er håb om, at dyppe-vaccinerings mod YDS vil kunne foretages.
- YDS-bakterien er fundet i alle dambrugets yngelproduktions enheder. Der har været alvorlige kliniske udbrud udenfor forsøgs huset i maj, juni og juli. Dette har medført et højt smittetryk.
- YDS-bakterien blev først påvist i yngel forsøgsanlægget efter sortering.
- YDS-bakterien kunne ikke genfindes blandt stresset yngel, der ikke havde været udsat for sortering.
- YDS-bakterier fra moderfisk kunne klassificeres til både at tilhøre virulente samt ikke virulente ribotyper, og bakterier fra enten det ydre eller indre af fiskene tilhørte ikke en bestemt af disse grupper.
- YDS-bakterien blev i yngelforsøgsanlægget påvist en enkelt gang i slim hos én fisk. Denne YDS-bakterie havde en ikke før set ribotype, hvis virulens er ukendt. Ribotypen var altså ikke set hos moderfiskene eller på overfladen af æg.
- YDS-bakterier fra sygdomsudbrud hos yngel (Fase II) kunne overvejende klassificeres til at tilhøre ribotype A samt serotype Fd eller Th samt kunne nedbryde elastin (virulente bakterier).
- For at være i stand til at klarlægge smitteveje i en produktion er det nødvendigt, at både fæno- og genotypiske metoder anvendes til karakterisering af bakterierne, som det er foretaget i dette projekt.
- Smitteoverslæbning er sket på trods af omfattende smitteforebyggende tiltag.
- Smitteoverslæbning er sandsynligvis sket af mandskabet via de daglige tilsyn, evt. i forbindelse med sortering og udfiskning.
- Lignende isolerede anlæg bør måske ikke anlægges midt på eksisterende dambrug.
- Opdræt af yngel i forsøgsanlægget har resulteret i en lav foderkvotient og en lav dødelighed.
- Forsøgsanlægget har med hensyn til YDS opfyldt sit formål om at kunne medvirke til sygdomsforebyggelse og minimering af medicinforbrug.

8. Perspektivering og forslag til videnopbygning

Som nævnt i Fase II rapporten er YDS er en sygdom, der har stor betydning for det danske dambrugserhverv.

Sygdommen kan medføre betydelig dødelighed hos ørredyngel og bevirker, at der i Danmark anvendes en del antibiotika til opdræt af ørredyngel.

Hidtil har vores viden været begrænset især om bakteriens smitteveje og om hvornår/hvorfor bakterien giver anledning til klinisk YDS-udbrud ude på dambrugene.

Fase II og III har været projekter, som har forsøgt at belyse en del af de faktorer, som har betydning.

Vi har i projekterne vist, at fremtidig yngelopdræt i isolerede recirkuleringsanlæg måske kan blive en særdeles vigtig foranstaltning set i sammenhæng med YDS-forebyggelsen og begrænsning af dødelighed hos ørredyngel.

Isolationen af moderfiskene har vist, at fiskene ikke har været i stand til at rense sig for YDS-bakterien. Dette giver anledning til overvejelser om, hvorvidt ørreder overhovedet er i stand til at skille sig af med bakterien, hvis de først én gang i deres liv har været inficeret.

Denne observation kan også vise sig værende af betydelig vigtighed i fremtidig YDS forebyggelse.

YDS-bakterier er i projektet blevet karakteriseret og grupperet efter ribotype, serotype og elastinnedbrydning. Dette har bidraget til en øget viden om hvilke bakterietyper, som findes på danske dambrug og hvilke typer, som ses ved sygdomsudbrud. Samtidigt har karakteriseringen vist sig som værende et vigtigt arbejdsredskab i forbindelse med fastlæggelsen af smitteveje.

Forsøgsanlægget har vist særdeles interessante resultater. Ikke kun set i relation til YDS-bakterien, men også i forhold til sygdom generelt. Kun ganske få sygdomsudbrud har der været konstateret og i alle tilfælde har dødeligheden været begrænset. Behandling har været let og effektiv.

Bemærkelsesværdigt er det ligeledes, at der i forsøgsanlægget kun har været anvendt hjælpestoffet fodersalt. Dette er særdeles interessant, når man sammenligner med forbruget i normale kummehuse.

Sidst men ikke mindst skal opmærksomheden henledes på de opnåede produktionsresultater med lav foderkvotient og lav dødelighed.

Det er Styregruppens håb, at man i fremtiden i dambrugserhvervet vil etablere lignende isolerede recirkuleringsanlæg med samme smitteforebyggende foranstaltninger. Dette vil kunne belyse om de opnåede resultater også kan genfindes på andre anlæg passet af andet personale.

Det er Styregruppens anbefaling, at der fortsat bliver fokuseret på YDS-problemet, og at der fra det offentliges side også fremover afsættes midler hertil.

Arbejdet i Fase II og III har medført en række spørgsmål, som i fremtiden bør belyses. Herunder er der opregnet forslag til flere YDS undersøgelser og forsøg (de fleste er også nævnt i Fase II rapporten):

- Forsøg der kan belyse gælleinfektions og parasitangrebs betydning for YDS. Har svækkelse af immunsystemet i forbindelse hermed betydning for YDS-bakteriens mulighed for at invadere fiskene?

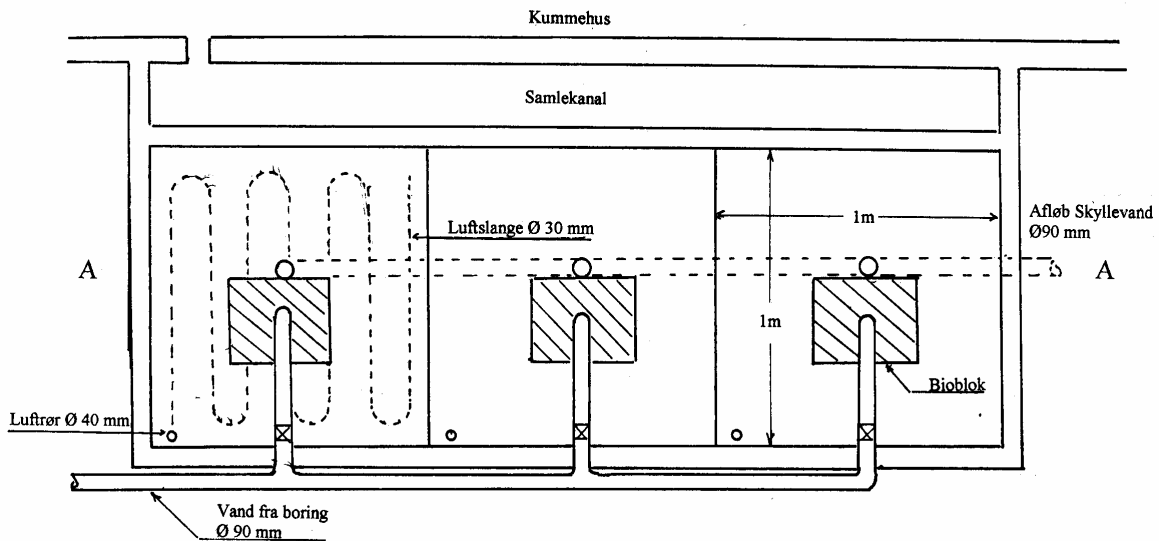
- Tilsvarende forsøg der kan belyse andre stress situationers betydning for udbrud af YDS. Her tænkes f.eks. på følgerne af håndtering og sortering af fiskene eller virkningen af svingende vandtemperaturer.
- Fiskestørrelsens betydning for dødeligheden ved YDS. Skal man lade være at sortere mens fiskene er små?
- Bestandstæthedens betydning for dødeligheden ved YDS.
- Temperaturen indflydelse på YDS-bakterien og dødeligheden ved udbrud af YDS.
- Er der forskel i smittetryk fra sæsonens 1. yngelhold til det 2. og 3. yngelhold, der køres igennem et traditionelt system? Det er en gammel erfaring fra mange dambrug, at det 1. hold kan køres igennem uden udbrud af YDS eller med meget lidt tab, mens dødeligheden stiger i de senere hold. Hvad er årsagen?
- Fodersammensætningens betydning for dødeligheden ved YDS. Dambrugere rapporterer om stigende problemer med moderne yngelfoder og de olietyper der anvendes til foder i dag.
- Kontrollerede forsøg til belysning af den forebyggende virkning af immunstimulanser i foderet.
- Forsøg til belysning af salts indvirkning på YDS-bakterier. Kan salt bruges til ægdesinfektion og til desinfektion af yngel? Kan regelmæssige saltbade af æg, yngel eller moderfisk være et led i YDS bekæmpelse?
- Forsøg til nærmere belysning af forskellige ægdesinfektionsmidlers virkning på YDS-bakterier og deres anvendelse i det forebyggende arbejde.
- Kan det rent eksperimentelt lade sig gøre at etablere en smittefri stambesætning (svarende til SPF-systemet hos grise)?
- Undersøge om det er muligt at lave YDS-fri opdræt i et recirkuleret anlæg, der er fjernet helt fra et traditionelt dambrug. På denne måde adskilles generationer. Dette kunne være interessant set i lyset af tendensen i landbruget, hvor udviklingen går mod multi-site produktion. Denne produktionsform har specielt i svine- og fjerkræbranchen vist sig at være et effektivt våben i bekæmpelsen af visse smitsomme sygdomme.
- Fase II og III har været et forsøg på at opdrætte yngel, der kan holdes fri for YDS-bakterier indtil de når en størrelse, hvor immunsystemet er bedre udviklet og de kan vaccineres. I forlængelse heraf vil det være oplagt at starte et forskningsprojekt til udvikling af en YDS-vaccine. Et sådant arbejde er påbegyndt i udlandet.
- Yderligere karakterisering af YDS-bakterier på danske dambrug ved hjælp af ribotype, serotype og elastinnedbrydning. Dette vil kunne være med til at klarlægge blandt andet, hvilke stammer som findes på forskellige dambrug, hvilke stammer som er sygdomsfremkaldende og smitteveje for bakterien.
- Undersøge YDS-bakteriens evne til at overleve på udstyr, tøj og hænder. Ligeledes hvilke desinfektionsmidler, som er effektive f.eks. i forbindelse med hånddesinfektion. Hvilken rolle har temperaturen og tiden i forbindelse med desinfektion?
- Undersøge om ørreden overhovedet er i stand til at skille sig af med YDS-bakterien, hvis fisken først én gang i livet er blevet smittet. Har denne kroniske infektionstilstand nogen betydning for ørreden?
- Undersøge fiskens immunologiske svar under YDS infektion. Hvorfor kan fisken ikke rense sig fuldstændigt for bakterien?

9. Referencer

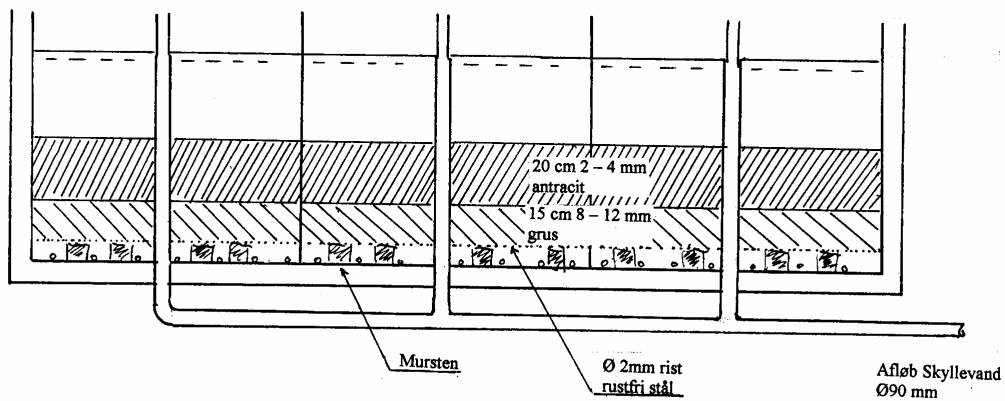
- Brown LL, Cox WT & Levine RP (1997) Evidence that the causal agent of bacterial coldwater disease *Flavobacterium psychrophilum* is transmitted within salmonid eggs. *Diseases of Aquatic Organisms* **29**, 213-218
- Dansk Dambrugerforening (2002). *Helsenyt* **1**, 8
- Dalsgaard I & Madsen L (2000) Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at Danish freshwater farms. *Journal of Fish Diseases* **23**, 199-209
- Ekman E, Börjeson H & Johansson N (1999) *Flavobacterium psychrophilum* in Baltic salmon *Salmo salar* brood fish and their offspring. *Diseases of Aquatic Organisms* **37**, 159-163
- Fischer K, Joensen O, Madsen L & Dalsgaard I (1999) Projekt YDS. Projekt for forebyggelse af YDS (yngelsyndrom) og begrænsning af medicinforbrug i æg- og yngelopdræt i danske dambrug. Fase I. Dansk Dambrugerforening. 65 ss + bilag
- Jensen PA, Michelsen K, Henriksen NH, Madsen L & Dalsgaard I (2001) Forebyggelse af YDS (yngeldødelighedssyndrom) og begrænsning af medicinforbrug i æg- og yngelopdræt i danske dambrug. Projektfase II: Slutrapport, september 2001. Dansk Dambrugerforening. 60 ss + bilag
- Kumagai A, Yamaoka S, Takahashi K, Fukada H. & Wakabayashi H (2000) Waterborne transmission of *Flavobacterium psychrophilum* in Coho salmon eggs. *Fish Pathology* **35**, 25-28
- Madsen L & Dalsgaard I (2000) Comparative studies of Danish *Flavobacterium psychrophilum* isolates concerning ribotypes, plasmid profiles, serotypes and virulence. *Journal of Fish Diseases* **23**, 211-218
- Madsen L, Wiklund T & Dalsgaard I (1999) Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatcheries: studies on broodstock, eggs, fry and environment. In *Abstracts book of the EAFP Ninth International Conference on Diseases of Fish and Shellfish*, p. P-080. Rhodes, Greece, 19-24 September
- Rangdale RE, Richards RE & Alderman DJ (1996) Isolation of *Cytophaga psychrophila*, causal agent of Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS) from reproductive fluids and egg surfaces of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* **16**, 63-67

Bilag 1: Tegning af anlægs ændringer

Plan Okkerfilter



Snit A - A okkerfilter



Bilag 2: Bakteriologiske undersøgelser

→16/11 2001 prøveudtagning

FORSØGSANLÆG MED MODERFISK

Moderfisk (5 hanner (3 årsfisk) 48-58 cm samt 5 hunner (4 årsfisk) 59-70 cm).

Fp (=YDS-bakterien) påvist hos 3 hanner (fra hjerne (1 han); fra slim (1 han); fra mælk (1 han)).

Fp påvist hos 2 hunner (fra slim, højre øje (blind) og sår på overkæbe (1 hun); fra gæller (1 hun)).

Vandprøver:

Før UV-lys:

kimtal $8,0 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Efter UV-lys:

kimtal $6,1 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

→24/1 2002 prøveudtagning

FORSØGSANLÆG MED MODERFISK

Moderfisk (5 hanner (3 årsfisk) 52-60 cm samt 5 hunner (4 årsfisk) 75-81 cm).

Fp (=YDS-bakterien) ikke påvist hos de 5 hanner:

Fp påvist hos 2 hunner:

fra slim (hun nr. 3); fra æg i bughulen, milt og hudforandring (hun nr. 5).

Vandprøver:

Før UV-lys:

kimtal $1,7 \times 10^3$ /ml, *Fp* påvist.

Efter UV-lys:

kimtal $3,8 \times 10^2$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Undersøgelse af æg:

Ubefrugtede æg: (æg opsamlet i forbindelse med strygningen af de 5 hunner).

Udesinficerede æg - *Fp* påvist fra æg (hun nr. 2).

Desinficerede æg - *Fp* ikke påvist.

Opformering af knuste æg (13 prøver á 5 æg) - *Fp* ikke påvist.

Befrugtede æg: (blanding af alle strøgne hunner)

3 stikprøver af samlet prøve: *Fp* påvist fra alle stikprøver.
Udesinficerede æg - *Fp* ikke påvist (18 prøver á 5 æg).
Desinficerede æg - *Fp* påvist fra 1 prøve (ud af 24 á 5 æg).
Opformering af knuste æg (13 prøver á 5 æg) - *Fp* ikke påvist.

***Fp*-inficeringsforsøg under befrugtningen:**

3 stikprøver af vandhærdede æg: *Fp* påvist fra alle stikprøver.
Udesinficerede æg - *Fp* ikke påvist (kan være hæmmet af andre bakterier!).
Desinficerede æg - *Fp* påvist fra 1 prøve (ud af 24 á 5 æg).
Opformering af knuste æg (8 prøver á 5 æg) *Fp* ikke påvist.

→19/2 2002 prøveudtagning

YNGELANLÆG

Øjenæg desinficeret og overflyttet til yngelanlæg før undersøgelsen:

3 stikprøver af samlet prøve: *Fp* ikke påvist.
Øjenæg opformeret i 24 rør á 5 æg (hele) - *Fp* ikke påvist.
Ingen æg knust.

Øjenæg desinficeret før laboratorieundersøgelsen og opformeret i 24 rør á 5 æg (hele)
- *Fp* ikke påvist.
Ingen æg knust.

MODERFISKANLÆG

Ingen moderfisk undersøgt*.

Øjenæg i klækkerør (endnu ikke desinficeret):

3 stikprøver af samlet prøve: *Fp* ikke påvist.
Udesinficerede æg - *Fp* ikke påvist (18 prøver á 5 æg).
Desinficerede æg - *Fp* ikke påvist (32 rør á 5 æg).
Ingen æg knust.

Vandprøver fra klækkerør:

kimtal $1,4 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.
kimtal $2,0 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

FORSØG

***Moderfisk (3 hanner og 3 hunner) strøget, æg henholdsvis mælk samlet i en prøve.**

3 stikprøver af samlet æg-prøve: *Fp* ikke påvist.
3 stikprøver af samlet mælk-prøve: *Fp* ikke påvist.

Undersøgelse af æg:

Befrugtede og vandhærdede æg: (blanding af alle strøgne moderfisk)
Udesinficerede æg - *Fp* ikke påvist (18 prøver** á 5 æg).
Desinficerede æg - *Fp* ikke påvist (24 rør á 5 æg).
Opformering af knuste æg (1 prøve á 5 æg) - *Fp* ikke påvist.

** PCR direkte på plader med gule kolonier, der ikke kunne re dyrkes, 3 prøver undersøgt, negative.

***Fp*-inficeringsforsøg under befrugtningen:**

3 stikprøver af befrugtede vandhædede æg: *Fp* påvist fra alle stikprøver.

Udesinficerede æg - *Fp* ikke påvist (kan være hæmmet af andre bakterier!) (18 rør á 5 æg) (14 rør +PCR).

Desinficerede æg - *Fp* påvist fra 1 prøve (ud af 24 á 5 æg).

Opformering af knuste æg (8 prøver á 5 æg) - *Fp* ikke påvist (PCR på 7 prøver, *Fp* ikke påvist).

→ 7/3 2002 modtaget pr. post blommesæk yngel (levende)

BLOMMESÆKYNGEL FRA YNGELANLÆG

Ved undersøgelse af hudslim, nyre, hjerne og blommesæk på 46 yngel blev *Fp* ikke påvist.

Vandprøver: 2 prøver undersøgt af ”yngelvand”

kimtal $3,4 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

kimtal $4,7 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

→ 20/3 2002 prøveudtagning

FORSØGSANLÆG MED MODERFISK

Moderfisk (5 hanner 52-62 cm samt 5 hunner 61-70 cm).

Fp (=YDS-bakterien) påvist hos 2 hanner:

Fra gæller (han nr. 2), fra slim, gæller, nyre, lever og sår (han nr. 5).

Fp påvist hos 1 hun:

Fra bughule (hun nr. 5).

Vandprøver:

Før UV-lys:

kimtal $7,5 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Efter UV-lys:

kimtal $1,0 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

YNGELFORSØGSANLÆG

10 yngel undersøgt (længde 2,7 – 3,0 cm):

Fp ikke påvist.

Vandprøver:

Før UV-lys:

kimtal $1,2 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Efter UV-lys:

kimtal $1,4 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

→3/5 2002 prøveudtagning

FORSØGSANLÆG MED MODERFISK

Moderfisk (5 hanner 60-68 cm samt 5 hunner 58-73 cm).

Fp (=YDS-bakterien) påvist hos 2 hanner:

Fra sår (han nr. 1), fra mælk (han nr. 4).

Fp påvist hos 2 hunner:

Fra lever (hun nr. 1), fra bughulen (hun nr. 5).

Yersinia ruckeri påvist hos 1 hun:

Fra slim, gæller, milt, tarm, hjerte (hun nr. 1).

Vandprøver:

Før UV-lys:

kimtal $1,4 \times 10^5$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Efter UV-lys:

kimtal $6,7 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

YNGELFORSØGSANLÆG

10 yngel undersøgt (længde 3,2 – 5,1 cm):

Fp ikke påvist.

Vandprøver:

Før UV-lys:

kimtal $1,1 \times 10^5$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Efter UV-lys:

kimtal $1,1 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

→12/6 2002 prøveudtagning

YNGELFORSØGSANLÆG

25 yngel undersøgt (længde 6,4 – 9,0 cm, en enkelt fisk 4,2 cm):

NB. Yngel sorteret 16/5 samt 27/5

Fp (=YDS-bakterien) påvist hos 1 fisk:

Fra slim (nr. 14)

Yersinia ruckeri (rødmundsyge-bakterien) påvist fra samme fisk i gæller, bughule, tarm, milt, lever, nyre og hjerne

Yersinia ruckeri påvist hos i alt 20 ud af 25 fisk, fra alle organer

Vandprøver:

Før UV-lys:

kimtal $1,1 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist, rødmundsyge-bakterien påvist.

Efter UV-lys:

kimtal $1,1 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

AKVARIER PÅ FISKEPATOLOGISK LABORATORIUM

8/5 2002

Ca. 1 kg yngel overflyttet til Fiskepatologisk Laboratorium 8/5 2002, til 2 beluftede akvarier med recirkuleret vandforsyning (temp. 12-13°C).

→ 7/6 2002 prøveudtagning

10 yngel undersøgt, gns.vægt 1,9 g

Ingen patogener påvist

Stressforsøg

“Latent carrier test”

23/7 2002

20 fisk sprøjtet ip med 0,1 ml/fisk Dexadreson®Vet. (dexamethason 2 mg/ml), anbragt i netbur 30 cm x 22 cm x 23 cm = 15 l vandvolumen.

Udtaget prøver efter 1, 2 og 3 uger.

Ingen patogener påvist i fiskene

”Crowding test”

30/7 2002

Tæthed øget til 0,2 kg fisk/l i 8 dg.

Derpå foretaget bakteriologisk undersøgelse på 30 fisk.

Ingen patogener påvist.

Bilag 3: Andre kliniske observationer.

1. Indledning

Lige som i Fase II blev der også i Fase III registreret alt, hvad der forgik i forsøgsanlægget og til dels på det omkringliggende dambrug. De fleste observationer / registreringer skete med henblik på at kunne dokumentere alt om YDS-bakterien. Gennem disse observationer og registreringer er der også indsamlet oplysninger, som ikke direkte har relation til YDS-bakterien. Dette afsnit beskriver nogle af disse kliniske observationer og registreringer.

2. Andre observationer under projektet:

2.1 Befrugtningsresultat.

I Fase II blev befrugtningsresultatet meget dårligt (2 %). Som nævnt i rapporten til Fase II er grunden til dette aldrig fundet. Årsagen skal næppe findes i procedurefejl ved strygning og befrugtning, da dette blev udført af professionelle folk.

Måske skyldtes det, at der anvendtes xx-hanner hvor sæden måske ikke var fuldt modnet på strygningstidspunktet, eller at der kunstigt blev manipuleret med dagslængden via lysstyring.

I Fase III blev der kun anvendt normale hanner, og der blev ingen lysstyring foretaget.

Befrugtningsresultatet blev i Fase III ca. 92 %, hvilket må betegnes som værende tilfredsstillende. Heraf kan konkluderes, at det ikke er sandsynligt, at det skulle være anlæggets konstruktion, som skulle have været skyld i det under Fase II dårlige befrugtningsresultatet.

2.2 Skimmelsvamp på moderfisk.

Skimmelsvamp er ofte et problem hos afstrøgne moderfisk.

Bemærkelsesværdig er det, at vi i forsøgsanlæggets afstrøgne moderfisk ikke på noget tidspunkt bemærkede så meget som antydningen af skimmelsvamp.

Moderfiskene har i hele forsøgsperioden været pæne at se på, og der er ikke set dødsfald ud over dem, som er hoppet ud af bassinet.

2.3 Klækning i byvand.

I Fase III blev de befrugtede æg lagt i søjleinkubatorer, som blev forsynet med vand fra det kommunale vandværk (byvand). Dette blev gjort for at eliminere evt. smitte. Byvandet blev beluftet inden det blev ført til æggene.

Byvandets temperatur var forventet til at ligge konstant ved 7-8 ° C.

Gennem målinger og beregninger viste det sig dog, at byvandets temperatur var højere end forventet, og at temperaturen var svingende.

Den højere vandtemperatur (8 –10 ° C) bevirkede, at æggene udviklede sig hurtigere end først antaget. Temperatursvingningerne gjorde at det blev svært at forudsige præcist, hvornår klækningen ville starte.

2.4 Saltbadning af øjenæg under klækning

Klækningen af øjenæggene blev også i Fase III foretaget i det recirkuleret vandsystem i yngel anlægget.

Øjenæggene var desinficeret regelret i Actomar K30 inden de blev lagt ind i huset. På trods af dette blev der (ligesom i Fase II) konstateret massiv skimmelsvampeangreb i øjenæggene under klækningen.

Ligesom i Fase II blev øjenæggene badet i saltvand. Der blev lavet en saltopløsning i en separat kumme. Saltkoncentrationen var ca. 1 %. Der blev altså anvendt 10 kg salt pr. m³.

Øjenæggene (som var i klækning) blev badet ved at flytte bakkerne over i saltopløsningen i ca. 20 minutter. Proceduren blev gentaget tre dage i træk.

Dambrugeren har været særdeles tilfreds med behandlingsmetoden.

2.5 Costia og saltbehandling

Costia parasitten blev i Fase III første gang konstateret i forsøgsanlægget d. 1/5. Parasitten blev kun fundet på magre undermålsfisk og ikke på ”normalt” yngel. Dette fund blev gentaget d. 17/5 og senere d. 5/6 (denne dag blev parasitten dog også fundet på en ”normal” fisk).

Det bemærkelsesværdige er at parasitten ikke gav anledning til klinisk sygdom. Under traditionelle forhold ville man forvente sygdomsudbrud og deraf følgende dødsfald.

Måske kan det manglende sygdomsudbrud forklares med, at ynglen har gået under optimale forhold, hvor vandparametrene har været særdeles konstant.

Måske er dette udtryk for at Costia angreb kun ses på immunologiske svækkede fisk (f.eks. pga. stress).

Behandling blev ikke foretaget før d. 7/6, hvor der 2 dage forinden var konstateret gælleirritation.

Behandlingen var at tilsætte 0,3 - 0,5 % fodersalt (NaCl) i 2 dage.

Fiskene blev kontrolleret igen d. 10/6, og her kunne ikke findes Costia på nogen fisk.

2.6 Brug af hjælpestoffer i forsøgsanlægget.

Under hele yngelperioden både i Fase II og III blev der kun anvendt et hjælpestof; fodersalt.

Dette skal ses i forhold til traditionelle kummehuse, hvor der f.eks. anvendes blåsten, formalin, kloramin og ilttingsprodukter i betydelige mængder. Anvendelsen af disse vanddesinficerende midler virker ofte i sig selv stressende på fiskene.

Det er altså her værd at bemærke, at vi tilsyneladende har fundet et produktions-system, som ikke kræver brug af andre hjælpestoffer end fodersalt.