

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

Per Aarup Jensen, Niels Henrik Henriksen, Kaare Michelsen, *Dansk Dambrugerforening*,

Lone Madsen, Inger Dalsgaard, *Danmarks Fiskeriundersøgelser, Fiskepatologisk Laboratorium*.

Rapporten består af 2 slutrapporter fra henholdsvis projektfase II, 2001 og projektfase III, 2002 af projektet ”Forebyggelse af YDS (yngeldødelighedssyndrom) og begrænsning af medicinforbrug i æg- og yngelopdræt i danske dambrug”.

Slutrapport fra projektfase III er anbragt først, da den indeholder de endelige konklusioner fra projektet. Vi har forsøgt at undgå for mange gentagelser i de to rapporter, så områder der allerede er behandlet i afreporteringen af projektfase II, ikke er gentaget i projektfase III.

## Indholdsfortegnelse

|  |                |
|--|----------------|
| <b>Projektfase III: Slutrapport, oktober 2002.....</b>                       | <b>Side 4</b>  |
| <b>Forord .....</b>  | <b>Side 5</b>  |
| <b>Sammenfatning.....</b>  | <b>Side 7</b>  |
| <b>1) Indledning.....</b>  | <b>Side 11</b> |
| <b>2) Forsøgsanlægget.....</b>   | <b>Side 13</b> |
| <b>3) Bakteriologiske undersøgelser .....</b>                                | <b>Side 17</b> |
| <b>4) Karakterisering af YDS-bakterier for at klarlægge smitteveje .....</b> | <b>Side 25</b> |
| <b>5) Kliniske observationer og sygdomsudbrud.....</b>                       | <b>Side 29</b> |
| <b>6) Hygiejnetiltag .....</b>   | <b>Side 34</b> |
| <b>7) Konklusion.....</b>  | <b>Side 36</b> |
| <b>8) Perspektivering og forslag til videnopbygning.....</b>                 | <b>Side 37</b> |
| <b>9) Referencer .....</b>   | <b>Side 39</b> |
| <b>Bilag 1: Tegning af anlægs ændringer .....</b>                            | <b>Side 40</b> |
| <b>Bilag 2: Bakteriologiske undersøgelser .....</b>                          | <b>Side 41</b> |
| <b>Bilag 3: Andre kliniske observationer.....</b>                            | <b>Side 46</b> |

## Indholdsfortegnelse fortsat

|   |                 |
|---|-----------------|
| <b>Projektfase II: Slutrapport, september 2001.....</b>                 | <b>Side 48</b>  |
| <b>Forord .....</b>   | <b>Side 49</b>  |
| <b>Sammenfatning.....</b>   | <b>Side 50</b>  |
| <b>1) Indledning.....</b>   | <b>Side 55</b>  |
| <b>2) Forsøgsanlægget.....</b>  | <b>Side 63</b>  |
| <b>3) Bakteriologiske undersøgelser .....</b>                           | <b>Side 76</b>  |
| <b>4) Kliniske observationer og sygdomsudbrud i yngel.....</b>          | <b>Side 90</b>  |
| <b>5) Hygiejnetiltag .....</b>  | <b>Side 98</b>  |
| <b>6) Konklusion.....</b>   | <b>Side 102</b> |
| <b>7) Perspektivering og forslag til videnopbygning.....</b>            | <b>Side 103</b> |
| <b>8) Referencer .....</b>  | <b>Side 105</b> |
| <b>Bilag 1: A og B, konstruktionstegninger af forsøgsanlægget .....</b> | <b>Side 107</b> |
| <b>Bilag 2: Bakteriologiske undersøgelser på dambruget.....</b>         | <b>Side 109</b> |
| <b>Bilag 3: Sygdomsforløb og behandling.....</b>                        | <b>Side 118</b> |

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*.

## 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 vaccinerings 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 forsøgscyklus, 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 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).

## 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 Forsøgslokaliten, forsøgsanlæg og drift.

Forsøgslokaliten 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, undtaget 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 m<sup>2</sup> 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   |
| 30.06.   | Udfisket                          | 640 kg á 180 stk. per kg. | 115.000 stk. yngel  |
| 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 |  |
| Skretting (Trouvit) Ålefoder                           | 1,3 mm | 425 kg |  |
| 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    | <b>Påvist</b><br>(5 af 10)*<br><br>(hjerne, slim, sæd, øje, sår, gæller) | <b>Påvist</b><br>(2 af 10)<br><br>(æg i bughule, milt, hudforandring) | <b>Påvist</b><br>(3 af 10)<br><br>(gæller, slim, nyre, lever, sår, bughule) | <b>Påvist</b><br>(4 af 10)<br><br>(sår, sæd, lever, bughule) |
| Vandprøver fra forsøgsanlæg | Ikke påvist  | <b>Påvist</b>   | 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<br>Direkte<br>udsæd                  | Udenpå æg<br>Ingen desinfektion                 | Udenpå æg<br>Desinfektion                       | Indeni æg                                    |
|----------------------------|--|---|---|--|
| Ubefrugtede æg             | Ikke påvist<br>(0 af 5)*<br><br>(0 æg af 50)   | <b>Påvist</b><br>(1 af 30)<br><br>(5 æg af 150) | Ikke påvist<br>(0 af 40)<br><br>(0 æg af 200)   | Ikke påvist<br>(0 af 13)<br><br>(0 æg af 65) |
| Nybefrugtede æg            | <b>Påvist</b><br>(3 af 3)<br><br>(30 æg af 30) | Ikke påvist<br>(0 af 18)<br><br>(0 æg af 90)    | <b>Påvist</b><br>(1 af 24)<br><br>(5 æg af 120) | Ikke påvist<br>(0 af 13)<br><br>(0 af 65)    |
| Øjenæg<br>(moderfiskanlæg) | Ikke påvist<br>(0 af 3)<br><br>(0 æg af 30)    | Ikke påvist<br>(0 af 18)<br><br>(0 æg af 90)    | Ikke påvist<br>(0 af 32)<br><br>(0 æg af 160)   | Ikke foretaget                               |
| Øjenæg<br>(yngelanlæg)     | Ikke påvist<br>(0 af 3)<br><br>(0 æg af 30)    | Ikke påvist<br>(0 af 24)<br><br>(0 æg af 120)   | Ikke påvist<br>(0 af 24)<br><br>(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<br>(0 af 46)* | Ikke påvist<br>(0 af 10) | Ikke påvist<br>(0 af 10) | <b>Påvist</b><br>(1 af 25)**<br>(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 strygning 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**

#### Kimtall 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.

#### Kimtall 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<sup>T</sup>, hvor Fd og Th er påvist i forbindelse med sygdom, mens Fp<sup>T</sup> 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<sup>T</sup>.

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 |
|-------------------------------|----------|---------|-----------------------|-----------------|
| <b>Moderfiskanlæg</b>         |          |         |                       |                 |
| Moderfisk                     | A        | +       | Fp <sup>T</sup>       | 4               |
|                               | M        | -       |                       | 9               |
|                               | B        | -       | Fd el. Fd/Th          | 1               |
|                               | V        | +       |                       | 3               |
|                               | O        | +       |                       | 1               |
|                               | X        | +       | Th<br>Fp <sup>T</sup> | 2               |
|                               | G        |         |                       | 3               |
|                               | 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               |
| <b>Yngelanlæg</b>             |          |         |                       |                 |
| 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. blommesæk yngel  
08.03.02: Blommesæk yngel 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, usorteret) 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 stryging 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 fiskesygdhedsfremkaldende 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 forsøgscyklus 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 forsøgshuset 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

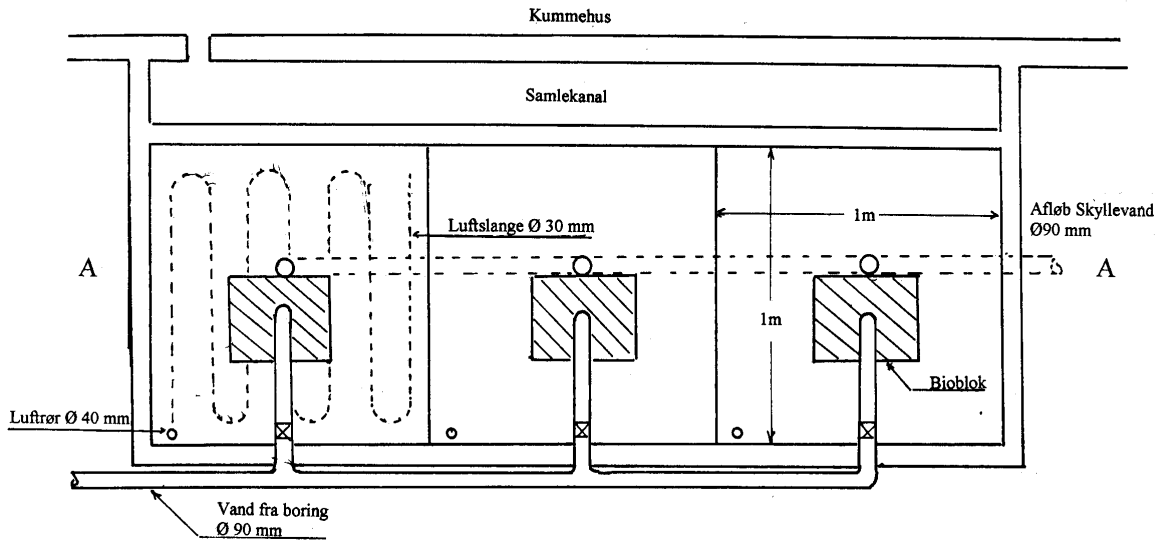
Madsen L & Dalsgaard I (2000) Comparative studies of Danish *Flavobacterium psychrophilum* isolates concerning ribotypes, plasmid profiles, serotypes and virulence. *Journal of Fish Diseases* **23**, 211-218

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

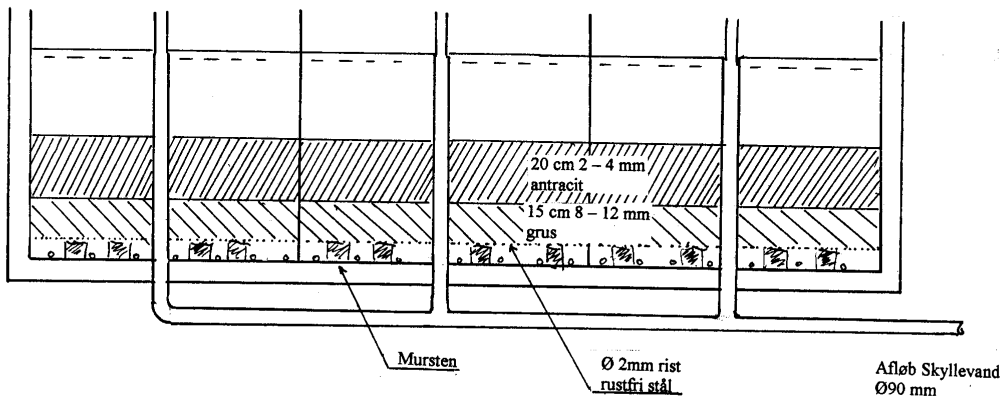
Rangdale RE, Richards RE & Alderman DJ (1996) Isolation of *Cytophaga psychrophila*, causal agent of Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS) from reproductive fluids and egg surfaces of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* **16**, 63-67

# 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 vandhærdede 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. m<sup>3</sup>.

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.

Dansk Dambrugerforening.

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

**Projektfase II : Slutrapport, september 2001.**

Udarbejdet af

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



## Forord

Fase I af YDS-projektet var en studie- og undersøgelsesfase med henblik på at få øget kendskabet til forekomst og smittespredning af YDS-bakterien, *Flavobacterium psychrophilum*, i dambrug.

Efter afrapportering i november 1999 til Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri var der dog endnu ikke skabt fuld klarhed over smittevejene for YDS-bakterien og det var derfor risikabelt straks at gå videre til fuldskalaforsøg i kommerciel størrelse, som det oprindeligt var forventet i oplægget til YDS-projektet, for at afprøve idéerne om at kunne afbryde smittekæden. Ansøgningen til fase II lagde derfor i stedet op til fortsatte undersøgelser af YDS-bakteriens forekomst og smitteveje på et udvalgt dambrug og foreslog desuden opførelse af et mindre forsøgsanlæg på dambruget, til afprøvning i pilotskala af recirkuleringsteknikkens betydning for YDS-status.

Ansøgningen blev imødekommet, da Strukturdirektoratet den 16.12.1999 meddelte tilsagn om tilskud fra henholdsvis EU-kommisionen og den danske stat til fuld finansiering af det foreslåede projekt. Projektperioden for fase II startede således 1. januar 2000 og sluttede i juni 2001.

Projektets deltagere i fase II har været :

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

Der blev nedsat en styregruppe med repræsentanter fra såvel projektdeltagerne som erhvervet. Styregruppen bestod af dambruger Aage Christophersen, der har fungeret som gruppens formand, samt dambruger Ole Spicker, dambruger Preben Pedersen (OD), dyrlæge Henrik Korsholm (FSA), dyrlæge Inger Dalsgaard (FL), direktør Brian Thomsen (DDF), konsulent Kaare Michelsen (DDF) og helsekonsulent Per Aarup Jensen (DDF). Styregruppen er siden suppleret med dyrlæge Lone Madsen (FL) og dyrlæge Niels Henrik Henriksen (DDF).

Kaare Michelsen var ansvarlig for projektering, tilsyn med bygning og opstart af forsøgsanlægget i de første måneder af fase II, hvorefter Per Aarup Jensen overtog hvervet som projektets interne tovholder. OD 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. FL har været ansvarlig for indsamlingen og analyse af bakteriologiske prøver fra moderfisk, æg, yngel og opdrætsmiljøet samt for formidling af de bakteriologiske data. FSA har bidraget med generel rådgivning og vejledning samt inspektion af forsøgsanlæg i forbindelse med rengøring og desinfektion.

## Sammenfatning

### 4. Anlæg, formål, forsøg og metoder

YDS-projektets fase II forløb fra 01.01.2000 til 31.07. 2001. Der blev indledningsvis på et udvalgt dambrug opført et recirkuleret forsøgsanlæg med separate afdelinger for henholdsvis moderfisk og yngelopdræt. Huset stod færdigt d. 15.04. 2000, men monteringen af de tekniske installationer blev forsinket, så forsøgsstart måtte udskydes 1 måned og forsøgsplanerne justeres.

Recirkuleringsteknik og produktionsoptimering var ikke i sig selv noget mål for dette projekt, men der blev ved opførelsen af forsøgsanlægget lagt vægt på, at holde anlægs- og driftsomkostninger nede samtidigt med prioritering af et sundt opdrætsmiljø til fiskene, nem betjening og sikkerhed i driften og da anlægget i forhold til andre recirkulerede anlæg rummer flere nyskabelser, er indretningen og kapaciteten beskrevet og principperne diskuteret på baggrund af de indhøstede erfaringer.

Der er dagligt ført kontrol med pH, ilt, temperatur, nitrit, nitrat og ammonium i anlægget, ligesom foderforbrug og dødelighed er registreret. Produktionsresultaterne for de 2 forsøg med yngel i anlægget er beskrevet og nøgletallene for produktion beregnet.

Det vigtigste resultat af YDS-projektets fase I, der afsluttedes i oktober 1999, var, at YDS-bakterien, *Flavobacterium psychrophilum*, blev påvist i både sæd- og ægvæske hos moderfisk. Muligheden er således til stede for, at bakterien overføres fra moderfiskene til æg og yngel og spredes med disse.

Hovedformålet i fase II har derfor været at undersøge, om YDS-bakterien 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.

Der arbejdedes endvidere efter den hypotese, at man efter desinfektion af øjenæg ved indflytning i det recirkulerede kummeanlæg kunne holde yngelen smittefri indtil de var store nok til at blive vaccineret og flyttet ud i andre produktionsenheder. I recirkuleret borevand kunne smittetrykket fra YDS-bakterien og andre organismer med stor sandsynlighed holdes nede på et minimum, kummiljøet optimeres og parametre som vandtemperatur, iltindhold etc. stabiliseres til gavn for fiskenes almene sundhedstilstand.

Forudsætningen for at opretholde et minimalt smittepres i anlæggene under henholdsvis modning af moderfisk og opvækst af yngel var, at indslæbning af smitstof udefra blev forhindret. Derfor blev der taget en lang 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.

Der blev udarbejdet et regelsæt for adgang til forsøgsanlægget og procedurer for rengøring og desinfektion af anlæggene mellem forsøgene samt regler for indføring af foder og for rengøring og desinfektion af alt udstyr, der blev ført ind i huset udefra. Primært blev der satset på indkøb af nyt udstyr, som ikke måtte fjernes fra forsøgsanlægget.

Endvidere blev de to forsøgsafdelinger forsynet med hvert sit anlæg til UV-behandling af vandet.

I forsøgsanlægget til moderfisk blev der i projektperioden gennemført 1 forsøg med isolering af moderfisk fra juli 2000 og efterfølgende strygning af æg og befrugtning d. 28.11.2000. Resultatet af befrugtning og inkubation af æg var uheldigvis meget dårligt og der blev ikke øjenæg nok til, at kummeanlægget kunne besættes med disse yngel. I stedet blev det lille hold yngel fra denne befrugtning anbragt i en klækkerende i moderfiskerummet og opvæksten fulgt indtil udløb af projektperioden. Af hensyn hertil blev indføring af et 2. hold moderfisk til et nyt forsøg udskudt til senere.

I forsøgsanlægget til yngel blev der i projektperioden gennemført 2 forsøg af 3 - 4 måneders varighed med opvækst af yngel fra klækning til en størrelse på minimum 1,8 g/stk ( 5 – 6 cm) . Det 1. forsøg var baseret på indkøbte øjenæg fra et andet dambrug, hvis moderfisk var blevet testet for forekomst af YDS-bakterier. Æggene blev desinficeret og lagt til klækning i kummeanlægget midt i maj 2000 og yngelen udfisket henholdsvis 26.07. og 26.08. 2000. Det 2. forsøg var baseret på strygning og befrugtning af æg fra moderfisk i dambrugets gamle kummehus, søskende til de moderfisk, som var isoleret i forsøgshuset. Befrugtningen fandt sted d. 22.12.2000 og øjenæggene desinficeret og flyttet til forsøgsanlæggets kummer d. 22.01.2001. Opvæksten af disse yngel blev fulgt indtil udgangen af projektperioden.

For at følge forekomsten af YDS-bakterier blev der 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. På laboratoriet blev der gennemført undersøgelser for at finde ud af, om YDS-bakterier kunne komme ind i ægget sammen med sædcellen eller påvises inde i æggene. Et eksperiment skulle også belyse, om YDS-bakterien i det hele taget kunne overleve og formere sig i ægmassen.

Den bakteriologiske prøvetagning omfattede først og fremmest moderfisk, æg og yngel , der indgik i forsøgene i det nyopførte forsøgsanlæg, men til sammenligning hermed blev forekomsten af YDS-bakterier også fulgt i søskende-moderfisk i jorddambruget og det gamle kummehus samt i yngel og sættefisk i det gamle kummehus, jorddambruget og det udendørs recirkulerede anlæg (se [fig. 1](#)). Der blev også foretaget bakteriologiske undersøgelser af det vand, som moderfisk og yngel gik i.

Ud over de bakteriologiske undersøgelser blev der månedligt foretaget kliniske observationer på yngel og sættefisk i forsøgsanlægget og i alle dele af dambruget, for at holde øje med symptomer på YDS eller andre sygdomme og være behjælpelig med behandlingsforslag i tilfælde af egentlige sygdomsudbrud.

## 2. Resultater

De bakteriologiske undersøgelser af moderfisk i jorddamme med åvand viste forekomst af YDS-bakterier, men ikke ved hver prøvetagning og smittepresset var tilsyneladende lavt i dette miljø.

På moderfisk i det gamle kummehus fandtes YDS-bakterier ved hver prøvetagning og i de fleste af de undersøgte fisk. Desuden blev rødmundsyge-bakterien og furunkulose-bakterien påvist i nogle af

prøverne. Vandforsyningen til kummehuset er både borevand og åvand. Smittepresset er tilsyneladende større end i jorddammene og miljøet ikke optimalt for minimering af patogener.

I de moderfisk, der blev isoleret i forsøgsanlægget, var der en lavere forekomst af YDS-bakterier .

Fra fiskene blev sat ind i anlægget i juli måned og til strygningen d. 28.11. blev bakterien kun påvist i 2 ud af i alt 15 undersøgte fisk, men i prøverne udtaget ved strygningen blev bakterien påvist i større omfang og i 5 af i alt 7 undersøgte fisk. Årsagen til den øgede forekomst på dette tidspunkt kan være nedsat immunforsvar i strygemodne fisk. Måske har det været en medvirkende faktor, at UV-anlægget var ude af drift på dette tidspunkt.

Det må konstateres, at YDS-bakterien ikke kunne fjernes fra moderfisk under 4 mdrs. isolation i recirkuleret borevand.

I de bakteriologiske undersøgelser af æg blev YDS-bakterien påvist uden på nybefrugtede æg, men ikke indeni æggene. Et særligt infektionsforsøg i forbindelse med befrugtning viste ligeledes, at bakterien bagefter kunne påvises uden på æggene, men ikke inden i. Et eksperiment viste, at YDS-bakterien var i stand til at leve og formere sig i ægmassen, og når bakterien ikke kunne påvises inde i æggene skyldes det muligvis, at den ikke kan trænge ind i dem.

I prøver af øjenæg fra det gamle kummehus og fra et hold, der var indkøbt til forsøg fra et andet dambrug, blev YDS-bakterien ikke påvist, hverken før eller efter desinfektion. Bakterien blev heller ikke fundet på eller i øjenæggene, der blev overført til forsøgskummerne 22.01.2001.

Desinfektionsforsøg på laboratoriet viste, at 1 % Actomar K30 kan fjerne YDS-bakterier fra ægoverfladen, men ikke 100 %. Højere koncentrationer af Actomar K30 er skadelig for æggene.

I undersøgelserne af yngel blev YDS-bakterien påvist i alle dele af dambruget og også klinisk diagnosticeret i alle produktionsanlæg, men smittepreset er tilsyneladende forskelligt fra anlæg til anlæg, ligesom tydelige kliniske symptomer på sygdommen ikke altid efterfølges af alvorlige udbrud med stor dødelighed og behov for at sætte ind med antibiotika.

I det gamle kummehus blev YDS-bakterien påvist i juli 2000 i yngel på ca. 1 g/stk. (4-5 cm) og senere igen i det samme hold yngel efter at det var flyttet ud i det udendørs recirkulerede anlæg. Klinisk er sygdommen diagnosticeret i det gamle kummehus i forskellige hold yngel, både i 2000 og 2001. Det er som regel også på de små fisk (under 1 g/stk.) i dette anlæg, at de alvorlige sygdomstilfælde med stor dødelighed og brug af antibiotika forekommer.

I jorddambruget er YDS-bakterien kun påvist enkelte gange på yngel, ligesom der kun har været få kliniske symptomer på sygdommen. Der var i projektperioden ikke egentlige udbrud af YDS i dammene og antibiotika blev ikke taget i anvendelse. Efter projektets afslutning har der dog i sommeren 2001 været et enkelt sygdomsudbrud, som krævede behandling med florfenicol.

I det udendørs recirkulerede anlæg blev YDS-bakterier påvist hver gang der blev udtaget prøver til bakteriologi og meget tyder på et forholdsvis højt smittepres i dette anlæg. Også klinisk er symptomer på YDS tydeligt påvist på yngel i anlægget, men det er bemærkelsesværdigt, at tilfældene kun sjældent medfører stor dødelighed og brug af antibiotika. Derimod behandles der ofte mod rødmundsyge i såvel jorddambruget som i det udendørs recirkulerede anlæg.

I 2000 var der i det recirkulerede forsøgsanlæg sat yngel af en stamme fra et andet dambrug. Disse fik gælleinfektion i forbindelse med startfodringen først i juni og efter et pumpeuheld først i august. Som følge deraf blev yngelen gentagne gange badet i ca. 0,2 % saltvand i flere døgn (se bilag 3). Ved den kliniske undersøgelse d. 03.08., en uge efter sortering af yngelen, blev der også diagnosticeret infektion med tarmsnylteren *Hexamita salmonis*.

Der blev ikke på noget tidspunkt observeret kliniske symptomer på YDS og bakterien blev heller ikke påvist ved de bakteriologiske undersøgelser om sommeren. Derimod blev YDS-bakterien påvist d. 06.09. i en lille restbestand i kummerne, efter at yngelen var blevet sorteret d. 26.08. og de

fleste flyttet til andre produktionsenheder. De mindste yngel havde på det tidspunkt en størrelse på gennemsnitlig 2,2 g/stk. (ca. 6 cm). YDS-bakterien blev også påvist i det hold, der var flyttet fra forsøgskummerne til det udendørs recirkulerede anlæg, men der kom ikke noget sygdomsudbrud og blev ikke givet antibiotika. Derimod blev disse yngel kort efter flytningen behandlet med antibiotika imod rødmundsyge.

I 2001 var forsøgskummerne besat med et hold yngel fra en strygning i det gamle kummehus den 22.12.2000. Der var stor dødelighed på øjenæg i klækkefasen på grund af kraftigt svampeangreb. På trods af risikoen ved et indgreb i selve klækkefasen blev der med held foretaget badning i ca. 0,5 % saltvand i 20 min. (se *bilag 3*).

Efter et uheld sidst i marts med foderspild ved opsætning af klokautomater i kummerne blev der d. 26.03. diagnosticeret bakteriel gælleinfektion og massiv infektion med *Costia*. Begge problemer forsvandt hurtigt efter badning af yngelen to gange i 0,4-0,6 % saltvand i et døgn (se *bilag 3*).

I perioden 22.01. – 02.05. blev der ikke ved de bakteriologiske prøvetagninger påvist forekomst af YDS-bakterier i yngelen og heller ikke klinisk observeret symptomer på YDS, men ved en klinisk undersøgelse d. 03.05. blev der både diagnosticeret YDS og *Hexamita salmonis* og i bakterieprøver fra samme dag blev bakterien påvist. Yngelen var blevet sorteret en uge tidligere og de mindste havde på det tidspunkt en størrelse på gennemsnitligt ca. 1,8 g/stk. (5,5 cm).

Også i de store yngel fra sorteringen, der var flyttet til det udendørs recirkulerede anlæg, blev der klinisk og bakterielt påvist YDS. Begge hold yngel blev efterfølgende behandlet med antibiotika og dødeligheden var meget begrænset.

I det lille hold yngel fra befrugtningen d. 28.11.2000, der i januar 2001 blev anbragt i en rende i anlægget til moderfisk og med en vandforsyning af gennemstrømmende borevand, blev der klinisk observeret bakteriel gælleinfektion, skimmelsvamp og *Costia* d. 16.03., ti dage før *Costia* blev set i kummeanlægget. Der blev desinficeret med kloramin T og formalin. *Costia* forsvandt hurtigt, men der kunne fortsat konstateres gælleinfektion hver gang yngelen blev undersøgt i resten af forsøgsperioden. Fiskene voksede dårligt, men dødeligheden var lav (se *bilag 3*). Der blev ikke ved de kliniske undersøgelser fundet bakterielle symptomer og ikke ved de bakteriologiske prøvetagninger fundet vækst af fiskepatogene bakterier før YDS sammen med *Hexamita salmonis* blev konstateret d. 09.05. YDS-diagnosen blev bekræftet af den bakterielle dyrkning. Dødeligheden var lav og der blev ikke behandlet med antibiotika.

På baggrund af de 3 nævnte forsøg med yngel i forsøgsanlægget kan det konstateres, at YDS hverken klinisk eller bakterielt er påvist i de første 3 måneder, selvom yngelen i alle forsøgene har været udsat for betydeligt stress, bl.a. i form af gælleinfektion og parasitangreb.

YDS-bakterien blev først påvist i forsøgskummerne ca. 1 uge efter sortering af yngelen.

### 3. Konklusion

Isolation af moderfisk i et recirkuleret anlæg baseret på rent borevand og en optimering af fiskenes miljø kan muligvis medvirke til brud på smittekæden eller minimering af smittetrykket fra YDS-bakterien. Det lykkedes dog ikke at eliminere YDS-bakterien fra moderfiskene i det første forsøg af 4 mdrs. varighed, men det er for tidligt at forkaste idéen, da forudsætningerne i det gennemførte forsøg ikke var optimale, bl.a. fordi alle moderfisk ikke blev sat ind i anlægget på samme tidspunkt og UV-anlægget var ude af drift i en længere periode. Forsøget bør derfor gentages.

YDS-bakterien blev påvist på overfladen af nybefrugtede æg, men ikke inden i æg. Bakterien blev ikke påvist på eller i øjenæg før eller efter desinfektion.

Anvendelse af recirkuleret teknik til yngelopdræt, set i sammenhæng med forebyggelse af YDS og begrænsning af tab, ser ud til at være en god idé. Det lykkedes ganske vist ikke i den afsluttede forsøgsperiode, at holde YDS-bakterien helt ude af anlægget, men bakterien blev først påvist efter 3 måneder forløb og yngelen var på det tidspunkt store nok til at vaccinere. Sygdommen havde et forløb uden nævneværdig dødelighed og tabet var derfor begrænset.

En måned før det kliniske udbrud af YDS var der i det ene kummeforsøg konstateret gælleinfektion samt parasitangreb af *Costia* på gæller og hud og tarmsnylteren *Hexamita salmonis* blev i alle 3 forsøg med yngel i forsøgshuset konstateret enten samtidigt med YDS eller en måned før.

Disse to parasitter må være ført ind i forsøgsanlægget udefra og det er overvejende sandsynligt, at YDS-bakteriens tilstedeværelse i anlægget også skyldes overførsel af smitte udefra. Dette kan være sket i forbindelse med sortering af fiskene, der i begge kummeforsøg fandt sted en uge før YDS blev påvist.

Indføring af smitstof i forsøgsanlægget er sket på trods af omfattende hygiejniske tiltag og regler for adgang til anlægget. Når der alligevel kommer parasitangreb er det en bekræftelse på, hvor svært det er at undgå at slæbe smitstof fra afdeling til afdeling på et dambrug, men også en indikation af, at hygiejniske foranstaltninger og indlæring af forebyggende vaner er en absolut nødvendighed, hvis man skal gøre sig håb om at opdrætte YDS-fri yngel.

# 1. Indledning

## 1.2 YDS-bakterien i Danmark

YDS-bakterien, *Flavobacterium psychrophilum*, er en af hovedårsagerne til sygdom og høj dødelighed blandt yngel og sættefisk af regnbueørred i Danmark og i andre lande (Dalsgaard & Hørlyck 1990, Dalsgaard & Madsen 1997, Lorenzen & Olesen 1996a, 1996b). Dødeligheden er ikke blevet mindre siden sygdommen for første gang blev rapporteret i Europa og i Danmark kan næsten ingen ferskvandsdambrug hævde, at være fri for bakterien (Madsen, 2000).

Sygdommen har siden midten af 1980'erne påført dambrugserhvervet i Danmark store tab. Ud fra tal indsamlet i projektfase I kan det estimeres, at dødeligheden som følge af YDS i yngel i kummer gennemsnitligt udgør 34 % af startantal yngel, svarende til ca. 88 mill. stk. døde yngel (1998), eller ca. 18 mill. kr. i direkte tab årligt. Hertil kommer, at YDS også optræder og giver dødelighed efter at yngelen er flyttet fra kummer til yngeldamme.

I tilfælde, hvor sygdommen ikke er forsøgt slået ned med antibiotika, kan YDS, ofte i kombination med følgesygdomme som gælleinfektion eller angreb af parasitter, nemt give en total dødelighed på 80–90 % af startantallet. Antibiotika, antiparasitære midler og desinfektionsmidler har derfor gennem årene været helt nødvendige hjælpemidler i bekæmpelsen af sygdomskomplekset.

YDS er fortsat yngelproducenternes alvorligste sygdomsproblem og anvendelsen af medicin og desinfektionsmidler kan indtil videre ikke undværes i opdrættet.

Offentlighedens fokus på fødevarer sikkerhed og brugen af medicin og hjælpestoffer i animalsk opdræt til fødevarer har sammen med ny og restriktiv EU-lovgivning på det seneste øget behovet for at finde frem til alternative metoder og teknologi, der kan anvendes i sygdomsforebyggelse og medvirke til færre sygdomsudbrud og mindre skadevirkning. Herved kunne forbruget af medicin og hjælpestoffer begrænses yderligere. Dette projekt er et led i sådanne bestræbelser, jævnfør formål.

Inden formål og forsøgsplaner for projektfase II omtales, skal kort gennemgås deres baggrund, som er den indsamlede viden og afsluttende diskussion i projektfase I.

## 1.2 Forsøgenes baggrund

I projektfase I var resultatet af *interviews* med 12 udvalgte avlstdambrugere om YDS, at sygdommen forekommer på alle avlstdambrugene, uanset vandforsyning, opdrætssystem og arbejdsrutiner. Undersøgelsen viste også, at selv yngeldambrug, der udelukkende forsynes med borevand og som ligger langt fra andre dambrug, kan få udbrud af YDS.

Resultatet af de *bakteriologiske undersøgelser* på 4 udvalgte avlstdambrug var, at YDS-bakterien fandtes i ægvæsken fra nystrøgne hunner på 3 af avlstdambrugene og i sædvæsken fra nystrøgne hanner på 2 af avlstdambrugene. Desuden blev YDS-bakterien påvist i vand fra klækkerender samt i yngel i kummer og i vand fra kummer. Derimod lykkedes det ikke med de anvendte analysemetoder, at påvise forekomst af YDS-bakterier på eller i øjenæggene.

En vertikal smittevej blev således ikke endeligt påvist, men det blev vist, at avlsfisk kan være reservoir for YDS-bakterien og at der derved er mulighed for, at denne kan overføres fra moderfisk

til æg og yngel. Muligheden er altså tilstede for, at YDS-bakterien overføres til både den kommende generation af avlsfisk og via salg af øjenæg og yngel spredes til andre dambrug.

Opdræt af yngel i kummer, set i relation til vandkvalitet, blev også undersøgt i fase I. De fleste kummeanlæg forsynes med borevand i den første periode, men senere, når væksten er godt i gang og behovet for øget vandtilførsel opstår, suppleres med åvand, idet kun få dambrug har borevand nok til rådighed.

Vandflowet i kummeopdræt er målt til gennemsnitlig ca. 1 liter /sekund og svarende til en strømhastighed på ca. 0,3 cm/sek. Undersøgelser over selvrensningsevnen i opdrætsbassiner har vist, at partikler først kan bæres af strømmen ved større hastigheder og selvom fiskestørrelsen og bestandstætheden i kummerne også har betydning for selvrensningsevnen, er det typiske vandflow i kummerne i mange tilfælde næppe nok til at opnå selvrensning.

Undersøgelsen i fase I pegede på, at manglende selvrensningsevne og miljøet i kummerne kan være en årsag til bakteriel gælleinfektion, der meget ofte optræder sammen med YDS.

Vandflowet i kummerne kan øges ved enten at tilføre åvand eller ved at recirkulere vandet. Anvendelsen af åvand er ikke uden problemer. Der kan være stærkt svingende vandkvalitet og temperatur, afhængigt af vejret, nedbør, udsivning fra marker, afløb fra rensningsanlæg, rensning af drænrør, oprensning af åløb og grødeskæring osv.. Anvendelsen af åvand øger også risikoen for, at opdrætssystemet tilføres skadevoldende bakterier og parasitter udefra.

Det er da også en almindelig erfaring fra yngelopdræt i åvand, at fiskene hyppigt stresses og svækkes af svingninger i vandkvalitetsparametre og deraf følgende uregelmæssigt fodringsregime. F.eks. optræder bakteriel gælleinfektion eller hudsnyltere hyppigt efter et ilttryk eller en periode med grumset vand efter regnskyl eller grødeskæring og meget ofte kommer udbruddene af YDS i yngel efter en periode med varmt vejr, dvs. når temperaturen igen er faldende (From 1993, Jensen 1996.) Angreb af tarm-flagellaten *Hexamita salmonis* ses meget ofte samtidigt med YDS.

Gælleinfektion og infektion med hudsnyltere er årsag til anvendelsen af desinfektionsmidler i yngelopdræt og i fase I er der indsamlet data om forbruget heraf. Der har især været anvendt kloramin-T og formalin. Specielt anvendelsen af formalin er angivet som et arbejdsmiljømæssigt problem.

Alternativet til brug af åvand i yngelopdrættet er at øge anvendelsen af recirkuleret borevand, der synes at være en mere farbar vej til at forbedre kummemiljøet, nedbringe hyppigheden af følgesygdomme og begrænse forbruget af hjælpepestoffer.

Meget tyder på, at recirkuleringsteknikkens indførelse øger muligheden for at der kommer færre udbrud af YDS eller at tilfældene gør mindre skade. Chansen for helt at undgå udbrud af YDS er også til stede. Erfaring med drift af et recirkuleret anlæg vil formentlig spille en stor rolle for resultatet. Der er næppe tvivl om, at når først dambrugeren har lært teknikken, biofilterets bæreevne og anlæggets produktionskapacitet at kende, kan et sådant anlæg køres med gode og stabile vandkvalitetsparametre og en stabil temperatur, forhold der anses for at være af afgørende betydning for yngelens velbefindende, sundhedstilstand, foderudnyttelse og vækst.

*Flavobacterium psychrophilum* er en kuldeelskende bakterie, som giver de største tab af yngel ved temperaturer mellem 3 og 15 °C og forsøg har påvist, at ved temperaturer over 15 °C aftager dødeligheden (Holt et al. 1989, Lorenzen 1994, Jensen 1996). Det er også en erfaring fra recirkuleret opdræt i Danmark, at en temperaturstigning til 18 – 22 °C i nogle dage kan få YDS-symptomerne til at forsvinde og dødeligheden til at ophøre (Bregnballe et al. 1994).



Temperaturstyring i forbindelse med recirkuleret opdræt kan således måske være en farbar vej i bekæmpelsen af YDS, men spørgsmålet må belyses nærmere, da der kan vise sig at være uhensigtsmæssige bivirkninger af temperaturforøgelsen.

Forsøg med anvendelse af recirkuleringsteknik i yngelopdræt er således af mange grunde et oplagt led i fastlæggelsen af en strategi for bekæmpelse af YDS. Man må dog ikke være blind for, at der også kan være ulemper forbundet med den nye teknologi. Det kan for eksempel være vanskeligt og arbejdskrævende at slippe af med et smitstof igen, hvis det trods alle forholdsregler alligevel er kommet ind i anlægget. For det første er anvendelsen af desinfektionsmidler problematisk af hensyn til biofiltrenes funktion, og for det andet kan fuldstændig tørlægning og rensning af anlægget blive nødvendigt, hvorved produktionsrytmen brydes.

Nedenfor er opregnet en række fordele og ulemper ved indførelse af recirkuleret teknik. Det er dog et spørgsmål, om tilegnelse af ny viden kan kaldes en ulempe, men ressourcekrævende for erhvervet er det :

Fordele ved overgang til recirkulering kunne være :

- mulighed for stabilisering af vandkvalitetsparametre,
- mulighed for temperaturstyring,
- forøget vandflow i kummerne uden brug af åvand,
- forbedret kummemiljø på grund af større selvrensningsevne,
- nedsat risiko for udbrud af gælleinfektion, YDS og andre infektioner,
- nedsat risiko for smitte med *Hexamita salmonis* og hudsnyltere,
- nedsat forbrug af medicin og desinfektionsmidler,
- nedsat eller ingen udledning af medicinrester og desinfektionsmidler til miljøet,
- mulighed for hurtig vækst af yngel til en størrelse hvor det generelle immunsystem fungerer,
- mulighed for vaccination mod specifikke sygdomme i smittefrit miljø.

Ulemper ved overgang til recirkulering kunne være :

- Indførelse af mere teknik samt flere sikkerheds- og alarmsystemer,
- større krav til dambrugeren om teknisk indsigt og akkuratelse,
- behov for uddannelse af dambrugeren med hensyn til viden om systemernes funktion,
- større krav til dambrugeren om hygiejne, forebyggelse og optimering af miljøet,
- kortsigtet lavere provenu som følge af investering i ny teknologi,
- hvis yngelen har gået i smittefrit miljø i recirkulering og uden at være vaccineret derpå flyttes til et opdrætsmiljø med smittetryk, er den mere modtagelig overfor specifikke sygdomme,
- begrænset mulighed for anvendelse af medicin og hjælpestoffer hvis sygdom trods alt opstår ,
- grundig rengøring, desinfektion og tørlægning efter smittesomt sygdomsangreb,
- biofilterkapacitet bygges kun langsomt op efter tørlægning .

### **1.3 Forsøgenes formål**

Projektets overordnede mål er, at tilvejebringe så megen ny viden om YDS-bakteriens forekomst og smitteveje, at der kan fremsættes forslag til renere teknologi og arbejdsmetoder, som kan nedbringe eller eliminere forekomsten af YDS-bakterien i yngeldambrug eller muliggør opdræt af YDS-fri yngel frem til en størrelse, hvor fiskens generelle immunforsvar er tilstrækkelig udviklet til, at den

bedre kan modstå et smittepres fra bakterien, eller der eventuelt kan vaccineres mod YDS, når dette i løbet af nogle år forhåbentligt bliver muligt.

Opdræt af YDS-fri yngel vil også forøge muligheden for at få held med vaccination af yngelen mod rødmundsyge (ERM), idet udbrud af YDS netop i mange tilfælde bevirker, at ERM-vaccinationen ikke kan gennemføres på det rette tidspunkt eller at den forebyggende virkning deraf begrænses meget.

Som nævnt ovenfor viser resultaterne i fase I, at moderfisk kan være reservoir for YDS-bakterien og at der kan være mulighed for overførsel af bakterien fra moderfisk til æg og yngel. Ikke alle led i smittekæden blev dog påvist.

Ligeledes blev der peget på, at yngelopdræt i recirkuleret borevand bør erstatte det traditionelle opdræt i åvand, da smittetrykket fra skadelige organismer vil være mindre i borevand og da recirkuleringsteknikken vil medføre stabilisering af temperatur og vandkvalitet samt et renere kummemiljø, så fiskens almene sundhedstilstand forbedres og smittetrykket fra YDS-bakterien eller virkningen deraf minimeres.

Af disse grunde er der i fase II fokuseret på såvel supplerende bakteriologiske undersøgelser for yderligere at belyse smittevejene, som på opførelse af et forsøgsanlæg ved et avlsdambrug med egen moderfiskebestand, der kan levere moderfisk og æg til forsøg med recirkuleringsteknikkens betydning for YDS-status .

I forhold til andre recirkulerede anlæg er der i retningslinierne for den tekniske opbygning og funktion af forsøgsanlægget tale om flere nyskabelser. Der er lagt vægt på, at føre så meget rensset vand frem til fiskene som muligt til så lave omkostninger som muligt, idet målsætningen har været, at fiskene skal gå i et sundt miljø og at anlægget skal være både sikkert og billigt i drift, samt at anlægsinvesteringerne skal holdes nede på et for dambrug realistisk niveau.

Selve forsøgene og de bakteriologiske undersøgelser har været bygget op over en række delmål , som er :

- at isolere et antal moderfisk i pilotanlægget i god tid inden kønsmodningen og følge forekomsten af YDS-bakterier på overflader og i indre organer ved regelmæssig udtagning af prøver af han- og hunfisk, herunder at klarlægge på hvilket tidspunkt bakterien forekommer i æg- og sædvæske,
- parallelt hermed at følge forekomsten af YDS-bakterier i søskende-moderfisk, der går i udendørs damme og håndteres på traditionel vis,
- at undersøge YDS-status i afstrøgne moderfisk,
- at foretage befrugtning og inkubering af æg fra de isolerede moderfisk for at undersøge, om bakterien overføres fra moderfisk til æg og for at klarlægge, om bakterien kan findes inden i æggene eller på overfladen,
- at undersøge YDS-status på nybefrugtede æg og øjenæg før og efter desinfektion, eventuelt afprøve forskellige desinfektionsmidler,
- at følge YDS-status i yngel i forsøgsanlæggets kummer efter klækning,
- parallelt hermed at følge YDS-status ved prøvetagning af æg og yngel i traditionelt opdræt,
- at følge YDS-status i opdrætsmiljøet ved regelmæssig udtagning af vandprøver .

Det har således været hensigten, at følge YDS-status i en isoleret bestand gennem en ubrudt række begivenheder, fra indføring af en del af dambrugets bestand af moderfisk i forsøgsanlægget i god tid inden kønsmodningen til udflytning af færdig yngel i en størrelse, der er klar til vaccination. Alle processer, strygning, befrugtning, æinkubation og yngelopdræt skulle foregå i forsøgshuset med så lidt kontakt til det øvrige dambrug som muligt og under iagttagelse af de forebyggende foranstaltninger, der skønnedes nødvendige for at undgå overførsel af smitstof fra dambruget til forsøgsanlægget, jævnfør kapitlet om hygiejnetiltag.

Formålet med at isolere en bestand i recirkuleret vand var, at forsøge at bryde smittekæden ved at minimere eller eliminere forekomsten eller de skadelige virkninger af YDS-bakterier i et optimeret opdrætsmiljøet, primært hos moderfisk, sekundært ved desinfektion af æg, eller i sidste ende gennem reducerende foranstaltninger i yngelfasen.

For at opfylde målsætningen bør de forskellige stadier i rækken, moderfisk, inkubation af nybefrugtede æg samt øjenæg og yngel holdes fysisk adskilte og have separate vandforsyninger og biofiltre, hvilket der blev taget højde for ved konstruktionen af forsøgsanlægget.

## **1.4 Forsøgsplaner**

### **1.4.1 Tidsskema og anlægsopgaver**

Efter tilsagnet i december 1999 om finansieringen af fase II stod det klart for styregruppen, at tiden var knap, når der både skulle bygges og indkøres forsøgsanlæg og så vidt muligt køres to hele forsøgsdykkler igennem på ca. 1½ år, d.v.s. i princippet to hold moderfisk med påfølgende befrugtning, inkubering af æg og opvækst af yngel. Prøvetagningen måtte ophøre senest i maj 2001, hvis laboratorieanalyser og afrapporteringen skulle være færdig til 1. oktober 2001, som forudsat.

Et af dambrugene, der var omfattet af undersøgelserne i fase I, blev på et møde i november 1999 udpeget som dambruget, hvor en eventuel fase II kunne foregå. Dambrugets avlsbestand rummede dels moderfisk, der med en normal vinter ville modnes i marts 2000 og dels et hold jomfruer, der ville modnes første gang i december 2000.

Ved hjælp af køleteknik og med lidt held kunne modningen og befrugtningen i marts eventuelt forsinkes i 3 uger, hvis det blev nødvendigt af hensyn til færdiggørelse af forsøgsanlægget.

Efter en planlægningsfase i januar 2000 havde anlægsaktiviteterne 1. prioritet, med projektering af forsøgsanlægget i februar-marts og anlægsarbejder samt test og indkøring i marts-april. Entreprenøren lovede anlægget færdigt til aflevering d. 15. april 2000 og der var en forventning om, at det også kunne besættes på dette tidspunkt.

### **1.4.2 Den primære forsøgsplan**

Der blev lagt en primær forsøgsplan startende med indflytning midt i april 2000 af 1. hold øjenæg af dambrugets egen stamme til klækning i forsøgsanlæggets kummeafdeling, startfodring af yngel og langsom indkøring af biofiltre i maj samt bakteriologisk prøvetagning af æg og yngel, indtil

disse var store nok til at kunne flyttes i udendørs damme. Herefter kunne kummeafdelingen rengøres, desinficeres, tørlægges og stå klar til at modtage 2. hold øjenæg i starten af 2001.

I maj-juni 2000 kunne det 1. hold avlsfisk isoleres i forsøgsanlæggets moderfiskeafdeling med henblik på minimering af smittetrykket fra YDS-bakterier i løbet af sommeren og efteråret. Modning af dette hold avlsfisk forventedes i løbet af december og strygning senest 1. januar. Efter afslutning af den bakteriologiske prøvetagning i de afstrøgne moderfisk, kunne anlægget tømmes, rengøres, desinficeres og være klar til isolering af 2. hold avlsfisk, med henblik på strygning i marts 2001.

### 1.4.3 Den realiserede forsøgsplan

Entreprenøren var som lovet færdig med bygning af forsøgsanlægget midt i april, men med hensyn til de tekniske installationer var der opstået betydelige forsinkelser i leveringen. Pumper, blæsere og filterlegemer til biofiltrene blev således ikke færdigmonteret før et stykke hen i maj måned og UV-anlæg til yngelkummer og moderfiskebassin først i juni og juli måned.

Forsinkelserne i foråret betød, at klækketidspunktet for dambrugets absolut sidste hold æg indtrådte i april før forsøgsanlæggets vandforsyning og installationer til vandbehandling var klargjort. For at undgå, at forsøg med æg af dambrugets egen stamme måtte udskydes til december måned, blev der i sidste øjeblik alligevel overflyttet et hold øjenæg fra dambrugets gamle kummehus til klækning i forsøgsanlægget, baseret på en midlertidig etableret nødforsyning af borevand.

Uheldigvis døde alle de nyklækkede blommesækkyngel pludseligt efter få dage. Årsagen formodes at være, at en trykpumpe i brønden med borevand har suget falsk luft og på grund af utilstrækkelig vandbehandling har dette bevirket overmætning af klækkevandet med atmosfærisk kvælstof og efterfølgende kvælning af yngelen (dykkersyge).

Selvom det var meget sent på sæsonen lykkedes det i stedet at skaffe et hold IPN-frie øjenæg fra *et andet dambrug* til 1. forsøgsrunde. I alt 310.000 æg derfra blev lagt til klækning i bakker i det nye kummehus henholdsvis 12. maj og 26. maj. Klækningen skete kort efter og startfodring fandt sted i kummerne henholdsvis 3. juni og 10. juni. Sortering og udfiskning af yngel foregik første gang den 26. juli og de sidste fisk blev sat ud af forsøgskummerne den 26. august 2000 på nær en lille rest, jævnfør kapitel 2, driftsresultater.

Også moderfiskeanlægget fik i forhold til den primære plan en forsinket opstart, men i juni-juli 2000 kunne jomfrufiskene isoleres i bassinet med henblik på decimering af YDS-bakterier i fiskene inden den forventede modning og strygning ved juletid.

I oktober blev det åbenbart, at der nok kun var ganske få hanner imellem, hvilket kunne blive et problem ved befrugtningen. Af hensyn til det bakteriologiske undersøgelsesprogram var det imidlertid på dette fremskredne tidspunkt ikke hensigtsmæssigt, at reservere andre hanner til forsøget, da der kun var sådanne til rådighed, som havde haft en hel anden baggrund og opvækst end de isolerede moderfisk..

Moderfiskene modnedes tidligere end forventet og var klar til første strygning allerede den 28. november. Befrugtning af 400.000 æg denne dato skete med sæd fra kun 2 hanner (xx-hanner). Befrugtningsresultatet var meget dårligt, kun ca. 2 %. Måske har sæden ikke været moden nok, se diskussionen herunder.

Æggene blev inkuberet i søjleinkubatorer, som var anbragt i hjørnet af moderfiskerummet. De cirka 8000 stk. overlevende yngel, der var tilbage efter røring og frasortering af døde æg sidst i december, var alt for lidt til forsøg i forsøgsanlæggets kummer, hvorfor de blev sat i en klækkerende i anlægget til moderfisk, efter at bassinet var tømt, rengjort og desinficeret. Styregruppen fandt, at det ville være af stor betydning at følge YDS-status i dette lille hold yngel og besluttede, at de skulle holdes isoleret i moderfiskerummet indtil en størrelse på 1 g eller indtil der eventuelt blev påvist YDS-bakterier i dem.

Da der var risiko for smitteoverførsel blev det derfor også bestemt, at 2. hold moderfisk til forsøg først kunne flyttes ind, når der ikke længere var behov for at følge yngelholdet bakteriologisk. Planerne om at isolere 2. hold moderfisk og følge YDS-status i dem blev siden opgivet, da det ikke kunne nås indenfor projektfasens tidsramme.

Planerne for forsøg i pilotanlæggets kummer blev i overensstemmelse med ovenstående ændret i januar 2001, idet et hold øjenæg fra en befrugtning den 22. december blev overflyttet fra dambrugets gamle kummehus til klækning i forsøgsanlægget. Dette hold yngel blev fulgt bakteriologisk indtil udflytningen til damme fandt sted i juni 2001.

Der har således i 2. forsøgsrunde været fulgt to hold yngel af dambrugs egen stamme :

- 1) *yngelen i moderfiskerummet*, hidrørende fra strygningen den 28. november af de i forsøgs-  
huset isolerede moderfisk og bestående af 8000 stk. overført fra søjleinkubation til en  
klækkerende med gennemstrømmende borevand. Dette hold er udfisket den 14.06.2001.
- 2) *yngelen i kummeanlægget*, hidrørende fra en strygning den 22. december af et hold moderfisk  
i dambrugets gamle kummehus. Cirka 400.000 øjenæg blev den 22.januar 2001 desinficeret i  
Actomar K 30 og flyttet ind i forsøgsanlægget og anbragt ovenpå kummerne i bakker til  
klækning og opvækst i recirkuleret vand. Yngelen blev startfodret i kummer den 17. februar,  
sorteret og udtyndet den 26. april og endelig udfisket den 26. juni 2001, jævnfør kapitel 2,  
driftsresultater.

#### **1.4.4 Diskussion**

Forsinkelser og uheld medførte større ændringer af de primære forsøgsplaner. Der har som planlagt været kørt 2 hold yngel i pilotanlæggets kummer indenfor projektfasens tidsramme, men mod forventning blev 1. hold baseret på øjenæg indkøbt fra et andet dambrug og 2. hold på øjenæg fra et andet hold moderfisk end de, der var isoleret i forsøgsanlæggets bassin til moderfisk.

Begge hold øjenæg kom fra moderfisk, der før flytning af æggene var blevet undersøgt for YDS-bakterier og fundet positive og begge hold æg blev desinficeret ved overflytningen til bakker i forsøgskummerne. Disse forudsætninger havde også været gældende, hvis overflytning af øjenæg som oprindeligt planlagt havde fundet sted fra moderfiskeanlægget til kummeanlægget. Derfor har ændring af forsøgsplanen på dette punkt ikke haft afgørende betydning for resultatet af de bakteriologiske undersøgelser i yngel.

Imod forventning har der kun været isoleret 1 hold moderfisk i forsøgsanlægget. Dette er en følge af det dårlige befrugtningsresultat den 28. november og de begivenheder, der fulgte efter og bevirkede, at moderfiskerummet blev reserveret til yngel.

Strygning og befrugtning blev foretaget af professionelle folk og årsagen til det dårlige resultat skal næppe findes i procedurefejl, men snarere i forhold knyttet til den forudgående modningsfase.

Problemet har været, at der ikke var kontrol med eller fuldt overblik over kønsmodningen i den isolerede bestand af jomfrufisk. De ca. 215 stk., der var indsat i bassinet til moderfisk inden den 01.08. 2000, forventedes at kunne give langt flere befrugtede æg end der var behov for til besætning af forsøgsanlægget, men de blev indsat før der kunne skelnes mellem hanner og hunner.

Det viste sig senere, at der i bestanden var langt flere blanke fisk uden kønsprodukter end forventet og kun 5 hanner i alt. Da der opstod mistanke herom, var det allerede for sent at erstatte de isolerede moderfisk med andre. Endvidere modnedes hunnerne med rogn 3-4 uger tidligere end forventet. Dette havde ikke været et problem, hvis hannerne (xx-hanner) ved den 1. strygning havde været lige så langt fremme i modning som hunnerne. Generelt er der en tilbøjelighed til, at xx-hanner modnes senere end hunnerne og meget tyder på, at dette har været tilfældet her, da der i en sædprøve fra den ene af de to hanner, som var til rådighed til befrugtningen, blev observeret nedsat aktivitet hos sædcellerne.

Måske er årsagen til, at der kun var liv i 2 % af æggene efter befrugtningen, at sæden ikke var moden nok eller at den af anden årsag ikke var befrugtningsduelig. I avlsarbejdet hænder det jævnligt, at der optræder hanner, som af en eller anden grund ikke har været befrugtningsduelig, hvorfor man som regel ved befrugtning blander sæd fra flere hanner. Men der kan også have været forhøjet ægdødelighed af ukendt årsag.

Tre hanner var gemt til 2. strygning 14 dage senere og situationen kunne måske være reddet, hvis efterstrygningen var blevet gennemført, men uheldigvis døde næsten alle moderfisk i bassinet dagen efter 1. strygning på grund af en teknisk fejl, idet et elskab med en frekvensomformer var blevet overophedet og brændte sammen på grund af manglende ventilation. Dette havde medført iltmangel i bassinet med moderfisk.

Situationen medførte, at projektet som omtalt kun havde ca. 8000 stk. afkom ud af strygningen af de isolerede moderfisk. Det var alt for få til opvækst i forsøgskummerne, hvorfor de i resten af forsøgsperioden var placeret i en rende med borevand i rummet til moderfisk og dér blev fulgt bakteriologisk i 5 måneder.

Det var ønskeligt, at den overordnede idé om at isolere et hold moderfisk i et recirkuleret anlæg og følge YDS-status i en sammenhængende periode indtil den færdige yngel kunne flyttes ud af forsøgsanlægget, var blevet afprøvet med et helt hold yngel under de normale recirkulerede driftsforhold i kummerne. Forsøget bør gentages.

#### **1.4.5 Konklusion**

Selvom anlæg og forsøg i starten var præget af forsinkelser og uforudsete hændelser og forsøgene som følge deraf blev gennemført på en anden baggrund end forventet, er tidsrammen overholdt og alle delmålene blevet opfyldt .

## 2. Forsøgsanlægget

### 2.1 Beskrivelse af forsøgslokaliteten

Oxfeld Dambrug, der er valgt som forsøgslokalitet (*figur 1*), består af et traditionelt ”redekamsanlæg” med fødekanal, 21 jorddamme, bagkanal og bundfældningsanlæg, der indtager vand fra Heager Å. Herudover råder dambruget over et stort overdækket kummeanlæg med faciliteter til opbevaring af moderfisk samt klækning og opdræt af æg og yngel i henholdsvis borevand og åvand. Til dette formål er der 49 yngelkummer i beton og 3 betonkummer til moderfisk. Endvidere indeholder denne afdeling et mindre recirkuleret yngelopdrætsanlæg med 5 glasfiberkummer og biofilteranlæg samt værksteds- og opbevaringsrum.

I tilknytning til dambruget er der opbygget et fuldt recirkuleret udendørs anlæg uden afløb til Heager Å. Anlægget består af 2 store og 6 mindre betonbassiner samt 5 traditionelle jorddamme. Rensning af vandet i dette anlæg foregår ved hjælp af en mikrosigte, et opstrøms biofilter med fast fyldning og et separat denitrifikationsfilter.

Dambruget råder endeligt over et garageanlæg samt forsøgsanlægget til YDS projekt fase II, som beskrives nærmere i efterfølgende afsnit.



Figur 1 : Situationsplan for dambruget, (luftfoto ved Preben Pedersen)

1) Forsøgsanlægget, 2) Det gamle kummehus, 3) Jorddambruget, 4) Det udendørs recirkulerede anlæg.

## **2.2 Indretning af forsøgsanlægget**

### **2.2.1 Indledning**

Forsøgsanlægget er primært opbygget med henblik på at tilfredsstille de krav til indretning og ydelse som projektet dikterede. Herudover er anlægget søgt opbygget med vægt på følgende forhold:

- Anlægsomkostningerne skulle holdes på et niveau, som er realistiske ved kommerciel drift
- Driftsomkostningerne ved recirkuleret drift skulle begrænses mest muligt.
- Anlægget skulle udføres med henblik på en høj driftssikkerhed og lave pasningskrav i den daglige drift.

Hovedkravene fra projektets side var følgende:

- Anlæggets størrelse og kapacitet skulle sikre en realistisk sammenligning med kommerciel drift.
- Der skulle indrettes fysisk adskilte anlæg til henholdsvis moderfisk og yngel/sættefisk
- Adgang til hver af de to anlæg skulle foregå gennem en sluse med mulighed for omklædning og håndvask.
- Der skulle etableres anlæg til UV-behandling af vandet i de to anlæg.

### **2.2.2 Beskrivelse af anlægsindretning (se også bilag 1a og 1b)**

Der blev etableret et kummehus på 14 X 7 m (*figur 2*), som blev opdelt i to afdelinger ved hjælp af en let skillevæg. Vægge og tag blev opbygget af isolerede elementer med en sidehøjde på 2 m og en taghældning på 15°. Grundplan over anlægget fremgår af bilag 1a.

Den ene afdeling indeholder et moderfiskebassin med en indvendig længde på 4,5 m, en bredde på 2 m og en vanddybde på 1,6 m samt et 1 m bredt og 4,5 m langt biofilter med en vanddybde på 1,6 m. Vandet i dette anlæg cirkuleres og udluftes/opiltes med en mammutpumpe indrettet i et 4 m dybt Ø 40 cm rør. Pumpen kan drives med modstrømsbeluftning ved en vandføring på 10 l/sek. Vandtilledningen til moderfiskebassinet sker gennem en 30 cm bred betonkanal med en vanddybde på ca. 60 cm. Anlægget betjenes fra et 1,5 m bredt gangareal. Overkant af biofilter- og moderfiskebassin samt betonkanal er 40 cm over gangarealet. Gangarealet har afløb for vægmonteret klækkeanlæg. Adgangen til anlægget sker gennem et 1,5 m langt og 1,7 m bredt vindfang forsynet med afløb for håndvask.





Figur 2 : Det nyetablerede forsøgsanlæg til YDS-projektet, fase II. (Fig. 2+3, Foto: Lone Madsen).



Figur 3 : Forsøgsanlæggets afdeling med yngelkummer. Bagest ses det 3-delte biofilter.

Den anden afdeling (*figur 3*) indeholder 11 yngelkummer med en indvendig længde på 4,65 m, en bredde på 0,63 m og en vanddybde på ca. 0,6 m samt et 2,5 m bredt og 4,5 m langt biofilter med en vanddybde på 1,6 m. Vandet i dette anlæg cirkuleres og udluftes/opiltes med en mammutpumpe indrettet i et 4 m dybt Ø 70 cm rør. Pumpen kan drives med modstrømsbeluftning ved en vandføring på 30 l/sek.

Vandtillædningen til moderfiskebassinet sker gennem en 30 cm bred betonkanal med en vanddybde på ca. 60 cm. Anlægget betjenes fra et 1,5 m bredt gangareal. Overkant af biofilteret, betonkanal og yngelkummerne er 40 cm over gangarealet. Gangarealet har afløb for vægmonteret klæggeanlæg og startfodringsanlæg. Adgangen til anlægget sker gennem et 1,5 m langt og 1,7 m bredt vindfang forsynet med afløb for håndvask.

### Indretning af bassiner til biofiltre og moderfisk

Der er etableret et bassin med en indvendig længde på 4,5 m, en bredde på 5,8 m og en dybde på 1,8 m. Ved hjælp af to 0,15 m brede skillevægge opdeles dette bassin i henholdsvis et moderfiskebassin med en indvendig bredde på 2 m og et 1 m bredt bassin til biofilter for moderfiskeanlægget samt et 2,5 m bredt bassin til biofilter for kummeanlægget.

Afløbet fra moderfiskeanlæggets biofilter sker gennem en 50 cm bred udskæring, der er ført til bunden af betonkanalen. Vandet ledes gennem mammutpumpen og tilbageløb hindres med et skod anbragt i U-jern. Tilløb til moderfiskebassinet foregår gennem to 35 cm brede og 30 cm dybe udskæringer i betonkanalen. Udskæringerne er forsynet med U-jern til skodder. Før afløbet fra moderfiskebassinet er der etableret en rist. Bunden af risten er anbragt 50 cm fra bassinet afløbsende og afstanden herfra til overkant af risten udgør 30 cm. Det afspærrede område udgør bassinets slamfang. Afløb fra moderfiskebassinet er etableret som en 30 cm bred og 50 cm dyb udskæring efter risten i bassinets side ind mod biofilteret.

### Indretning af kummeanlæg

Der er etableret 11 kummer med en indvendig længde på 4,65 m, en bredde på 0,63 m og en højde på 80 cm. Kummernes vægge er støbt i en tykkelse på 7,5 cm. Med 4 kummer ude af drift er der bekvem adgang til de øvrige 7 kummer. Alle indvendige betonoverflader i anlægget blev malet med epoxymaling.

Afløbet fra kummeanlæggets biofilter sker gennem en 80 cm bred udskæring, der er ført til bunden af betonkanalen. Vandet ledes gennem mammutpumpen og tilbageløb hindres med et skod anbragt i U-jern. Tilløb til kummerne foregår gennem en 35 cm bred udskæring i betonkanalen for hver kumme. Udskæringerne er forsynet med U-jern til skodder. Før afløbet fra kummerne er der etableret en rist. Bunden af risten anbringes 40 cm fra kummens afløbsende og afstanden herfra til overkant af risten udgør 30 cm. Det afspærrede område udgør kummens slamfang. Afløb fra kummerne er etableret som overløb gennem 40 cm høje Ø 110 mm rør. Vandet fra de enkelte afløb føres gennem et Ø 350 mm rør tilbage til biofilteret. Anlægget er således opbygget som forbundne kar, hvor vandstanden i kummerne bestemmes af vandstanden i biofilteret.

## Indretning af biofiltre

De to biofiltre er i princippet opbygget ens og de består af følgende elementer: Et 1,15 m langt og 1,6 m dybt opstrøms filter med fast filterfyldning, et 1,6 m højt og 1,6 m langt beluftet filter med bevægelig fyldning og til slut et 1,15 m langt og 1,6 m dybt nedstrøms filter med fast fyldning. Bredden er henholdsvis 1 og 2,5 m.

Filtrene med fast fyldning, der primært fungerer som kontaktfiltre, er opbygget med henholdsvis tre og to kamre, der kan returskylles individuelt med vand og luft. De beluftede filtre er selvrensende. Inddelingen af de enkelte filterkamre sker med vandfaste plader monteret i jern fastgjort til bunden af filtrene samt riste ind mod det beluftede filter. Adskillelsen mellem de enkelte filterdele vil ikke være udsat for nogen betydende trykbelastning.

Vandet fra opdrætsanlæggene tilledes et 30 cm bredt forkammer i biofilteret. Fra forkammeret ledes vandet gennem en 15 cm høj åbning i bunden af skillepladen til opstrømsfilteret. I dette hviler filterfyldningen, som er ca. 115 cm høj på en rist hævet 15 cm over filterbunden, hvor der er luftslanger til returskylning. Opstrømsfilterets afgrænsning ind mod det beluftede filter består af en plade fra bund og 130 cm op. Herfra erstattes pladen af en 50 cm høj 5 mm rist, som leder vandet over i den næste afdeling. Før risten etableres mulighed for at sætte en plade i U-jern til afspærring af en afdeling ved returskylning. Nedstrømsfilteret er indrettet på samme måde, idet vandet bare løber den modsatte vej.

I hvert filterkammer med fast fyldning føres et Ø 110 mm rør op gennem fyldningen. Under normal drift er dette rør afspærret. Ved returskylning afspærres risten i det aktuelle filterkammer og luftgennemblæsningen af filteret startes, hvorefter rørafspærringen fjernes. Herved ledes vand fra bunden af filteret og op gennem filterfyldningen til røraftløbet. Hele opdrætsanlægget benyttes således som skyllevandsreservoir. Skyllproceduren afsluttes ved at lukke for luften, afspærre røraftløbet og åbne for risten. Når vandstanden i anlægget synker ved returskylning suppleres med friskvand via en niveaureguleret ventil.

I det beluftede biofilter holdes en flydende filterfyldning i bevægelse ved beluftning af filterets udløbsside. Vandstrømmen fra beluftningen kan dels holde fyldningen i rotation og dels friholde udløbsristen for tilstopning med filterelementer.

## Anlægskapacitet

Det specifikke overfladeareal i moderfiskeanlæggets biofilter udgør ca. 2.500 m<sup>2</sup> fordelt på 500 m<sup>2</sup> i de faste filtre og 2000 m<sup>2</sup> i den beluftede del. Kombinationen af filtertyperne udnytter de faste filters gode evne til at tilbageholde fintsuspenderet materiale ved adsorption sammen med det beluftede filters gode stofovergang/stofomsætning som følge af turbulensen i filteret.

Med en forventet maksimal udfodring på 5 kg/døgn, er filteret meget lavt belastet. Dette skyldes hensyn til anlæggets hydraulik, produktionens værdi og ønsket om en ukompliceret drift.

Det specifikke overfladeareal i kummeanlæggets biofilter udgør ca. 6.250 m<sup>2</sup> fordelt på 1250 m<sup>2</sup> i de faste filtre og 5000 m<sup>2</sup> i den beluftede del. Af samme årsager som ved moderfiskeanlægget er der tale om et lavt belastet filter selv ved en udfodring på det dobbelte af den forventede på ca. 15 kg/døgn.

## Øvrige bemærkninger

Alle anlæggets bassiner er tilsluttet et Ø110 mm rørsystem, hvor standrør ført 5 cm over normal vandstand virker som overløb. Ved at trække standrøret kan et afspærret bassin tømmes for vand uafhængigt af det øvrige anlæg.

Alle afløb fra bassiner, returskylning og håndvaske føres til fælles samlebrønd, hvorfra vandet pumpes til dambrugets eksisterende anoxiske tank. Samlebrøndens niveau vil ikke tillade, at der sker tilbageløb af vand med risiko for smitteoverførsel mellem de to afdelinger.

Ved et vandflow på 10 l/sek. i moderfiskebassinet er der ilt til en udfodring på ca. 5 kg døgn. I kummeafdelingen vil der være ilt til en daglig udfodring på 15 kg ved et vandflow på 30 l/sek. Vandflowet kan om ønsket øges væsentligt i begge afdelinger. Ved stærkt øget vandflow falder iltmætningen i det fremførte vand. Det faktiske optimum for driften vil kun kunne fastsættes gennem forsøg i anlægget. Dette har ikke været en del af projektet.

Med den valgte dimensionering af biofiltrene i forhold til forventet belastning, er anlægget principielt indrettet til at kunne drives uden supplerende UV-anlæg i relation til fiskenes krav til vandkvalitet. Forsøgets formål indebærer imidlertid krav til vandets bakteriologiske kvalitet, hvilket sammen med styregruppens generelle erfaringer med anvendelse af UV- behandling af vand i recirkuleringsanlæg gav anledning til, at der blev installeret UV- anlæg i begge afdelinger.

## **2.3 Driftsovervågning og driftsresultater**

### **2.3.1 Indledning**

Der er i forsøgsperioden gennemført to yngel-/sættefiskproduktioner på anlægget i henholdsvis år 2000 og år 2001. Den første produktion var delt i to faser, hvor første fase var fra den 6. juni 2000, hvor fodringen påbegyndtes, og frem til den 26. juli 2000. På dette tidspunkt blev anlæggets besætning sorteret og udtynnet. Anden fase var videreopdræt af den resterende besætning frem til den 26. august 2000, hvorefter anlægget blev tømt og desinficeret.

Produktionen i 2001 blev påbegyndt med indsætning af øjenæg den 22. januar. Startfodringen blev påbegyndt den 17. februar 2001. Ved denne serie blev der også foretaget en udtynding af besætningen den 26. april med henblik på at holde en besætning i kummerne på mellem 175 og 400 kg.

I de efterfølgende afsnit refereres de faktisk opnåede produktionsresultater og anlæggets generelle funktion kommenteres.

### 2.3.2 Produktionsresultater år 2000

#### Forsøgsanlæg - produktion i 1. periode , 03.06.2000 – 26.07.2000

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 3.6.00 klækket yngel fra 2. års fisk overført         | 175.000 stk. yngel        |
| 3.6.00 klækket yngel fra jomfrufisk overført          | 25.000 stk. yngel         |
| <u>10.6.00 klækket yngel fra 2. års fisk overført</u> | <u>110.000 stk. yngel</u> |
| I alt indsat  | 310.000 stk. yngel        |
| 26.7.00 udsorteret 244 kg af 270 stk./kg              | 66.000 stk. yngel         |
| 26.7.00 udsorteret 100 kg af 440 stk./kg              | 44.000 stk. yngel         |
| 26.7.00 udsorteret 120 kg af 415 stk./kg              | 50.000 stk. yngel         |
| <u>26.7.00 udsorteret 125 kg af 630 stk./kg</u>       | <u>79.000 stk. yngel</u>  |
| I alt udsorteret 589 kg                               | 239.000 stk. yngel        |

#### Forsøgsanlæg - produktion i 2. periode , 26.07.2000 – 26.08.2000

Bestand den 26. juli 2000:

|   |                          |
|---|--------------------------|
| 26.7.00 indsat 120 kg af 415 stk./kg        | 50.000 stk. yngel        |
| <u>26.7.00 indsat 125 kg af 630 stk./kg</u> | <u>79.000 stk. yngel</u> |
| I alt indsat 245 kg                         | 129.000 stk. yngel       |

Bestand den 26. august 2000:

|  |                          |
|--|--------------------------|
| 26.8.00 udfisket 280 kg af 114 stk./kg       | 32.000 stk. yngel        |
| 26.8.00 udfisket 250 kg af 125 stk./kg       | 31.000 stk. yngel        |
| 26.8.00 udfisket 60 kg af 330 stk./kg        | 20.000 stk. yngel        |
| <u>26.8.00 udfisket 22 kg af 440 stk./kg</u> | <u>10.000 stk. yngel</u> |
| I alt udfisket 612 kg                        | 93.000 stk. yngel        |

## 1. periode

Der henvises til tabellen øverst på forrige side.

I alt var der 71.000 stk. døde øreder, hvilket er 23% af de indsatte æg. Den væsentligste årsag til dødeligheden var gællebetændelse i yngel fra sidste hold æg kort efter klækning. Yngelen blev behandlet med salt.

Foderforbruget i perioden 3.6 – 26.7 har været 250 kg. Tages der ikke hensyn til døde fisk samt indsatte æg bliver foderkvotienten på  $250/589 = 0,42$ .

Regnes der forsigtigt ud fra 37 kg indsatte æg og 10 kg døde fisk bliver foderkvotienten på  $250/(589 - 27) = 0,45$

I yngelanlægget har periodens maksimale udfodring været 20 kg/døgn.

## 2. periode

Der henvises til tabellen nederst på forrige side.

I forbindelse med et uheld, hvor et relæudfald medførte en for høj  $\text{NO}_3^-$  - værdi i anlægget, er der opsamlet 12 kg døde. Udfaldet af relæet medførte at anlæggets friskvandsforsyning svigtede.

Foderforbruget i perioden 26.7 – 26.8 har været 268 kg. Produktionen kan opgøres til  $612 + 12 - 245 \text{ kg} = 379 \text{ kg}$ . Dette giver en foderkvotient på 0,71 for perioden.

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 konstant kørt på lav effekt.

Periodens middeleffektforbrug kan ud fra journalen opgøres til 3,45 kW, hvoraf 33% går til drift af moderfiskeanlægget. 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. 1,75 kr./kg yngel. Dette dækker over en betydelig variation. I starten af perioden var elforbruget til drift af yngelanlægget Ca. 2 kW og foderforbruget 6 kg/døgn, svarende til ca. 2,55 kr./kg yngel. I slutningen af perioden var elforbruget ca. 2,5 kW og foderforbruget 20 kg/døgn, svarende til ca. 0,95 kr./kg yngel.

## Samlet

Under forsøget i 2000 blev der samlet produceret 929 kg med et foderforbrug på 518 kg. Dette giver en foderkvotient for den samlede produktion på 0,56.

### 2.3.3 Produktionsresultater år 2001

#### Forsøgsanlæg - produktion i 1. periode , 22.01. 2001 – 26.04. 2001

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 22.01.01 indsat ca. 39 l rogn af 10.250 stk./l fra jomfrufisk | 400.000 stk. øjenæg       |
| 17.02.01 overført 42 kg yngel af 8.000 stk./kg til kummer     | 336.000 stk. yngel        |
| 26.04.01 udsorteret 519 kg af 460 stk./kg                     | 238.740 stk. yngel        |
| 26.04.01 restbestand 135 kg af 570 stk./kg                    | 76.950 stk. yngel         |
| <u>26.04.01 restbestand 15 kg af 460 stk./kg</u>              | <u>6.900 stk. yngel</u>   |
| <u>I alt 669 kg</u>   | <u>322.590 stk. yngel</u> |

#### Forsøgsanlæg - produktion i 2. periode, 26.04. 2001 – 26.06. 2001

##### Indsat 2001:

|   |                          |
|---|--------------------------|
| 26.04.01 indsat 135 kg af 570 stk./kg                                 | 76.950 stk. yngel        |
| 26.04.01 indsat 15 kg af 460 stk./kg                                  | 6.900 stk. yngel         |
| 14.06.01 indsat 15 kg af 280 stk./kg fra klækkerende i moderfiskanlæg | 4.200 stk. yngel         |
| 14.06.01 indsat 4 kg af 460 stk./kg fra klækkerende i moderfiskanlæg  | 1.840 stk. yngel         |
| <u>I alt indsat 169 kg</u>  | <u>90.000 stk. yngel</u> |

##### Bestand den 26. juni 2001:

|   |                          |
|---|--------------------------|
| 26.06.01 udfisket 540 kg af 75 stk./kg  | 39.375 stk. yngel        |
| 26.06.01 udfisket 290 kg af 142 stk./kg | 41.180 stk. yngel        |
| 26.06.01 udfisket 16 kg af 244 stk./kg  | 3.904 stk. yngel         |
| <u>I alt udfisket 846 kg</u>            | <u>84.500 stk. yngel</u> |

## 1. periode

Der henvises til tabellen øverst på forrige side .

Fra øjenæg til første udfiskning var der i alt 77.000 stk. døde, hvilket er 19% af de indsatte æg. Den væsentligste årsag til dødeligheden var svamp i æggene. Ca. 2.500 døde af Costia-angreb og en del yngel undslap fra kummerne trods omhyggelig tætning af disse.

Foderforbruget i perioden 17.02 – 26.04 har været 436 kg. Regnes der forsigtigt ud fra 42 kg indsatte yngel og 2,5 kg døde fisk bliver foderkvotienten på  $436/(669 + 2,5 - 42) = 0,69$

I yngelanlægget har periodens maksimale udfodring været 12 kg/døgn.

## 2. periode

Der henvises til tabellen nederst på forrige side.

I forbindelse med YDS-udbrud er der opsamlet 10,5 kg døde.

Foderforbruget i perioden 26.04 – 26.06 har været 430 kg. Produktionen kan opgøres til  $846 + 10,5 - 169 \text{ kg} = 687,5 \text{ kg}$ . Dette giver en foderkvotient på 0,63 for perioden.

Periodens maksimale foderforbrug var på 18 kg/døgn.

## Samlet

Under forsøget i 2001 blev der samlet produceret 1.317 kg med et foderforbrug på 866 kg. Dette giver en foderkvotient for den samlede produktion på 0,66.

### **2.3.4 Generelle bemærkninger til anlæggets drift og driftskomponenter**

#### Renseanlæg

Anlæggets primære slamtilbageholdelse skete i afspærrede dele af opdrætskummerne. Oprensning af disse skete sammen med den øvrige renholdelse af kummerne ved at ”støvsuge” bunden med et arrangement bestående af en pumpe med slange, rør og mundstykke. Den daglige rengøringstid for denne del af anlægget blev angivet til 10 minutter.

Opstart og drift af de faste biofiltre/kontaktfiltre og det beluftede biofilter har i begge perioder været helt uproblematisk. Pasningsindsatsen ved drift af anlæggene har været minimal. De beluftede biofiltre har været selvrensende og rensningen af de faste filtre har i driftsperioderne hovedsageligt indskrænket sig til en ugentlig ”støvsugning” af disse, idet det viste sig, at afstødt biofilm med de dertil bundne partikler kunne fjernes med ”støvsugeren” beregnet til rengøring af anlæggets opdrætskummer. De faste filters returskyllesystem blev således kun benyttet nogle få gange i hver driftsperiode. Trods dette var der kun et par skovlfulde slam i de faste filtre ved nedlukningen af anlæggene. Filtrenes nitifikation var ligeledes upåklagelig, idet det normale ammoniumniveau for



kumernes afløb lå tæt ved 0,5 mg ammonium/l med et maksimum tæt ved 1 mg/l i enkelte perioder. Vandet i anlægget havde under normale omstændigheder en god gennemskinnelighed, der tillod et godt overblik over besætningen. Vandet i kummeanlægget var dog ikke krystalklart, men virkede oftest en smule opaliserende. I forbindelse med medicinering af fiskene og ved saltbehandling forekom der korte perioder med uklart vand. Dette dog uden, at der kunne registreres en nedgang i nitrifikationen. Den ved nitrifikationen dannede nitrat, blev holdt på et acceptabelt niveau ved vandskiftet, som for yngelanlægget udgjorde ca. 2 l/min. Herved kunne nitratindholdet normalt holdes på ca. 50 mg NO<sub>3</sub>/l med et maksimum på 250 mg NO<sub>3</sub>/l. I første driftsperiode forekom der et udfald af friskvandsforsyningen, hvor nitratinholdet over kort tid steg til 500 mg NO<sub>3</sub>/l. Dette havde en voldsom negativ indvirkning på fiskenes trivsel, idet der døde ca. 12 kg yngel. Med det foreliggende nitratniveau, vil der være mulighed for at drive et denitrifikationsfilter, såfremt der ikke, som på Oxfeldt dambrug, er anden mulighed for at bortlede det nitratholdige vand.

### Beluftning og vandtransport

Anlæggets drift er baseret på, at fiskenes samlede iltforsyning tilvejebringes gennem beluftning af opdrætsvandet. Dette findes at indebære fordele i form af en høj vandgennemstrømning i kummerne og et lavt gastryk for uønskede gasser som f.eks. kuldioxid. Ved at indrette den nødvendige beluftning som en mammutpumpe opnås der en samlet god økonomi i vandtransport og beluftning, når løftehøjden kan holdes på et begrænset niveau. I det aktuelle anlæg lå den samlede løftehøjde for vandet inklusiv renseanlæg på mellem 5 og 10 cm.

Luften til drift af yngel og moderfiskanlæg blev leveret af to kapselblæsere. En blæser med tottrinsmotor med en optagen effekt på henholdsvis 1,45 og 1,85 kW til drift af de to beluftede biofiltre og en blæser med frekvensstyring med en optagen effekt på mellem 1,7 og 2,4 kW til drift af mammutpumperne.

Selv om det umiddelbart kan synes fordelagtigt med den frekvensstyrede blæsers reguleringsmuligheder i relation til anlæggets aktuelle luftbehov, opstod der problemer af en art, som ikke gør anvendelse af frekvensstyring i opdrætsanlæg ubetinget anbefalelsesværdig. Styringsenheden er bl.a. meget følsom over for svingninger i aktuel strømstyrke. Bliver udsvingene i netspændingen for store, hvilket ikke er ualmindeligt i visse områder og/eller under tordenvejr, slår blæseren fra, hvilket selv sagt er u hensigtsmæssigt. Endvidere viste det sig, at frekvensomformereren, trods reglementeret installation i kabinet, blev for varm, når kabinettets låge blev lukket. Dette gav anledning til et større tab af moderfisk, da kabinettet uforvarende blev lukket med efterfølgende udfald af blæseren grundet overophedning af frekvensomformereren. Hertil må dog siges, at der burde være monteret køling på kabinettet, straks da problemet med overophedning blev registreret, idet åbne låger på et eller andet tidspunkt må forventes lukket pr. instinkt.

Inden for den afprøvede belastning på 20 kg foder/døgn har anlægget vist sig i stand til at levere en tilstrækkelig vandgennemstrømning og iltmængde til at sikre en god trivsel i besætningen med en hurtig tilvækst og et lavt foderforbrug. Iltmætningen i vandet til kummerne var konstant tæt på 100% og for det meste lå iltmætningen ud af kummerne tæt på eller over 80%.

Ved begge forsøgsproduktionerne blev vandet i anlægget brugt til klækning og startfodring af øjenæg og yngel, idet der blev sat klækkerender under tilløbet til kummerne. Da der kunne konstateres problemer med såvel startfodring af andet hold æg i første periode og skimmel på æggene i anden driftsperiode, er dette arrangement næppe ideelt. Der vil under alle omstændigheder være bedre muligheder for at styre vandkvaliteten til klækning og startfodring i et mindre anlæg bygget specielt til dette formål, hvilket kummehuset også er forberet til.

## UV-anlæg

De installerede UV-anlæg var udformet til behandling af den fulde transporterede vandmængde i de to forsøgsanlæg. Anlæggene var samtidigt tilpasset anlægget således, at der ikke opstod tryktab over disse. I moderfiskeanlægget var der tale om et traditionelt system, hvor UV-lamperne var anbragt i kvartsrør, medens UV-lamperne i yngelanlægget var i direkte kontakt med vandet. I moderfiskeanlægget lå kimtallet før uv-filteret på  $10^3$ - $10^4$  cfu/ml, medens det blev reduceret til  $10^2$ - $10^3$  cfu/ml efter uv-filteret, dvs. uv-filteret reducerede kimtallet med 90 %. I yngelanlægget var kimtallet omkring  $10^4$  cfu/ml. Ved nogle af prøverne var det ingen forskel på prøverne taget før og efter uv-anlægget, mens der ved en prøvetagning kunne ses en reduktion på 50 % efter vandet havde været igennem uv-anlægget.

Umiddelbart tyder de tilgængelige målinger på, at den højere temperatur, der opnås i UV-lamperne, når disse er indkapslet i kvartsrør øger effektiviteten af UV-anlæggene. De totale kimtal før UV-anlæggene varierer dog ikke meget markant i de to anlæg. Herudover kan forskelle i udformningen af reflektorer m.m. påvirke resultatet.

## Vandkontrol

Der blev dagligt målt pH, ilt, temperatur, nitrit, nitrat og ammonium i anlægget. pH, ilt, temperatur og ammonium blev målt med elektrode, medens nitrit og nitrat blev målt med testkits.

Ammonium blev registreret kontinuerlig. Kalibrering af det anvendte apparatur var kompliceret og apparatet viste tendens til drift af elektroden. På dette grundlag findes apparaturet mindre egnet til praktisk kontrol af ammonium i recirkuleret yngelopdræt. Testkits til ammoniummåling giver tilstrækkeligt sikre målinger, og disse er samtidigt enklere og billigere i drift.

## Temperaturregulering

Anlæggene var ikke indrettet med faciliteter til opvarmning af vandet. Ved at variere tilledningen af 7 – 8 °C varmt vand fra boring kan der ske en vis temperaturregulering. Fiskenes metabolisme og omsætningen i biofiltrene afgiver betydelige varmemængder. Reduceres vandtilledningen øges temperaturen, medens en for høj temperatur kan reduceres ved øget vandtilledning. Med den aktuelle vandtilledning på ca. 2 l/min lå temperaturen i anlægget normalt mellem 12 –14 °C

## Anlægsudgifter.

De totale omkostninger til anlægget udgjorde 600.000 kr. Anlægget er pænt udført, og det vil på årsbasis kunne producere 1 – 1,5 mill. stk. yngel af ca. 200 stk./kg afhængigt af muligheden for at producere to eller tre hold yngel/år. Etablering af en separat afdeling til moderfisk, har betydet en øget udgift i forhold til et traditionelt recirkuleringsanlæg til yngelopdræt. Etablering af indgangssluser har hidtil ikke været normalt i forbindelse med kummehuse, men den ekstra udgift hertil, vil formodentlig kunne retfærdiggøres i form af muligheden for en bedre hygiejnekontrol.

### **2.3.5 Diskussion**

Forsøgsanlægget har vist, at princippet med en opbygning af anlægget som forbundne kar giver mulighed for et godt vandskifte under bibeholdelse af et acceptabelt lavt strømforbrug samtidig

med, at udgifterne til brug af ren ilt undgås. En relativt stor gennemstrømning i kummerne med veludluftet vand så ud til at give en god trivsel for fiskene. Disse stod generelt pænt i kummerne og såvel tilvækst som foderudnyttelsen var god.

Forsøgsanlægget er som anført ikke forsynet med et separat opvarmningsaggregat. Dette er udeladt ud fra en ide om, at den øgede tilvæksthastighed, som muliggøres, når der opdrættes ved høje temperaturer, modsvares af en øget risiko for tab som følge af et hurtigere forløb ved sygdoms- og parasitangreb. Hertil kommer, at yngelens vækstpotentiale ved 12 – 15 °C findes tilfredsstillende. Muligheden for at bekæmpe YDS ved at hæve temperaturen til 20 – 21 °C er kendt. Her er det dog set ved andre anlæg, at dette kun har fungeret tilfredsstillende de første gange det har været forsøgt.

Udeladelsen af et denitrifikationsfilter i anlægget er meget bevidst. Ved at reducere nitratinholdet i vandet ved vandudskiftning bliver denne af en størrelsesorden, hvor opretholdelse af en i øvrigt god vandkemi ved recirkulering lettes væsentlig. Dette begrænser kravene til driftspersonalets ekspertise med hensyn til vandbehandling. Ud over omkostninger til indretning og drift af et denitrifikationsfilter, vil et sådant, nok så væsentligt, også udgøre en latent driftsrisiko. Ved fejlbehandling eller driftsforstyrrelser kan filteret afgive stoffer, som er stærkt giftige for fiskene. Udeladelse af denitrifikationsfiltre, hvor dette er muligt uden komplikationer af miljømæssig art, må derfor anbefales.

De indhøstede driftserfaringer giver dog også anledning til at pege på mulige forbedringer af anlægget.

Fødekanalen til yngelanlæggets kummer blev af økonomiske hensyn udført med konstant tværsnit. Dette gav anledning til mindre materialeaflejringer i enden af denne, som på grund af kanalens placering var besværlige at fjerne. En løbende formindskelse af fødekanalens tværsnit ville derfor være at foretrække.

Som følge af anlægsopbygningen, hvor hele anlægget drives som forbundne kar, er der kun en meget begrænset mulighed for at sænke vandstanden i kummerne under drift. Dette er en ofte fast procedure ved opstart af et nyt hold yngel, som ikke kan overføres til forsøgsanlægget. Den reelle hindring er anlæggets biofiltre og tærskler i fødekanalen. Sænkes biofiltrene og tærsklerne i fødekanalen, kan der skabes større mulighed for vandstandsvariationer i anlægget.

Det faste filter efter yngelanlæggets beluftede filter bestilte for lidt. Der var således stort set ingen slamaflejring i dette filter. Selv om dette kan udlægges til gunst for effektiviteten af de forudgående rensforanstaltninger, vil det være hensigtsmæssigt at udnytte det sidste faste filter bedre som kontaktfilter. Med den konstaterede faktiske belastning af det sidste filter, vil en udskiftning af det grove filtermateriale til et finere materiale med større overflade kunne ske uden en væsentlig forøget arbejdsindsats til rensning af filteret. Dette vil give større sikkerhed for en lav partikkelbelastning af opdrætsvandet.

### **2.3.6 Konklusion**

De involverede entreprenører har leveret et pænt stykke arbejde til en pris, som er sammenlignelig med anlæg planlagt og bygget kommercielt. Anlægget har i al væsentlighed levet op til de stillede ønsker om kapacitet, driftsomkostninger og let håndterbarhed.

## 3. Bakteriologiske undersøgelser

### 3.1 Bakteriologiske undersøgelser af moderfisk

#### 3.1.1 Indledning

Et af de væsentligste resultater fra Projekt YDS fase I var, at *Flavobacterium psychrophilum*, årsagen til Yngeldødelighedssyndromet (YDS), kunne findes i mælk og ægvæske hos moderfisk. Påvisningen af bakterien hos moderfisk er foruden i Danmark også blevet beskrevet fra Sverige, Storbritannien og USA (Rangdale *et al.* 1996, Brown *et al.* 1997, Ekman *et al.* 1999, Madsen *et al.* 1999). Formålet med Projekt YDS fase II var at undersøge, om smittekæden mellem moderfisk og æg/ungel kunne brydes ved at isolere moderfisk i rent vand (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.

Et avlssdambrug med egen moderfiskebestand, hvor YDS-bakterien jævnligt kunne findes i moderfiskene, blev valgt som prøvetagningssted, og sammenlignende undersøgelser af moderfisk der gik i det eksisterende anlæg (jorddamme) samt moderfisk der gik i et nybygget kummehus med recirkulering af borevand (forsøgsanlæg) blev foretaget. Inden kønsmodning 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 han- og hunfisk. Prøvetagningen skulle fortsætte 1-2 mdr. efter strygning for også at undersøge YDS-status i de afstrøgne moderfisk.

Parallelt med undersøgelsen i pilotanlægget skulle YDS-status følges ved prøvetagninger i søskende-moderfisk, der gik i udendørs jorddamme og blev håndteret på helt traditionel vis.

#### 3.1.2 Metoder

Prøver fra hud (slimlag), gæller samt indre organer (bughule, milt, æg/sædsæk, nyre, lever, hjerte, tarm, hjerne) af moderfiskene blev udtaget. Endvidere blev der udtaget vandprøver fra de miljøer, hvor de undersøgte fisk kom fra.

Prøverne blev undersøgt på tre næringssubstrater til bakteriedyrkning, herunder et substrat (TYES agar) som YDS-bakterien kan vokse på (Holt *et al.* 1993). Endvidere blev samme substrat tilsat antibiotika for at hæmme væksten af andre bakterier (Schmidt *et al.* 2000). Blodagar blev også anvendt. Herpå kan YDS-bakterien ikke vokse, men til gengæld vokser andre fiskepatogene bakterier såsom *Aeromonas salmonicida* (furunkulose) samt *Yersinia ruckeri* (rødmundsyge). Med en steril vatpind blev der udtaget prøver fra huden (slimlag), gæller, bughule, æg/sædsæk og tarm og podet ud på store (diameter 14 cm) agarplader. Prøver fra resterende indre organer blev udspreddt på små (diameter 9 cm) plader. Miltprøven var dog forinden blevet opformeret i flydende TYES medium (Holt *et al.* 1993). Vandprøver blev fortyndet inden udspreddningen på pladerne. Alle plader blev inkuberet ved 15°C i op til 3-4 uger, inden prøverne blev vurderet til at være negative for forekomst af YDS-bakterien.



Figur 4. Prøvetagningsudstyr (Foto: Lone Madsen).



Figur 5. Prøveudtagning af moderfisk (Foto: Lone Madsen).

### 3.1.3 Resultater ( se endvidere Tabel 3.1 samt Bilag 2 )

#### Moderfisk i jorddamme

Da projektet startede i januar 2000, var det nye kummehus med recirkuleringsanlæg ikke bygget, og man koncentrerede sig i første omgang om at undersøge den eksisterende moderfiskebestand i jorddamme. En måned efter projektstart (17.02 2000) blev 3 hunner undersøgt, hvor man påviste YDS-bakterier i gælleprøven fra en fisk. Bakterien kunne ikke påvises hos de 2 undersøgte hanner. Tilsvarende blev YDS-bakterier påvist i vandprøven udtaget hos hunnerne, mens bakterien ikke kunne påvises i vandprøven taget hos hannerne.

I april (26.04 2000) blev igen respektivt 3 hunner og 2 hanner undersøgt. YDS-bakterier blev påvist i slimprøver fra respektivt 1 hun og 1 han, mens bakterien ikke fandtes i vandprøver.

To måneder senere (06.07 2000) blev 5 hunner undersøgt (længde 50-55 cm). YDS-bakterier fandtes i hhv. ægsæk samt sår på gatfinne hos 2 forskellige fisk, og endvidere også i vandprøven.

I september (06.09) (længde 57-62 cm) samt oktober (11.10 2000) (længde 57-61) blev der udtaget prøver fra 5 hunner per gang. YDS-bakterier kunne ikke påvises, hverken hos fisk eller i vandprøver.

#### Moderfisk i det gamle kummehus

I det gamle kummehus gik der også moderfisk, og ved den første prøvetagning i februar (17.02 2000) blev i alt 5 moderfisk, 2 hanner og 3 hunner, undersøgt. Fiskene var blevet overflyttet fra jorddamme midt i januar og gik i borevand. YDS-bakterier blev påvist fra alle fem fisk, herunder i slim, gæller og mælk hos hannerne mens den hos hunnerne kunne påvises i slim, gæller og bughule. Rødmundsyge-bakterien blev endvidere fundet i æg, milt, hjerte og bughule (sammenvoksninger) hos den ene hun. YDS-bakterier kunne også påvises i vandprøven.

Næste prøvetagning i det gamle kummehus var februar det følgende år (13.02 2001), hvor det blev oplyst at de indsatte fisk gik i borevand. De pågældende moderfisk var blevet strøget 22.12 2000 (se under Bakteriologiske undersøgelser af æg). I alt 10 moderfisk, 5 hunner (længde 57-66 cm) og 5 hanner (længde 63-75 cm), blev undersøgt. YDS-bakterier kunne påvises hos 4 hunner, fra ægsæk, slim, gæller, bughule, tarm og lever. YDS-bakterier kunne påvises hos alle 5 hanner, fra mælk, slim, gæller, tarm, nyre, hjerte, lever, hjerne og sår. YDS-bakterier kunne ikke påvises i indløbet til kummen med moderfisk, mens bakterien kunne påvises i udløbet.

To måneder senere (04.04 2001) blev der igen udtaget prøver af fiskene, og nu blev det oplyst at fiskene gik i åvand. Der var tale om de samme hunner (dem der blev strøget 22.12 2000) mens hannerne var blevet skiftet ud med nogle fra jorddamme (ca. 40 cm lange). YDS-bakterier blev påvist hos alle 5 hunner (længde 60-70 cm), hvor bakterien kunne findes i ægsæk, slim, gæller, bughule, tarm, milt, lever, hjerne og sår. Endvidere kunne furunkulose-bakterien findes hos to af fiskene, i milt, lever, hjerne og sår. YDS-bakterier blev også påvist hos alle 5 hanner, fra mælk, slim, gæller, bughule, tarm og sår. Mht. vandprøver kunne YDS-bakterier ikke påvises i indløbene til kummerne samt udløbet fra kummen med hanner, mens bakterien fandtes i prøven taget fra udløbet fra kummen med hunner.

Tabel 3.1 : Forekomst af *Flavobacterium psychrophilum* hos moderfisk

| Prøver 2000                              | Februar                               | April     | Juli                | September                           | Oktober                | November   | December                              |
|--|---------------------------------------|-----------|---------------------|-------------------------------------|------------------------|--|---------------------------------------|
| Moderfisk i jorddamme/<br>gamle kummehus | +<br>slim<br>gæller<br>sæd<br>bughule | +<br>slim | +<br>ægvæske<br>sår | -                                   | -                      |  |                                       |
| å-vand                                   | +                                     |           | +                   | -                                   | -                      |  |                                       |
| <u>Moderfisk i forsøgs-anlæg</u>         |                                       |           | -                   | <sup>+A, B</sup><br>nyre<br>hjerter | <sup>+B</sup><br>Ægsæk | <sup>+B</sup><br>Slim<br>Gæller<br>Ægvæske<br>Udenpå<br>æg | <sup>+B</sup><br>Ægsæk<br>Slim<br>Sår |
| recirkuleret borevand                    |                                       |           | -                   | +                                   | -                      | -  | +                                     |

+ *F. psychrophilum* påvist

- *F. psychrophilum* ikke påvist

<sup>A</sup> Yderligere moderfisk blev flyttet ind i anlægget efter prøvetagningen i juli

<sup>B</sup> September: 1 positiv fisk ud af 5; Oktober: 1 positiv ud af 5; November: 5 positive ud af 7; December: 5 positive ud af 10

### Moderfisk i forsøgsanlæg

Moderfisk (75 stk jomfru-fisk) blev overført til forsøgsanlægget i starten af juni 2000. Den første prøvetagning foregik den følgende måned (06.07 2000), hvor 5 moderfisk (50 cm), 1 han og 4 hunner, blev undersøgt uden at YDS-bakterier kunne påvises, heller ikke i de to vandprøver udtaget hhv. før og efter UV-filteret.

Der blev suppleret op med moderfisk (ca. 140 stk jomfru-fisk) i anlægget i slutningen af juli. Ved næste prøvetagning to måneder senere (06.09 2000) kunne YDS-bakterier påvises i nyre og hjerte hos 1 af 5 undersøgte hunner (længde 57-60 cm). Mht. vandprøver kunne YDS-bakterier påvises i prøven taget før UV-filteret, men ikke i prøven taget efter filteret.

Ved prøvetagningen en måned senere (11.10 2000) blev 5 hunner (længde 55-62 cm) undersøgt, hvor YDS-bakterier kunne påvises i umoden ægsæk fra 1 hun, mens bakterien ikke kunne findes i vandprøverne.

I slutningen af november (28.11 2000) blev fiskene strøget, og i den forbindelse blev der taget prøver fra 5 hunner (længde 55-60 cm) og 2 hanner (længde 60-62 cm). YDS-bakterier kunne

påvises i gælleprøver fra 2 hunner og 1 han, samt i slimprøve fra 1 hun og ægvæskeprøve fra 1 hun, dvs. i alt 5 fisk ud af 7 undersøgte husede bakterien. YDS-bakterier kunne ikke påvises i vandprøverne. Det skal endvidere bemærkes at UV-anlægget på daværende tidspunkt ikke havde virket en lille måneds tid.

Dagen efter strygningen døde de fleste af moderfiskene grundet en teknisk fejl. Ud af de resterende 14 fisk blev de 10 (alle hunner) (længde 54-59 cm) undersøgt i december (18.12 2000). YDS-bakterier blev påvist hos 5 moderfisk, fra ægsæk, slim og sår. YDS-bakterier blev endvidere påvist i vandprøven (der blev kun udtaget en vandprøve, da UV-anlægget stadig ikke virkede).

### **3.1.4 Diskussion**

YDS-bakterien fandtes i moderfisk fra jorddamme, dog ikke ved hver prøvetagning og smittepresset forekom ikke at være så stort blandt disse fisk i det pågældende miljø. I alt blev undersøgt 25 fisk.

YDS-bakterien fandtes også i moderfisk i det gamle kummehus, dette uanset om moderfiskene gik i borevand eller åvand. I det gamle kummehus fandtes bakterien ved alle prøvetagninger. Endvidere optrådte rødmundsyge-bakterien samt furunkulose-bakterien også i forbindelse med prøvetagninger. Det ser ud til at anvendelse af både borevand og åvand ikke giver et optimalt miljø, når man ønsker en minimering af patogener hos moderfisk.

Sammenlignes der med resultater fra prøvetagninger af moderfisk i forsøgsanlægget (recirkuleret borevand), ses der blandt disse fisk en lavere forekomst af YDS-bakterien. Fra fiskene blev sat ind i anlægget i henholdsvis begyndelsen og slutningen af juli og til strygning i slutningen af november blev YDS-bakterien kun fundet i to af de undersøgte moderfisk (i alt undersøgt 15 fisk indtil strygningstidspunktet). Umiddelbart tyder resultaterne på, at moderfiskene ikke kan rense sig for YDS-bakterier i løbet af et 4 måneders ophold i recirkuleret borevand. Dette bekræftes også af at YDS-bakterier findes i moderfiskene i forbindelse med strygningen. Den øgede forekomst af bakterierne i forbindelse med strygningen kan eventuelt hænge sammen med et nedsat immunforsvar hos den strygemodne fisk. En medvirkende faktor kan også være UV-anlægget, der ikke virkede i pågældende periode.

Den manglende rensning for bakterien hos moderfiskene i forsøgsanlægget skal dog også ses i lyset af, at forsøgsbetingelserne ikke har været optimale. Her tænkes på forhold som indsætning af fisk i forsøgsanlægget på forskellige tidspunkter (og dermed også efter forsøgsstart).

### **3.1.5 Konklusion**

- YDS-bakterien kunne ikke fjernes fra moderfiskene under de opstillede forsøgsbetingelser, som var et lukket system med recirkulering og UV-behandling af borevand.



## **3.2 Bakteriologiske undersøgelser af æg**

### **3.2.1 Indledning**

Et af de væsentligste resultater fra Projekt YDS fase I var, at *F. psychrophilum* kunne genfindes i mælk og ægvæske hos moderfisk, mens bakterien ikke kunne genfindes hverken på overfladen eller indeni æg. 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). Under Projekt YDS fase II skulle der foretages en forsøgsproduktion af æg fra de isolerede moderfisk i forsøgsanlægget for at undersøge, om bakterien overføres fra moderfisk til æg samt for at klarlægge om bakterien kan findes inde i æggene. I den forbindelse var det meget vigtigt at få klarlagt om bakterien kun spredte sig horisontalt (fra fisk til fisk) eller om der også forekom vertikal spredning. YDS-status skulle undersøges på nybefrugtede æg samt øjenæg før og efter desinfektion.

YDS-situationen blev også fulgt ved prøvetagning af æg i det eksisterende opdrætsanlæg (æg fra søskende-moderfisk til de isolerede moderfisk i forsøgsanlægget). Formålet var igen at undersøge om isoleringen af moderfisk i rent vand i recirkulation kunne minimere eller eliminere forekomsten af YDS-bakterien samt om desinfektion af æg kunne have samme effekt.

### **3.2.2 Metoder**

Ægprøver blev udtaget fra moderfisk i forbindelse med strygningen. Overfladen af æggene blev undersøgt på to måder. Æg blev rystet ud i steril 0.9 % NaCl, hvorefter der blev podet ud på vækstsustater. Endvidere blev evt. bakterieflora fra overfladen af æg opformeret i flydende medium. Nogle af æggene var inden opformeringen blevet desinficeret i Actomar K30 (eller brintoverilte-opløsning). Ved synlig vækst (uklarhed) blev der sået ud på næringsustater. Efter op til 12 dages inkubation og hvor der stadig ikke var synlig vækst, blev der sået ud fra opformeringsmediet på næringsustat, og æggene blev derefter knust og evt. bakterieflora i de knuste æg blev forsøgt opformeret i flydende medium. Efter 10 dages inkubation blev der sået ud fra disse rør.

Prøver af overfladen blev undersøgt på tre næringsustater (beskrevet under Bakteriologiske undersøgelser af moderfisk), mens opformeringen af evt. bakterieflora i det indre af æggene blev sået ud på mindst to af substraterne.

### **3.2.3 Resultater (se endvidere Bilag 2)**

#### Øjenæg fra strygning primo 2000 (gamle kummehus)

Strøgne æg fra dambruget var udgangspunktet for ægbesætning i forsøgsanlægget. Derfor blev der ved prøvetagningen 26.04 2000 udtaget øjenæg (strøget primo 2000), der var placeret i det gamle kummehus. Øjenæggene blev undersøgt før og efter desinfektion (på laboratoriet) uden at YDS-bakterier kunne påvises. Bakterien var heller ikke at finde i den samtidigt udtagne vandprøve. Kort efter prøvetagningen da æggene var klækket samt var flyttet over i forsøgsanlægget, døde hele holdet.

### Øjenæg indkøbt fra andet dambrug (forsøgsanlæg)

Da dambruget ikke havde andre øjenæg før sidst på året og for at der kunne køre forsøg i sommerperioden 2000, blev det besluttet at indkøbe øjenæg fra et andet dambrug, hvor der tidligere var blevet isoleret YDS-bakterier, både fra moderfisk og yngel. Der blev udtaget prøver af øjenæg 12.05 samt 26.05 2000. Ved hver prøvetagning blev i alt 300 æg undersøgt fordelt på 46 prøver, heraf også æg der var blevet desinficeret med Actomar K30 (på laboratoriet) inden undersøgelsen. YDS-bakterier kunne ikke påvises.

### Æg fra strygning 28.11 2000 (forsøgsanlæg)

I forbindelse med strygning af moderfisk blev der udtaget æg. Disse ubefrugtede æg blev undersøgt før samt efter desinfektion med Actomar K30 (på laboratoriet). Opformering af evt. bakterieflora på hele udesinficerede æg (30 prøver med i alt 150 æg) resulterede i skimmelvækst og bakterien kunne ikke påvises. Evt. bakterieflora på hele desinficerede æg (40 prøver med i alt 200 æg) blev også opformeret, og i tilfælde af at der ikke var vækst af bakterier, blev æggene knust, hvorpå evt. bakterieflora i de knuste æg blev forsøgt opformeret. YDS-bakterier kunne ikke påvises hverken udenpå eller indeni de desinficerede æg.

Der blev også taget prøver af nybefrugtede æg. Fra udsæd af ægoverflade kunne YDS-bakterier påvises i en prøve med 5 æg. Dette var også tilfældet ved opformering af evt. bakterieflora på hele udesinficerede æg (6 prøver med i alt 30 æg). Evt. bakterieflora på desinficerede æg (24 prøver med i alt 120 æg) (desinfektion foretaget på laboratoriet) blev også opformeret uden at YDS-bakterien kunne påvises. I tilfælde af at denne opformering var steril, blev æggene knust. YDS-bakterier kunne ikke påvises i de knuste æg.

Da de befrugtede æg havde nået øjenægstadiet, blev der udtaget prøver (04.01 2001) og indsendt til undersøgelse på laboratoriet. Inden var det konstateret, at befrugtningresultatet havde været meget dårligt, og kun et par procent af de befrugtede æg havde nået øjenægstadiet. YDS-bakterier kunne ikke påvises på overfladen af øjenæggene efter opformering, men der var vækst af andre bakterier (selv efter desinfektion foretaget på laboratoriet inden opformeringen, både med 1 % Actomar, 4 % Actomar K30 samt 0,1 % brintoverilte) og derfor kunne det indre af æggene ikke blive undersøgt. I alt blev 450 øjenæg fordelt på 90 prøver undersøgt. Da der kun var rundt regnet 8.000 øjenæg tilbage pga. det dårlige befrugtningresultat, blev det besluttet at anvende øjenæg strøget 22.12 2000 fra dambrugets andre moderfisk der gik i jorddamme/gamle kummehus til at sætte ind i yngelanlægget i det nye kummehus.

### Æg fra strygning 22.12 2000

Øjenæg blev desinficeret i forbindelse med overflytningen til det nye kummehus, og prøver af både udesinficerede samt desinficerede øjenæg blev indsendt til undersøgelse i slutningen af januar. I alt 900 æg fordelt på 180 stikprøver blev undersøgt. YDS-bakterier kunne ikke påvises hverken fra udesinficerede eller desinficerede øjenæg.

### Forsøg med laboriestamme af *Flavobacterium psychrophilum* (YDS-bakterien) og æg

Der blev foretaget et eksperiment med at tilsætte en kultur af YDS-bakterien til sæd, og som herefter anvendtes til befrugtning af æg for at klarlægge, om bakterien kunne trænge ind i ægget sammen med sædcellen (forsøget fandt sted på dambruget samtidig med prøveudtagningen 28.11 2000). 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.

Et YDS-bakterie overlevelsesforsøg (foretaget på laboratoriet) hvor bakterien blev tilsat knuste æg viste, at bakterien var i stand til at overleve i den knuste ægmasse og endvidere kunne formere sig under disse forhold. Laboratorieforsøget viste dermed, at den manglende genfindelse af YDS-bakterien inde i æggene udtaget på dambruget ikke skyldtes, at bakterien ikke kunne overleve inde i æggene.

#### **3.2.4 Diskussion**

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

Hvis YDS-bakterien har mulighed for at komme ind i ægget, viste et laboratorieforsøg, at bakterien var i stand til at overleve i den knuste ægmasse og endvidere kunne formere sig under disse forhold, så den manglende genfindelse af bakterien inde i æggene tyder ikke på, at bakterien dør inde i æggene.

Desinfektion med 1 % Actomar K30, 4 % Actomar K30 samt 0, 1 % brintoverilte viste, at ingen af de anvendte desinfektionsmidler helt kunne udrydde bakteriefloraen på overfladen af øjenæg. Her skal det dog pointeres, der var tale om en undersøgelse hvor evt. få resterende bakterier på overfladen af øjenæggene efter desinfektion havde optimale betingelser for at formere sig i et næringsmedium der fremmer bakterievækst. YDS-bakterie-infektionsforsøget i forbindelse med befrugtning viste at desinfektion med 1 % Actomar K30 ikke kunne eliminere alle YDS-bakterier på overfladen af æggene, men her skal det bemærkes at der var tale om en eksperimentel situation, hvor udgangspunktet ikke var én men mange YDS-bakterier. Det skal bemærkes at desinfektion med 4 % Actomar K30 ikke kan anbefales på dambrugene, da undersøgelserne tyder på at det medfører en ringere klækningsprocent af æggene.

#### **3.2.5 Konklusion**

- YDS-bakterien kunne påvises på overfladen af æg, mens den ikke kunne påvises indeni æg.
- Desinfektion med 1 % Actomar K30 har en reducerende effekt på bakteriefloraen på overfladen af æg, dog ikke 100 %.

### **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. Parallelt hermed skulle YDS-status blandt yngel i traditionelt opdræt følges. Formålet var at konstatere om smittetrykket kunne reduceres i yngelfasen gennem forebyggelse, herunder desinfektion og optimering af opdrætsmiljøet i kummerne.

#### **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, mens der ikke blev taget ud fra bughule, milt, lever og tarm. Også her blev undersøgelserne foretaget på forskellige typer næringssubstrater til bakteriedyrkning som beskrevet under Bakteriologiske undersøgelser af moderfisk. Alle plader blev inkuberet ved 15°C i op til 3-4 uger, inden prøverne blev vurderet til at være negative for YDS-bakterier.

#### **3.3.3 Resultater ( se endvidere Tabel 3.2 samt Bilag 2 )**

##### Yngel i gamle kummehus

Fra yngel (længde 4,3-5,2 cm) blev udtaget prøver 06.07 2000. Ud af 10 fisk blev YDS-bakterier fundet i 3 fisk, hhv. slim fra 1 fisk, gæller fra 1 fisk samt slim og gæller hos den tredje fisk. I vandprøver taget ved indløb samt udløb af den kumme hvor den undersøgte yngel gik i blev YDS-bakterier ikke påvist.

Fra de samme yngel blev der igen udtaget prøver to måneder senere (06.09 2000). På dette tidspunkt var ynglen blevet flyttet fra det gamle klækkehus til det udendørs recirkuleringssystem. YDS-bakterier blev påvist i gæller hos 4 fisk ud af 5 undersøgte (længde 6,5-8,0 cm). Også vandprøven var positiv for YDS-bakterier.

##### Yngel fra øjenæg indkøbt fra andet dambrug (forsøgsanlæg)

Da ynglen havde gælleproblemer, blev der udtaget prøver 16.06 2000 uden at der kunne påvises YDS-bakterier eller andre sygdomsfremkaldende bakterier i de 10 undersøgte fisk.

Fra prøvetagningen knap en måned senere (06.07 2000) kunne YDS-bakterier ikke påvises i de 10 undersøgte fisk (længde 4,6-5,0 cm), og bakterien fandtes heller ikke i de to vandprøver udtaget før og efter UV-anlægget.

Der blev konstateret *Hexamita salmonis* hos ynglen først i august, ca. 1 uge efter 1. sortering.

Kort tid efter 2. sortering 26.08 2000 blev der 06.09 udtaget prøver af en lille rest fisk i forsøgsanlægget. YDS-bakterier kunne påvises hos alle fem fisk (længde 8,5-10,0 cm), fra slim, gæller, bughule, tarm, milt og hjerte. Både før og efter UV-anlægget kunne YDS-bakterier påvises i vandprøverne.

Tabel 3.2 : Forekomst af *Flavobacterium psychrophilum* hos yngel

| Prøver 2000  | Juni | Juli                | September   | Oktober   |
|--|------|---------------------|---|-----------|
| <u>Yngel i gamle kummehus</u><br><br>å-vand                                      |      | +<br>slim<br>gæller |   |           |
| Yngel i udendørs recirkuleringsanlæg <sup>B</sup><br>vand fra anlæg <sup>A</sup> |      |                     | +<br>gæller<br>+  |           |
| Yngel i forsøgsanlæg<br><br>recirkuleret borevand                                | -    | -                   | +<br>slim<br>gæller<br>bughule<br>milt<br>hjerte<br>tarm<br>+ |           |
| Yngel i udendørs recirkuleringsanlæg <sup>C</sup><br>vand fra anlæg <sup>A</sup> |      |                     | +<br>slim<br>gæller<br>-                                      | +<br>slim |
| Yngel i jorddam <sup>C</sup><br>å-vand   |      |                     | -<br>-  |           |
| Yngel i udendørs recirkuleringsanlæg <sup>D</sup><br>vand fra anlæg <sup>A</sup> |      |                     | +<br>slim<br>gæller   |           |

+ *F. psychrophilum* påvist

- *F. psychrophilum* ikke påvist

<sup>A</sup> Udendørs anlæg med recirkulering af vand

<sup>B</sup> Yngel opdrættet i å-vandssystem i gamle kummeanlæg

<sup>C</sup> Yngel opdrættet i forsøgsanlægget indtil sortering

<sup>D</sup> Hold af yngel hvorfra der ellers ikke blev udtaget prøver

Hos ynglen der i forbindelse med sorteringen var blevet flyttet ud i udendørs recirkuleringssystem (længde 10,0-11,5 cm) kunne YDS-bakterier påvises hos 3 fisk ud af 5 undersøgte, fra henholdsvis slim hos 1 fisk samt gæller hos 2 fisk. I vandprøven fra udendørs bassin kunne YDS-bakterier ikke påvises, til gengæld var prøven positiv for rødmundsyge-bakterien. Den resterende frasorterede

Yngel var flyttet ud i jorddamme. Ved en prøvetagning herfra kunne YDS-bakterier ikke påvises, hverken i 5 undersøgte fisk (længde 7,7-8,3 cm) eller i vandprøven.

En prøvetagning fra samme hold (dog af fisk der først var flyttet ud i det udendørs recirkuleringssystem fra forsøgsanlægget efter prøvetagningen 06.09) i oktober (11.10 2000) viste, at YDS-bakterien kunne påvises i slimprøven fra 1 fisk ud af 10 undersøgte (længde 8,2-13,8 cm).

#### Lille hold yngel ved moderfiskeanlæg i forsøgshuset (fra strygning 28.11 2000)

Ynglen blev placeret i kar med gennemstrømmende borevand. Ved prøveudtagningen i februar (13.02 2001) kunne YDS-bakterier ikke påvises i de 10 undersøgte fisk (længde 2,5 cm).

Ved undersøgelse af i alt 6 fisk i marts (16.03 2001 samt 26.03 2001) kunne YDS-bakterier ikke påvises, mens *Costia* blev diagnosticeret begge datoer.

10 yngel (længde 3,2-3,7 cm) blev undersøgt i april (04.04 2001), igen kunne YDS-bakterier ikke påvises, heller ikke i vandprøven.

Måned efter (09.05 2001) kunne YDS-bakterier påvises i bughuleprøven fra 1 fisk ud af 10 undersøgte fisk (længde 4,7-6,1 cm), mens vandprøven var negativ for bakterien. Kort tid forinden var bakterien blevet klinisk diagnosticeret i fisk fra samme hold.

Ved undersøgelsen af 8 fisk (længde 4,8-5,6 cm) udtaget en uge senere (16.05 2001) blev YDS-bakterier påvist i slim, gæller, nyre, milt og hjerne hos 6 fisk mens yderligere 1 fisk var positiv for YDS-bakterier i slim og gæller.

#### Yngel i forsøgsanlæg (fra strygning 22.12 2000)

På blommesækstadiet blev 10 yngel (længde 2,5 cm) undersøgt i februar (13.02 2001) uden at YDS-bakterier kunne påvises. Heller ikke tre vandprøver (udtaget før og efter UV-anlæg samt i en af fiskekummerne) var positive for YDS-bakterier.

YDS-bakterier blev ikke påvist i 4 fisk udtaget 26.03 2001, men *Costia* blev diagnosticeret.

Ved prøveudtagningen i april (04.04 2001) blev YDS-bakterier ikke påvist, hverken hos 10 yngel (længde 4,3-5,7 cm) eller i vandprøver udtaget før og efter UV-anlægget. Herefter blev ynglen sorteret.

YDS-bakterier blev påvist i miltprøver fra 5 fisk udtaget 03.05 2001 og indsendt til laboratoriet.

Prøveudtagningen en uge senere (09.05 2001) resulterede også i påvisning af YDS-bakterier hos alle 10 undersøgte fisk (4,8-5,8 cm), fra slim, gæller og indre organer. Vandprøven var ligeledes positiv for YDS-bakterier.

I forsøgsanlægget havde man bevaret en kumme hvor nogle fisk fra den frasorterede del (dem med højest vægt) gik. Prøver af 10 fisk (længde 5,3-7,4 g) fra denne gruppe resulterede i påvisning af YDS-bakterier fra gæller hos 2 fisk, indre organer hos 1 fisk samt gæller og indre organer hos 1 fisk.

Den resterende del af den frasorterede yngel var i forbindelse med sorteringen blevet placeret i, respektivt miltprøver fra 5 fisk 03.05 2001 som alle var positive for YDS-bakterier.

Ved prøveudtagningen en uge senere (09.05 2001) blev YDS-bakterier også påvist hos alle 10 fisk (længde 5,8-7,5 cm), fra slim og gæller hos 2 fisk samt slim, gæller og indre organer hos 8 fisk. Endvidere var vandprøven også positiv for YDS-bakterier.

#### Yngel i jorddam

Yngel med formodet rødmundsyge blev undersøgt 06.09 2000. Ynglen stammede fra et hold der ellers ikke blev undersøgt i forbindelse med dette projekt. Ud af 5 undersøgte fisk (længde 11,0-12,5 cm) blev rødmundsyge-bakterien påvist i alle indre organer hos 1 fisk, mens YDS-bakterier blev påvist hos 3 fisk, fra respektivt slim hos 2 fisk samt gæller hos 1 fisk.

#### **3.3.4 Diskussion**

Det kan konstateres, at YDS-bakterier først fandtes i ynglen der gik i forsøgsanlægget efter at denne yngel var blevet sorteret. Ynglen var på dette tidspunkt over 4,5 cm svarende til over 1 g. Hvis ynglen havde haft YDS-bakterien med ved overflytning til forsøgsanlægget, ville man have forventet at finde bakterien inden fisken havde nået denne størrelse. Opdrætsbetingelserne for ynglen i forsøgsanlægget kan have bevirket, at hvis YDS-bakterien har været til stede hos ynglen er der først sket en opformering af bakterierne i forbindelse med en stress-situation (eksempelvis sortering), og derfor har man først fundet bakterierne hos fiskene i forbindelse med sorteringen. Dog havde ynglen før sortering også været i stress-situationer i forbindelse med udbrud af Bakteriell gælleinfektion samt Costia, hvilket burde have ført til en opformering af eventuelle YDS-bakterier og dermed også en påvisning i forbindelse med de mange undersøgelser.

I det gamle kummehus blev bakterien påvist i yngel på 1 g. Her var forholdene for ynglen også mindre optimale end i forsøgsanlægget.

Ved hver prøvetagning i det udendørs recirkulerede anlæg blev YDS-bakterier påvist, og smittepresset må siges at være højt i dette anlæg.

#### **3.3.5 Konklusion**

- YDS-bakterien fandtes alle steder i det eksisterende dambrug, mens bakterien først blev påvist blandt ynglen i forsøgsanlægget efter sortering.
- Selvom ynglen i forsøgsanlægget har været udsat for gælleproblemer og parasitangreb, har det ikke været muligt at påvise bakterien i disse stress-situationer.

## **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, om der var forskel på bakterieantallet (herefter kaldet kimal) i de forskellige anlæg.

Man ønskede at sammenligne kimal på det eksisterende anlæg og forsøgsanlæg samt undersøge om der var en effekt af de to forskellige UV-anlæg der var sat op i respektive moderfisk- og yngelforsøgsanlæg.

### **3.4.2 Metoder**

Vandprøverne blev fortyndet og derefter podet ud på næringssubstrater til bakteriedyrkning for at bestemme kimal samt for at påvise YDS-bakterier. Et substrat med antibiotika blev også taget i brug i forbindelse med sidstnævnte undersøgelse.

### **3.4.3 Resultater ( se endvidere Bilag 2 )**

#### Kimal i vand med moderfisk

Generelt fandtes kimal i jorddamme med moderfisk at ligge omkring  $10^4$ - $10^5$  cfu/ml (cfu = colony forming units) (1 cfu ~ 1 bakterie).

Et tilsvarende kimal fandtes i vand hos moderfisk i det gamle kummehus, dog var kimal 10 gange højere ved udløb end ved indløb til kumme.

I forsøgsanlægget med moderfisk lå kimal før UV-filteret på  $10^3$ - $10^4$  cfu/ml mens det blev reduceret til  $10^2$ - $10^3$  cfu/ml efter UV-filteret, dvs. UV-filteret reducerede kimal med 90 %. Det skal også bemærkes, at de gange hvor YDS-bakterier kunne isoleres i vand var det altid i vandprøven taget før UV-filteret.

#### Kimal i vand med yngel

Ved yngelopdræt fandtes kimal på omkring  $10^4$  cfu/ml i vandprøver taget i det gamle kummehus samt i jorddamme.

I det udendørs recirkuleringsbassin lå kimalprøverne på  $10^6$  cfu/ml.

I forsøgsanlægget med yngel var kimal omkring  $10^4$  cfu/ml, hvor der i nogle af tilfældene ikke sås forskel på prøverne taget før og efter UV-anlægget, mens der ved en prøvetagning kunne ses en reduktion på 50 % efter vandet havde været igennem UV-anlægget.



#### **3.4.4 Diskussion**

UV-anlægget hos moderfiskene i forsøgsanlægget viste sig at have en effekt på bakteriekimtalet, mens det samme ikke kunne siges om UV-anlægget i yngelforsøgsanlægget.

Kimtal i forsøgsanlæg (recirkulering og UV-behandling af borevand) er fundet at være på niveau med eksisterende kummeanlæg (gennemløb af borevand/åvand), mens kimtallene i det udendørs recirkuleringsanlæg var noget højere.

Smittetrykket blandt ynglen i det udendørs recirkuleringsanlæg må siges at være højere end i nogen af de andre anlæg, da kimtalet her var ret højt.

#### **3.4.5 Konklusion**

- De påviste kimtal i forsøgsanlægget fandtes at være lavere end i det udendørs recirkuleringsanlæg. Endvidere stabiliserede kimtal i forsøgsanlægget sig på et lavere niveau.

## **4. Kliniske observationer og sygdomsudbrud i yngel**

### **4.1 Indledning**

Dansk Dambrugerforenings helsetjeneste har efter aftale varetaget regelmæssige undersøgelser af yngel på dambruget i projektperioden cirka 1 gang månedligt og periodevist oftere, hvis en særlig situation med behov for hyppigt tilsyn opstod. Meningen hermed var, at kontrollere yngelen for kliniske symptomer på YDS eller andre sygdomme og at følge udviklingen, hvis der kom sygdom. I en del tilfælde har helsetjenesten været tilkaldt, fordi dambrugets medarbejdere havde observeret tegn på sygdom eller dødelighed.

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

### **4.2 Metode**

De kliniske undersøgelser er foretaget efter retningslinier, som tidligere blev anvendt af Forsøgsdambruget i Brøns og som er beskrevet af Jon From, 1993. Der foretages en makroskopisk undersøgelse af fiskenes ydre og af de indre organers udseende og en mikroskopisk undersøgelse af hudskrab, gæller, blod og tarmindehold. For hvert fiskehold, der undersøges, foretages dissektion af 4-10 individer. Fisk til undersøgelse udtages især blandt sådanne, der har afvigende adfærd eller udseende som tegn på, at de ikke er raske. Nogle gange udtages også fisk med normal adfærd og udseende til sammenligning. Hvis der ikke ses afvigende fisk i bestanden, er den undersøgte prøve udtaget tilfældigt. Ved fund af bakterielle symptomer er der i en del tilfælde podet fra blod eller milt på et dyrkningsmedie til undersøgelse for bakterievækst, eller der er videresendt materiale til undersøgelse på Fiskepatologisk Laboratorium.

Der er i hvert enkelt tilfælde udarbejdet en skriftlig besøgsrapport med beskrivelse af symptomer, diagnose og eventuelt behandlingsforslag. Diagnosen stilles med det samme på baggrund af de fundne symptomer, karakteren af dem og en vurdering af deres udbredelse i hele bestanden. Ofte kan der være tale om flere diagnoser samtidigt. I sådanne tilfælde opstilles en prioriteret rækkefølge af problemerne efter deres alvor og omfang og der må tages hensyn hertil i de stillede forslag til en løsning.

Selvom smitstof er tilstede og man ved en klinisk undersøgelse finder patologiske forandringer i fisk, er det ikke hver gang, det udvikler sig til et alvorligt sygdomsudbrud med stor dødelighed. Meget afhænger af fiskenes generelle sundhedstilstand, opdrætsmiljøet og management, herunder også fodring og foderkvalitet. Behandlingsforslagene afhænger derfor i hvert enkelt tilfælde af en samlet vurdering af situationen. Foruden kliniske symptomer og diagnose indgår fiskenes adfærd og dødelighedens omfang, samt vandkvaliteten og forudgående management i en sådan vurdering.

Nedenfor gives en summarisk oversigt over observationerne, idet der kun er medtaget tilfælde, hvor der var patologiske forandringer at se på fiskene. I bilag 3 suppleres med en nærmere beskrivelse af sygdomsudbrud og behandling, idet der især er omtalt forløb af særlig relevans i sammenhæng med YDS-projektet.

### 4.3 Observationer på yngel i 2000 ( se også bilag 3)

Der er i 2000 foretaget kliniske undersøgelser på yngel af dambrugets egen stamme i produktionsanlæggene, det gamle kummehus, det udendørs recirkulerede anlæg og jorddambruget, og på yngel af en anden stamme i forsøgsanlægget og de senere hold, som efter sortering og udtynding er overflyttet herfra til produktionsanlæggene.

Observationerne på yngel af en stamme fra et andet dambrug til forsøg er nævnt først, ordnet efter anlæg og tidspunkt. Bagefter omtales observationerne på yngel af dambrugets egen stamme i produktionsanlæggene.

#### 4.3.1 Yngel af en stamme fra et andet dambrug til forsøg

Som tidligere omtalt blev øjenæggene overflyttet fra det andet dambrug af to omgange i maj og lagt i bakker i forsøgsanlæggets recirkulerede vand. De først overflyttede klækkede sidst i maj, mens de sidst ankomne begyndte at klække få dage efter. Startfodring og overflytning til kummer fandt sted først i juni.

Yngelen blev sorteret og udtyndet den 26.07., idet ca. halvdelen af de udflyttede yngel blev sat i det udendørs recirkulerede anlæg og halvdelen i jorddamme. Restbestanden i kummerne blev udfisket den 26.08. og overflyttet til det udendørs recirkulerede anlæg eller til et helt andet dambrug, men en lille bestand forblev i kummerne i en kort periode derefter, med henblik på udtagning af prøver til bakteriologi.

|                               |          |   |            |  |
|-------------------------------|----------|---|------------|--|
| <u>Forsøgskummer</u> ,        | 10.06.   | : | Diagnose : | <i>Bakteriel gælleinfektion.</i>   |
| - - ,                         | 19.06.   | : | Diagnose : | <i>Bakteriel gælleinfektion, men forbedring.</i>                               |
| - - ,                         | 03.08.   | : | Diagnose : | <i>Bakteriel gælleinfektion og Hexamita salmonis.</i>                          |
| <u>Udendørs recirkulering</u> | , 03.08. | : | Diagnose : | <i>Rødmundsyge og Fiskedræber, YDS-symptomer i enkelte fisk.</i>               |
| - - ,                         | 03.10.   | : | Diagnose : | <i>Rødmundsyge, Bakteriel gælleinfektion, Hexamita salmonis (få).</i>          |
| - - ,                         | 08.12.   | : | Diagnose : | <i>Rødmundsyge, Glossatella (mange), Hexamita salmonis.</i>                    |
| <u>Jorddamme</u>              | , 03.08. | : | Diagnose : | <i>Bakteriel gælleinfektion, Fiskedræber (få), YDS-symptomer i nogle fisk.</i> |
| - - ,                         | 04.09.   | : | Diagnose : | <i>Bakteriel gælleinfektion, Fiskedræber (få), Rødmundsyge i enkelte fisk.</i> |

### 4.3.2 Yngel af dambrugets egen stamme

Det gamle kummehus , 23.05. : Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion, Hexamita salmonis*, (hold af 3-4 cm yngel).  
*Bakteriel gælleinfektion, Hexamita salmonis, YDS*, (hold af 2½-3 cm yngel).

Udendørs recirkulering , 20.07. : Diagnose : *YDS, gælleirritation*.

Jorddamme , 04.09. : Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion, Fiskedræber (få), Rødmundsyge i enkelte fisk*.

- - , 03.11. : Diagnose : *Rødmundsyge, Gyrodactylus, Fiskedræber (få), Hexamita salmonis (få)*.

## 4.4 Observationer på yngel i 2001 (Se også bilag 3)

I 2001 har der kun været kørt forsøg med yngel af dambrugets egen stamme. Der har været kliniske undersøgelser af *det lille hold yngel isoleret i moderfiskeanlægget*, som gik i gennemstrømmende borevand og af *det store hold yngel i forsøgsanlæggets kummer*, som gik i recirkulering, jævnfør afsnittet om realiserede forsøgsplaner. Efter sortering og udtynding af bestanden i forsøgsanlægget er observationerne også foretaget i det hold yngel, der blev flyttet ud i *det udendørs recirkulerede anlægs jorddamme*. Desuden er der i mindre omfang observeret på yngel i det gamle kummehus og i jorddambruget.

Nedenfor er observationerne på de 2 hold yngel i forsøgshuset omtalt hver for sig og begivenheder nævnt i kronologisk rækkefølge. Observationer på andre yngelhold nævnes til sidst.

### 4.4.1 Det lille hold yngel, isoleret i moderfiskehuset

Pasningen af yngelholdet foregik problemfrit i januar og februar 2001. Dambrugeren har ikke gjort notater om uregelmæssigheder i bestanden i denne periode og observationer gav først anledning til bemærkninger midt i marts :

- 16.03. : 3 cm yngel, mange yngel gik uroligt med udspilede gællelæg og der var ganske få døde fisk. Foderrester i renden.  
Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion, svamp i gæller, Costia i gæller*.
- 26.03. : Hævet gælleepithel med udposninger og blødninger.  
Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion og enkelte Costia*
- 04.04. : Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion, ingen Costia*.
- 09.05. : Diagnose : *YDS, Hexamita salmonis og Bakteriel gælleinfektion*.
- 07.06. : Magre, fodertomme fisk.  
Diagnose : *Kronisk gælleinfektion og Hexamita salmonis*.
- 14.06. : Yngel udfisket, middelvægt ca. 3 g/stk.

#### 4.4.2 Det store hold yngel i forsøgsanlæggets kummer

For oversigtens skyld er listen over kliniske observationer suppleret med en række data om yngelen. Begivenhederne er nævnt i kronologisk rækkefølge.

- 22.01. : Ca. 400.000 øjenæg desinficeret i Actomar K30 og flyttet ind i kummehuset.
- 25.01. : Øjenæggene klumper p.g.a. voldsomt angreb af *svamp* og dødelighed.
- 29.01. : Æggene begyndt at klække, meget *svamp* og klumpning, vand skummer meget.
- 30.01. : Desinfektion med jodfri fodersalt i ½ time, 3 - 6 promille salinitet.
- 05.02. : 2. saltbadning er overstået. Alle æg klækket.
- 17.02. : Yngel overført til 6 kummer, startfodring.
- 23.02. : Klinisk undersøgelse af 2,5 cm yngel, begyndende dødelighed, problemer med foder, meget spild, seje og lyse fækalier der klistrer.  
Diagnose : *hævet gælleepithel med slim og bakterier.*
- 20.03. : Yngel fordelt på i alt 10 kummer.
- 24.03. : Foderautomater opsat, spildt foder , nedsat ædelyst og dødelighed.
- 26.03. : Diagnose : *Costia og bakteriel gælleinfektion.*
- 27.03. : Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion, kun enkelte Costia.*
- 29.03. : Vand grumset,  
Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion.*
- 02.04. : Diagnose : *Bakteriel gælleinfektion , men forbedring.*
- 04.04. : Diagnose : *gæller meget bedre, raske fisk.*
- 26.04. : Sortering og udtynding af yngel i kummer, restbestand str. 1,8 g/stk .
- 03.05. : Diagnose : *YDS og Hexamita salmonis.*
- 09.05. : Diagnose : *YDS.*
- 21.05. : Vand meget uklart, foder problemer,  
Diagnose : *YDS og bakteriel gælleinfektion, men kun få syge.*
- 07.06. : Kun få syge fisk,  
Diagnose : *YDS, bakteriel gælleinfektion og Hexamita salmonis.*
- 21.06. : Diagnose : *Hexamita salmonis.*
- 26.06. : Kummer udfisket, yngel str. ca. 10 g/stk.

#### 4.4.3 Yngel flyttet fra forsøgsanlægget til det udendørs recirkulerede anlæg

De store yngel, der efter sorteringen den 26.04. blev flyttet ud i det udendørs recirkulerede anlæg, havde en størrelse på ca. 2,2 g/stk. og blev fordelt på anlæggets 5 jorddamme.

- 03.05. : Diagnose : *YDS og Fiskedræber (mange små).*
- 09.05. : Diagnose : *YDS.*
- 17.07. : Diagnose : *Trichodinella sp. (gælleparasit, meget kraftig infektion).*  
(Enkelte fisk med symptomer på *Rødmundssyge*).

#### 4.4.4 Yngel i andre produktionsanlæg

Observationerne er opstillet i tidsmæssig rækkefølge.

- 02.04. : Yngel i det gamle kummehus, str. ca. 1 g/stk., går i recirkulering,  
Diagnose : *Rødmundsyge og bakteriel gælleinfektion*.
- 04.04. : Sættestisk i jorddamme nr. 3 og 13-19, str. 50-60 g/stk,  
Diagnose : *Rødmundsyge og Gyrodactylus (mange), svamp og Epistylis*.  
Desuden enkelte fisk med *Hexamita salmonis* (få).
- 07.06. : Yngel i det gamle kummehus :  
Større yngel : OK !  
Små yngel : Diagnose : *YDS, Hexamita salmonis, Costia, gælleirritation*.
- 21.06. : Yngel i det gamle kummehus, kumme 11-17 :  
Diagnose : *YDS og Hexamita salmonis*, desuden *gælleirritation*.
- 21.06. : Sættestisk i udendørs recirkulerede anlægs små betonkummer :  
Diagnose : *Miljøbetaget gællesyge og Hexamita salmonis, enkelte Glossatella*.
- 05.07. : Sættestisk i jorddamme.  
Diagnose : *YDS*.
- 17.07. : Yngel i det gamle kummehus :  
Hold 1, diagnose : *Hexamita salmonis og bakteriel infektion*.  
Hold 2, diagnose : *YDS + sekundær bakteriel infektion*.  
Hold 3, diagnose : *YDS + enkelte med Hexamita salmonis*.

#### 4.5 Diskussion

Diskussionen nedenfor er i høj grad baseret på den nærmere gennemgang af sygdomsforløbene og behandlingen deraf, som foreligger i bilag 3, hvortil der henvises. Diskussionen i dette kapitel drejer sig udelukkende om YDS, hvorimod diskussionen om emner som skimmelsvamp på øjenæg i klækkefasen, problemer med startfodring af yngel, bakteriel gælleinfektion, parasitter og Rødmundsyge findes i bilag 3.

##### 4.5.1 Vantrivsel i det lille hold yngel isoleret i moderfiskeanlægget

De 8000 yngel var de eneste overlevende efter den mislykkede befrugtning den 28.11. af 400.000 æg fra de jomfrufisk, der blev isoleret i forsøgsanlægget om sommeren 2000. Der er erfaring for, at et sådant hold vantrives eller giver anledning til problemer. Der var da også som øjenæg problemer, idet æggene ved prøvetagning den 04.01. viste sig stærkt begroet med bakterier (men ikke YDS), på trods af at der under søjleinkubationen jævnligt havde været desinficeret med formalin for at undgå svampeangreb.

Det var imidlertid vigtigt for projektet, af hensyn til registrering af eventuel overførsel af YDS-bakterier fra moderfiskene, at køre videre med dette hold, men det kan ikke udelukkes, at der har været en svækkelse i yngelen fra starten af.

I hvert fald var yngelen hele tiden bagud i vækst og selvom de klækkede en måned før yngelen i forsøgsanlæggets kummer var de ved udfiskning i juni (ca. 3 g/stk) meget mindre end yngelen fra kummerne (ca. 10 g/stk). En del af forklaringen ligger i, at yngelen i moderfiskehuset gik på gennemstrømmende borevand af en temperatur på 7-8 °C, mens yngelen i recirkulering gik ved en temperatur, der det meste af tiden var 10-12 °C og i perioder lidt højere. Det er imidlertid næppe hele forklaringen. Yngelen har gået i et opdrætsmiljø uden de store svingninger i vandparametre, men på trods heraf har betingelserne i renden ikke været optimale og fiskene har aldrig haft den store ædelyst. De er fodret fra klokautomat, men der har ofte været foderspild.

Der har været tegn på en kronisk eller i hvert fald hyppig tilstand af stress. Således har bakteriel gælleinfektion vedvarende været diagnosticeret i en periode af flere måneder og anvendelse af desinfektionsmidler har ikke haft den store virkning herpå. Ligeledes har gællerne været angrebet af skimmelsvamp og Costia, jævnfør beskrivelsen i bilag 3.

Da yngelen i meget lang tid nærmest har levet under kronisk stress, er det bemærkelsesværdigt, at YDS, der først blev observeret efter mere end 3 mdr. ophold i klækkerenden, ikke har kunnet påvises klinisk eller bakterielt langt tidligere i forløbet, sml. diskussionen i kapitel 3.

#### 4.5.2 YDS i forsøgsanlægget (se også bilag 3)

Ud over gælleproblemer (se bilag 3) og påvisningen af *Hexamita* den 03.08., var der ikke symptomer på sygdom i fiskene i det 1. kummeforsøg. Der blev ikke fundet kliniske tegn på YDS, men i de bakteriologiske prøver blev YDS-bakterien påvist i september i en lille restbestand, der var blevet tilbage i kummerne efter at yngelen var blevet sorteret og de fleste flyttet ud den 26.08, ti dage før prøven blev taget.

Heller ikke i det 2. forsøg blev der fundet kliniske symptomer på YDS før den 03.05, syv dage efter at yngelen i kummerne var blevet sorteret og udtyndet. En uge efter, den 09.05., blev symptomer på YDS også fundet i det lille hold yngel isoleret i moderfiskeanlægget. I begge hold yngel i 2001 blev der samtidigt med YDS fundet *Hexamita* i fiskene.

Hvorledes YDS-bakterien er kommet ind i anlægget er uvist. Spørgsmålet diskuteres i kapitel 3 og 5, hvortil der henvises. Her skal blot nævnes de 3 muligheder :

- 1) bakterien er trods desinfektion overført med æggene og har altså været i bestanden hele tiden, men ikke givet sig tilkende før fiskene blev stresset ved sortering, (yngelen har dog langt tidligere været stresset af bl.a. bakteriel gælleinfektion og *Costia*, uden at YDS er kommet til udbrud),
- 2) bakterien er blevet overført til anlægget udefra under den forudgående sortering,
- 3) bakterien er blevet overført med *Hexamita salmonis*, der i alle tre tilfælde blev diagnosticeret forud for eller samtidigt med YDS.

På grund af de forskellige muligheder kan det ikke afgøres, om det er lykkedes at eliminere YDS-bakterien under opholdet i forsøgshuset, men det er trods alt lykkedes at holde yngelen sygdomsfri i 3 måneder. Det betyder, at den har opnået en størrelse, hvor immunforsvaret er begyndt at fungere og chancen for et mildt forløb af sygdommen med begrænset dødelighed er til stede.

I traditionelt opdræt ser man meget ofte de alvorlige udbrud af sygdommen tidligt i vækstfasen mens yngelen endnu er under 1 g/stk.. Størst dødelighed ser man i de tilfælde, hvor sygdommen

bryder ud 2-3 uger efter startfodring. Selv nyklækket yngel, hvor der endnu ikke er sket absorption af blommesækken, kan være stærkt inficeret med YDS-bakterier.

I disse forsøg opnåede yngelen en størrelse på gennemsnitligt 6,6 g/stk ( 2,2-8,7 g/stk) i det første forsøg i kummerne og gennemsnitligt 2,1 g/stk (1,8-2,2 g/stk) i det andet kummeforsøg, før YDS blev påvist. De har således været store nok til, at de kunne være vaccineret mod Rødmundsyge og bagefter holdt i et næsten smittefrit miljø i en periode indtil vaccinen virker effektivt.

I det 1. forsøg blev der også fundet kliniske symptomer på YDS i de yngel, der blev flyttet ud i henholdsvis jorddamme og det udendørs recirkulerede anlæg efter sorteringen den 26.07. og bakterien blev påvist i de yngel der blev flyttet ud efter endelig sortering og udfiskning af kummerne den 26.08. I disse hold kom det dog aldrig til et egentligt sygdomsudbrud af YDS og medicineret kom ikke på tale. Derimod blev der i nogle af de udflyttede hold medicineret mod Rødmundsyge, som blev påvist kort efter udflytningen fra kummerne. Denne sygdom er ikke i nogle af forsøgene påvist i kummerne.

I det 2. forsøg blev yngelen i kummerne efter påvisning af YDS-bakterien medicineret med florfenicol i 10 dage. Tabet i form af dødelighed var meget begrænset. YDS blev også diagnosticeret og påvist i de yngel, der efter sorteringen i kummerne den 26.04 blev flyttet til det udendørs recirkulerede anlæg. Også disse fisk blev medicineret med florfenicol. Sygdommen havde et mildt forløb med meget begrænset dødelighed.

### **4.5.3 YDS i produktionsanlæggene**

YDS er diagnosticeret i det gamle kummehus i forskellige hold yngel både i 2000 og 2001. YDS-bakterien er også påvist i kummehuset. Det fremgår af besøgsrapporterne, at ved besøg i maj-juni findes YDS ofte i hold af små yngel i kummehuset og medicineret er nødvendigt hver gang. I 2001 er YDS også diagnosticeret på flere hold yngel i kummehuset i juli og medicineret fundet nødvendigt.

Der er også fundet kliniske symptomer på YDS i de hold yngel, der er flyttet ud fra det gamle kummehus til det udendørs recirkulerede anlæg og jorddambruget, ligesom bakterien er påvist i sådanne hold. I disse anlæg har forekomsten af YDS-bakterien dog ikke medført noget alvorligt sygdomsudbrud og det har i projektperioden sjældent været nødvendigt at bruge antibiotica mod YDS.

### **4.5.4 Resumé vedrørende YDS på dambruget**

YDS-bakterien er ved de bakteriologiske undersøgelser påvist i alle dele af dambruget. YDS er også klinisk observeret i yngel i alle dambrugets forskellige anlæg, men i varierende grad.

Symptomer på sygdommen medfører ikke altid, at der kommer alvorlige sygdomsudbrud med stor dødelighed og brug af antibiotika til følge. Sandsynligvis afhænger det både af smittetryk, fiskenes størrelse, bestandstætheden, opdrætsmiljøet og management, om dette bliver tilfældet eller ej. I det gamle kummehus, der er forsynet med såvel borevand som åvand, er der mens yngelen er små ofte udbrud af YDS med større dødelighed og medicineret til følge.



I det nye forsøgskummehus med recirkuleret borevand er det lykkedes at holde yngelen fri af YDS i de første 3 måneder, således at de har opnået en størrelse, hvor de er mere robuste og kan vaccineres inden de flyttes ud til videreopdræt andre steder .

Udbrud af YDS i forsøgskummerne er kommet efter sortering og udtynding af bestandene . Fiskestørrelsen ved sorteringen var minimum 1,8 g/stk. Sygdommen i kummerne havde et mildt forløb og tabet var meget begrænset.

De foreløbige erfaringer med forsøgsanlægget har således været gode. Det er dambrugerens opfattelse, at der har været større held med og mindre tab på de hold af yngel, der er opvokset i det nye kummehus, sammenlignet med de hold der er opvokset i det gamle. På det tidspunkt, hvor yngelen er flyttet ud, har medicinforbruget i forsøgshuset været meget begrænset, sammenlignet med det gamle kummehus.

Der har ikke været de store problemer med YDS efter at yngelen er flyttet ud af kummer til henholdsvis det udendørs recirkulerede anlæg og jorddambruget. Det gælder såvel yngel fra det nye kummehus som yngel fra det gamle. Fiskestørrelsen og bestandstæthederne spiller sandsynligvis en væsentlig rolle i den sammenhæng.

I jorddambruget har der kun været få kliniske symptomer på YDS . Der har ikke i projektperioden været udbrud af sygdommen eller været brugt antibiotika, men i sommeren 2001 har der været et enkelt tilfælde, som krævede behandling med florfenicol.

I det udendørs recirkulerede anlæg har de kliniske symptomer på YDS været hyppigere og tydeligere, men større sygdomsudbrud har der ikke været og antibiotika mod YDS har i projektperioden kun været anvendt 1 gang . Det var i det hold, der blev flyttet ud fra kummerne i forsøgsanlægget den 26.04. 2001. Dødeligheden var lav og tabet som følge af YDS begrænset.

#### **4.6 Konklusion vedrørende YDS**

YDS er diagnosticeret i alle dele af dambruget. Alvorlige tilfælde, der kræver brug af antibiotika, optræder især i det gamle kummehus mens fiskene er små (under 1 g/stk).

YDS er hverken klinisk eller bakterielt påvist i yngel i forsøgsanlægget i de første 3 måneder. Først efter sortering ved en størrelse på minimum 1,8 g/stk. blev sygdommen konstateret. Sygdommen i kummerne havde et forløb med lav dødelighed og begrænset tab.

Det er opfattelsen, at forsøgsanlægget med hensyn til YDS har opfyldt sit formål om, at kunne medvirke til sygdomsforebyggelse og minimering af medicinforbruget.

For konkluderende bemærkninger om andre sygdomme end YDS henvises til bilag 3 .

## 5. Hygiejnetiltag

### 5.1 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.

### 5.2 Metode

Smutterisikoen blev forsøgt minimeret på flere måder:

#### Opbygning af forsøgshus

Bassinanlæg til moderfisk og kumme-anlæg til yngel blev etableret i hvert sit rum med hver sin separate vandforsyning og biofilteranlæg.

For at minimere smitterisikoen forsøgsanlæggene imellem og fra det øvrige dambrug, blev det besluttet, at al transport af mandskab, udstyr og fisk skulle gå gennem en sluse (forrum).

Der blev altså anlagt et forrum til hvert forsøgsanlæg. Forrummene blev anlagt så langt væk fra hinanden som muligt, dvs. i hver sin ende af bygningen. I hvert af forrummene blev der opsat håndvask med separat afløb. Forrummene blev isoleret og adskilt fra bassin/kumme anlæggene med en rulleport. Forrums størrelse: 1,5 m x 1,7 m.

#### Udstyr/materialer

Som udgangspunkt blev alt materiale og udstyr (net, vægt osv.) indkøbt som nyt. Enkelte gange har der dog været anvendt udstyr, som ikke har været nyt. Udstyret har så undergået desinfektion (Iobac P, 3 % eller Virkon S, 2 %) inden det blev transporteret ind i anlægget.

Sortering af 1. forsøgshold skete således med en sorteremaskine fra produktionsdambruget, mens 2. forsøgshold blev sorteret med nyt indkøbt udstyr.

#### Anlægsdesinfektion

Inden anlæggene blev taget i brug, blev de desinficeret med Virkon S (100g pr. 5 liter vand). Mellem yngelholdene blev anlægget (inkl. biofilter) behandlet på følgende måde:

- Vandet tilsat 10 kg Na-percarbonatværet (dette løsner alt organisk materiale fra kummesider, filter osv.)
- Tømt dagen efter.
- Vand påfyldt igen.
- Tilsat 15 kg Na-percarbonat.
- Tømt for vand.
- Alt inklusiv biofilter rengjort med højtryksrensere.
- Vand påfyldt igen.
- Tilsat 33 kg hydratkalk (0.8 kg pr m<sup>3</sup> vand), virkningstid ca. 1 uge.
- Tørlagt i 3 måneder.
- Vand påfyldt igen.
- Vand + omgivelser behandlet med Iobac P (3% opl.).
- Æg lagt ind efterfølgende.

### Håndvask, fodtøjsskift osv.

Indledningsvis blev der bestemt, at man skulle vaske hænder og skifte fodtøj, inden man gik ind i anlægget. Efter der blev konstateret Hexamita i anlægget (august 2000) blev styregruppen enige om at opprioritere hygiejnen i forrummene. SPF-selskabet (svine-branchen), som har mange års erfaringer indenfor området blev kontaktet, og der blev foretaget følgende:

- Opsat vandtæt forhøjning (10 cm) mellem forrum og forsøgsrum, for at hindre vand fra feks gummistøvler skulle kunne løbe fra det "urene" forrum til det "rene" forsøgsrum.
- Etableret trærist i over halvdel af forrum. Dette for klart at markere overgang fra urent til rent område. Træristen blev placeret, så man, efter man kommer ind i forrummene, sætter sit fodtøj nær yderdøren for derefter at træde op på risten med strømpefødder. Støvler + andet fodtøj må aldrig betræde træristen.
- Opsat to knagerækker. En anbragt nær yderdøren til det urene tøj, og en anbragt tæt på rulleporten til det rene tøj.
- Opsat desinficerende håndsæbe.
- Indkøbt nye hvide kedeldragter + hvide støvler, som altid skulle anvendes i forsøgsanlægget.
- Opsat indgangsregler i forrummene.

### Indgangsprocedure

Det blev bestemt at man så vidt muligt skulle foretage arbejdet/opsyn i forsøgsanlæggene først på dagen, inden man gik videre på det øvrige dambrug.

Det daglige arbejde skulle som udgangspunkt kun foretages af én person, for at mindske trafik ud og ind af huset.

Desuden blev der vedtaget følgende regler, som blev opsat i forrummene efter at disse var blevet færdigmonteret, så enhver, som var på vej ind i huset kunne se dem:

#### REGLER FOR ADGANG TIL FORSØGSANLÆG

1. Fodtøjs-skift : Alle der går ind i anlægget skal skifte fodtøj.  
Træristen må aldrig betrædes med andet end strømpefødder.  
Indenfor træristen må der kun benyttes de dertil beregnede "rene" støvler.
2. Håndvask : Alle vasker hænder med desinficerende sæbe hver gang man går ind .
3. Tøjskift : Alle der går ind i anlægget trækker i hvid kedeldragt (evt. over det alm. tøj).
4. Udstyr : Alt udstyr skal primært være nyt.  
Anvendes der brugt udstyr skal dette desinficeres (Iobac P, Virkon S) inden det kommer indenfor træristen.

### Gæster

Der blev desuden besluttet, at forsøgsanlægget i forsøgsperioden ikke måtte modtage gæster. Det vil sige, at ingen ud over de ansatte på dambruget, medlemmer af styregruppen og laboratorie medarbejdere måtte komme ind i huset, mens forsøget stod på.

## Foder

Alt foder til forsøgsanlæggene blev opbevaret i garage, hvor der ikke var andet foder til stede. Fodersækkene blev efter ankomst til dambruget så vidt muligt pakket ind i plasticsække. Ved transport ind i forsøgsanlægget foregik transporten i plasticsæk. I forrummet blev fodersækken løftet ud af den beskyttende plasticsæk.

## **5.3 Resultater**

På trods af de ovenstående hygiejne-tiltag lykkedes det ikke at holde smitte fra det omkringliggende dambrug ude af forsøgsanlægget.

Der blev påvist nyintroducerede bakterier/parasitter på følgende tidspunkter:

- August 2000: Påvist *Hexamita*(tarmsnylter) i yngel i forsøgshuset (kummeanlæg).
- Sept. 2000: Påvist YDS-bakterien i yngel i forsøgshuset (kummeanlæg).
- Marts 2001: Påvist *Costia* (hud/gælleparasit) på yngel i forsøgsanlæg (moderfisceanlæg).
- Marts 2001: Påvist *Costia* (hud/gælleparasit) på yngel i forsøgsanlæg (kummeanlæg).
- Maj 2001: Påvist *Hexamita* og YDS-bakterien i yngel i forsøgshuset (moderfisceanlæg).
- Maj 2001: Påvist *Hexamita* og YDS-bakterien i yngel i forsøgshuset (kummeanlæg).

## **5.4 Diskussion**

*Hexamita* og *Costia* anses som umulige at overføre med desinficerede æg. Altså er de kommet ind i forsøgshuset udefra, på trods af de smitteforebyggende tiltag.

Det kan heller ikke afvises, at de påviste YDS-bakterier også er kommet ind fra det omkringliggende dambrug.

Påfaldende er det, at begge YDS-udbrud ses lige efter, fiskene er blevet sorteret. Hvorvidt dette betyder, at fiskene smittes i forbindelse med sorteringen, eller de immunologisk svækkes, hvorved allerede inficerede fisk får kliniske symptomer, kan ikke afgøres.

Ligeledes er det påfaldende, at YDS-udbruddene bliver konstateret lige efter eller samtidig med, at der påvises tarmsnylteren *Hexamita*. Om dette blot er tilfældig vides ikke. Der har tidligere været fremsat en hypotese om, at der skulle være en sammenhæng mellem de to infektioner, uden at det har kunnet bevises.

Hvorvidt smitten til forsøgshuset er sket pga. ineffektiv desinfektion eller med kontamineret materiale, udstyr, vand, foder, hænder eller lignende er svært at afgøre. Det må blot konstateres, at når man vælger at bygge et karantæne anlæg i nær tilknytning til et eksisterende dambrug, er det meget svært at undgå smitte fra dambrug til anlæg.

Erfaringerne fra landbrugssektoren er de samme, som vi nu har konstateret. Stalde, som skal have en højere sundhedsstatus, bør ikke ligge lige i nær tilknytning til stalde med lavere sundhedsstatus. Erfaringerne fra landbruget har desuden været, at det lige i starten er særdeles svært for personalet

at overholde nye omfattende hygiejniske tiltag. Man skal bryde de daglige rutiner, og dette tager tid at få ind på ”rygmarven”.

Ligeledes bør det bemærkes, at når man anlægger et smittebrydende forrum, er det vigtigt, at det virker indbydende. Det vil sige ikke for småt, gode lys forhold, tilstrækkelig med varme og ikke fugtigt. Erfaringer viser, at det herved bliver lettere at få overholdt alle indgangsreglerne. Altså at der er god plads til at skifte tøj på, og tøjet + støvler er tørre og indbydende at skifte til.

Vores forrum blev anlagt for små. Desuden var de fugtige og kolde i vintermånederne. Fugten skyldes kondensvand, som opstår fordi huset er isoleret og luftfugtigheden relativ høj som følge af den vedvarende kraftige beluftning af vandet.

## **5.5 Konklusion**

På trods af omfattende smitteforebyggende tiltag er der i flere tilfælde påvist sygdomsfremkaldende bakterier og parasitter i de i forsøgsanlægget isolerede fisk.

Hygiejne tiltag er nødvendige.

## 6. Konklusion

- YDS-bakterien blev påvist på overflader og i organer af moderfisk, herunder i sæd- og ægvæske. Forekomsten var størst i moderfisk fra det gamle kummehus.
- Det lykkedes ikke at fjerne YDS-bakterien fra moderfisk efter 4 måneders isolation i et lukket, nyt system med recirkuleret og UV-bestrålet borevand.  
Forsøget bør gentages, da forudsætningerne i det første forsøg ikke var optimale. Alle moderfisk blev ikke sat ind i anlægget på samme tidspunkt og UV-anlægget var ude af drift i en længere periode.
- YDS-bakterien blev påvist på overfladen af nybefrugtede æg.
- YDS-bakterien blev ikke påvist inden i æggene, men det blev eksperimentelt vist, at YDS-bakterien er i stand til at overleve og formere sig i ægmassen.
- YDS-bakterien blev ikke påvist på eller i øjenæg, hverken før eller efter desinfektion.
- Desinfektionsforsøg på laboratoriet viste, at 1 % Actomar K30 kan fjerne YDS-bakterier fra ægoverfladen, men ikke 100 %. Højere koncentrationer af Actomar K30 er skadelig for æggene.
- I de recirkulerede forsøgskummer blev der hverken klinisk eller bakterielt påvist YDS i yngelen i de første 3 måneder, selvom fiskene var udsat for et betydeligt stress i form af bl.a. gælleinfektion og *Costia*.
- YDS-bakterien blev påvist og klinisk udbrud af sygdommen samtidigt konstateret i forsøgskummerne 1 uge efter, at de var blevet sorteret. Størrelsen var da minimum 1,8 g/stk. (5,5 cm).
- Udbruddet af YDS i forsøgskummerne medførte kun lav dødelighed og tabet var begrænset.
- Det er opfattelsen, at forsøgsanlægget med hensyn til YDS har opfyldt sit formål om, at kunne medvirke til sygdomsbegrænsning og minimering af forbruget af medicin og hjælpestoffer.
- YDS er diagnosticeret og bakterien påvist i yngel i alle dele af dambruget. Alvorlige tilfælde, der medfører betydelige tab og kræver brug af antibiotika, optræder især i det gamle kummehus mens fiskene er små, under 1 g/stk. (ca. 4,5 cm).
- Tarmsnylteren *Hexamita salmonis* findes i yngel i alle dele af dambruget og blev diagnosticeret i yngel i forsøgskummerne samtidigt med eller forud for YDS.
- *Costia* og *Hexamita salmonis* er parasitter, som må være tilført forsøgsanlægget udefra, da de næppe har kunnet overleve desinfektionen af øjenæggene med Actomar K30.
- YDS-bakterierne er formentlig også indført i forsøgsanlægget udefra, f.eks. i forbindelse med sortering og håndtering af yngelen. Dette sandsynliggøres af, at der for det første ikke er påvist YDS-bakterier på øjenæggene og for det andet heller ikke er påvist YDS-bakterier i alle prøverne forud for sorteringen og i forbindelse med stress-situationer som gælleinfektion og infektion med *Costia*.
- Indføring af smitte udefra er sket på trods af omfattende hygiejniske foranstaltninger og regler for færdsel til og fra anlægget.

## 7. Perspektivering og forslag til videnopbygning

Som nævnt i indledningen, er YDS en yngelsygdom, der giver meget store tab for det danske dambrugserhverv og tilsvarende problemer findes i andre europæiske lande. Sygdommen hævdes i visse lande, at være under kontrol, men borer man lidt i baggrunden for en sådan opfattelse, viser det sig, at kontrollen består i brug af antibiotika, specielt florfenicol, der for tiden er et meget effektivt middel, ligesom oxytetracyclin var for nogle år tilbage, før YDS-bakterien udviklede resistens imod det. Det kan forudses, at det i løbet af nogle år vil gå ligesådan med florfenicol, hvorefter vi så igen må finde et nyt middel.

Antibiotika kan næppe helt undværes i et intensivt opdræt af animalske fødevarer, men for at undgå problemerne med resistens i dyr og mennesker er det vigtigt, at arbejde på at minimere anvendelsen deraf. Fase II af YDS-projektet har været et led i sådanne bestræbelser og der er indhentet ny viden om YDS-bakterien og om forebyggelse af sygdommen.

Det er styregruppens anbefaling, at der fortsat bliver fokuseret på problemerne med YDS og fra det offentliges side også fremover afsættes midler til forsøg, der kan forøge vor viden om bakterien og medvirke til kontrol over sygdommen gennem forebyggelse, fremfor gennem udbredt anvendelse af antibiotika .

Der bør således i forlængelse af fase II arbejdes videre på at finde frem til et system, der effektivt kan forhindre overførsel af smitstof udefra ( horizontal smitte) og samtidig være en barriere, der modvirker overførsel af smitstof fra generation til generation (vertikal smitte).

Det kan på baggrund af undersøgelserne i den afsluttede periode forsigtigt slås fast, at anvendelsen af recirkuleret teknik til yngelopdræt, set i sammenhæng med forebyggelse af YDS og begrænsning af tab, ser ud til at være en god idé, men isolation fra andre produktionsanlæg er sammen med omfattende hygiejniske tiltag en absolut nødvendighed.

Isolation af moderfisk under tilsvarende forhold kan muligvis medvirke til brud på smittekæden eller minimering af smittetrykket fra YDS-bakterien, men spørgsmålet bør belyses nærmere gennem flere forsøg under mere optimale forhold end tilfældet har været i denne projektfase . I det gennemførte forsøg var det bl.a. uheldigt, at alle moderfiskene ikke blev sat ind i anlægget på samme tidspunkt og at UV-anlægget i en længere periode var ude af drift.

På grund af uheld, blev det heller ikke muligt i fase II, at gennemføre den planlagte uafbrudte forsøgsrække i isolation, fra indføring af moderfisk i forsøgsanlægget over opvækst af de samme moderfisks afkom i forsøgskummerne indtil udfiskning af store yngel.

Af disse årsager har styregruppen søgt om midler til gennemførelse af en fase III, hvor der specielt fokuseres på undersøgelser af isolerede moderfisk og deres afkom i det nye recirkulerede anlæg i en sammenhængende periode af 1 år, idet spørgsmålet fortsat er, om det kan lade sig gøre at udrydde YDS-bakterien i moderfisk gennem et isoleret ophold i et recirkuleret system, hvor fiskenes miljø er forsøgt optimeret og vandfornyelsen sker med rent borevand ?

I forbindelse med fase II er der indsamlet mange bakterieprøver fra moderfisk, æg, yngel og vandmiljøet i de forskellige produktionsanlæg og kun en brøkdel af dem er indtil nu beskrevet og givet en nærmere karakteristik. Der bør sættes midler af til at videreføre dette arbejde, der kan have betydning for vurderingen af smittevejene. Er der tale om forskellige typer af YDS-bakterier i de

forskellige anlæg, med forskellig patogen virkning, forskellig virulens ? Er der tale om de samme bakterietyper året rundt eller er de forskellige fra sommer til vinter ?

Arbejdet med fase II og styregruppens debat om resultaterne har rejst en række andre spørgsmål, der trænger til nærmere belysning. Nedenfor er derfor opregnet forslag til flere YDS undersøgelser og forsøg i det korte såvel som det lange perspektiv :

- 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 vandtemperatur.
- 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.
- Undersøgelser, der nærmere belyser forskellene på YDS situationen i et recirkuleret system kontra et traditionelt kummeanlæg. Hvorfor er smittetrykket større i det gamle kummehus ?
- 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 bekæmpelsen ?
- 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 eliminere YDS-bakterien i moderfiskene ved at give dem antibiotika profylaktisk i en periode ? Kan man på det grundlag 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 fjærkræbranchen vist sig at være et effektivt våben i bekæmpelsen af visse smitsomme sygdomme.
- Fase II 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.



## 8. Referencer

- Bregnballe F, Karas N & Lorenzen E (1994) Nye veje i yngelopdrættet. *Meddelelse fra Forsøgsdambruget*, nr. 84
- 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
- Dalsgaard I & Hørlyck V (1990) Koldtvandssyge eller Vintersår hos ørreder. *Ferskvandsfiskeribladet* **88**, 118-120
- Dalsgaard I & Madsen L (1997) SJVF forskningsprogrammet. ”Sygdomsforebyggelse, genetik og ernæring ved produktion af regnbueørred”: Forskningsaktiviteter på Fiskepatologisk Laboratorium, Danmarks Fiskeriundersøgelser. *Ferskvandsfiskeribladet* nr. 8, 153-156
- 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
- From J (1993) *Fiskeopdræt 1 & 2 - Ferskvandsdambrug - Fiskesygdomme hos ørred og ål*, 72 ss. Akvakulturcentret, Silkeborg.
- Holt RA, Amandi A, Rohovec JS & Fryer JL (1989) Relation of water temperature to bacterial coldwater disease in coho salmon, chinook salmon and rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health* **1**, 94-101
- Holt RA, Rohovec JS & Fryer JL (1993) Bacterial coldwater disease. I: *Bacterial diseases of fish* (eds. V Inglis, RJ Roberts & NR Bromage), ss. 3-23. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Jensen PAa (1996) Temperaturenens indflydelse på dødeligheden ved udbrud af YDS i recirkulerede anlæg. Fortsatte undersøgelser af yngeldødelighedssyndromet (YDS) hos regnbueørred, delprojekt A. Manuskript, ikke offentliggjort .
- 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
- Lorenzen E (1994) Studies on *Flexibacter psychrophilus* in relation to Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS). PhD afhandling. Statens Veterinære Serumlaboratorium, Århus & Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, København.
- Lorenzen E & Olesen NJ (1996a) Sammendrag af undersøgelser vedr. yngeldødelighedssyndromet (YDS) i perioden 1991-94 - Afsnit I. *Ferskvandsfiskeribladet*, 35-39

Lorenzen E & Olesen NJ (1996b) Sammendrag af undersøgelser vedr. yngeldødelighedssyndromet (YDS) i perioden 1991-94 - Afsnit II: Forsøg vedr. forebyggelse og behandling. *Ferskvandsfiskeribladet*, 52-56

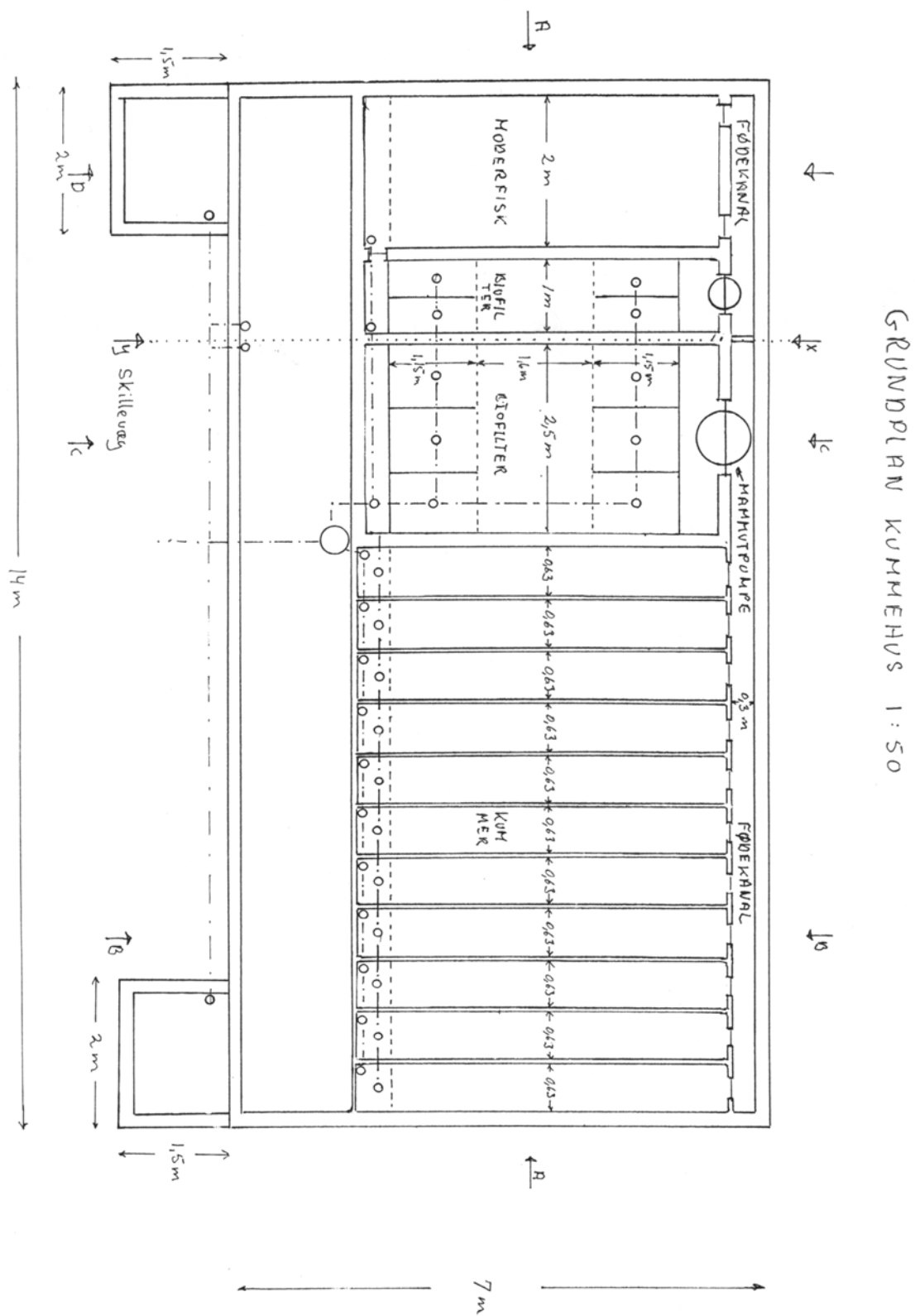
Madsen L, Wiklund T & Dalsgaard I (1999) Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatcheries: studies on broodstock, eggs, fry and environment. I: *Abstracts book of the EAFP Ninth International Conference on Diseases of Fish and Shellfish*, s. P-080. Rhodos, Grækenland, 19-24 September.

Madsen L (2000) *Flavobacterium psychrophilum* - pheno- and genotypic characterisation, experimental infection methods, and role in spinal deformities. PhD afhandling. Fiskepatologisk Laboratorium, Danmarks Fiskeriundersøgelser & Laboratorium for Fiskesygdomme, Institut for Veterinær Mikrobiologi, Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, Frederiksberg.

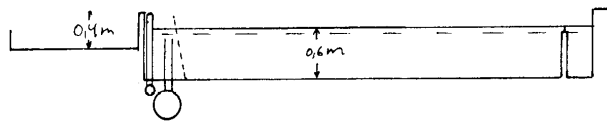
Rangdale RE, Richards RE & Alderman DJ (1996) Isolation of *Cytophaga psychrophila*, causal agent of Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS) from reproductive fluids and egg surfaces of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* **16**, 63-67

Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I, Pedersen K & Larsen JL (2000) Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Applied and Environmental Microbiology* **66**, 4908-4915

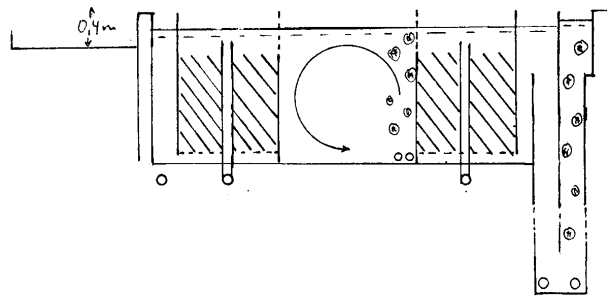
Schlotfeldt HJ & Alderman DJ (1995) *What should I do ? A Practical Guide for the Fresh Water Fish Farmer*, 60 ss. European Association of Fish Pathologists (EAFP).



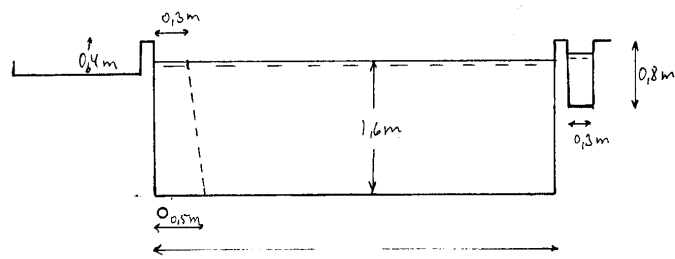
Bilag 1b



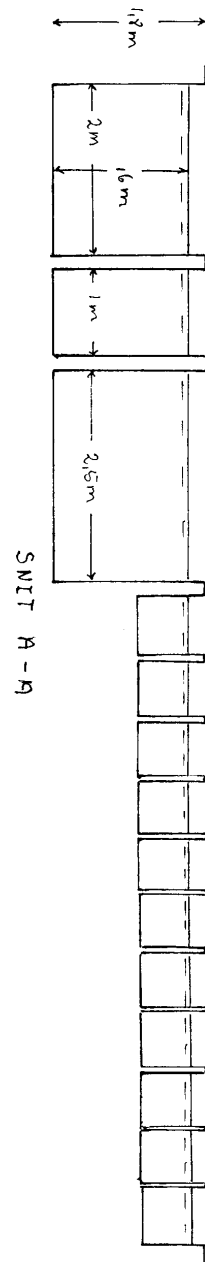
SNIT B-B



SNIT C-C



SNIT D-D



SNIT A-A

## **Bakteriologiske undersøgelser på Dambruget**

### **MODERFISK**

#### **JORDDAM**

##### **→17/2 2000 prøveudtagning**

3 hunner undersøgt.

*Fp* kun påvist i gæller fra 1 fisk.

Vandprøve: kimtal  $2,2 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist.

2 hanner undersøgt.

*Fp* ikke påvist

Vandprøve: kimtal  $1,6 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

##### **→26/4 2000 prøveudtagning**

Dam 5: 3 hunner undersøgt.

*Flavobacterium psychrophilum* (*Fp*) kun påvist i slim fra 1 fisk.

Vandprøve: kimtal  $1,9 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Sediment: kimtal  $2,0 \times 10^5$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Dam 7: 2 hanner undersøgt.

*Flavobacterium psychrophilum* (*Fp*) kun påvist i slim fra 1 fisk.

Vandprøve: kimtal  $2,8 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

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

##### **→6/7 2000 prøveudtagning**

Moderfisk (5 hunner undersøgt):

*Fp* påvist i 2 fisk, hhv. i æg fra den ene fisk samt i sår (på gatfinne) fra den anden fisk.

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

##### **→6/9 2000 prøveudtagning**

Moderfisk (5 hunner undersøgt):

*Fp* ikke påvist

Vandprøve: kimtal  $1,6 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

### →11/10 2000 prøveudtagning

5 moderfisk undersøgt.

*Fp* ikke påvist.

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

## **GAMLE KUMMEHUS**

### →17/2 2000 prøveudtagning (moderfisk overflyttet ca. 17/1-00 (borevand))

2 hanner og 3 hunner undersøgt.

*Fp* i gæller og slim (1 han) samt *Fp* i mælk og slim (1 han). *Fp* i slim og bughule (1 hun), *Fp* i slim og gæller (2 hunner). Den ene hun var endvidere positiv for *Yr* i æg, milt, hjerte og bughule (sammenvoksninger i bughulen).

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

### →13/2 2001 prøveudtagning

Moderfisk (strøget 22/12 2000)

I alt 10 styks, 5 hunner og 5 hanner. *Fp* påvist hos 4 hunner (fra ægsæk, gæller, bughule og tarm (1 hun); ægsæk, slim, gæller, bughule og lever (1 hun); ægsæk, gæller og lever (1 hun); ægsæk og gæller (1 hun)). *Fp* påvist hos alle 5 hanner (mælk, slim, gæller, tarm, nyre, hjerte og sår (1 han); mælk, slim, gæller, tarm, lever og sår (1 han); mælk, slim, gæller, hjerne og sår (1 han); mælk, slim, gæller, tarm, hjerne og sår (1 han); mælk, slim, gæller og sår (1 han)).

Vandprøver:

Indløb til kumme med hunner: kimtal  $3,0 \times 10^5$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Udløb fra kumme med hunner: kimtal  $1,0 \times 10^6$ /ml, *Fp* påvist

### →4/4 2001 prøveudtagning

Moderfisk (hunner strøget 22/12 2000 mens hanner var "nye" (ca. 40 cm lange)

I alt 10 styks, 5 hunner og 5 hanner.

*Fp* påvist hos alle 5 hunner (fra gæller og sår på halefinne (1 hun); fra ægsæk, slim, bughule, tarm, milt og sår (3 sår på hhv. næse, bugfinne samt bag fedtfinne) (1 hun); ægsæk, bughule og hjerne (1 hun); ægsæk, gæller, bughule, lever, hjerne og sår (1 hun) (endvidere *Aeromonas salmonicida* (*As*) i sår); ægsæk, slim, gæller, bughule og sår (2 sår hhv. mellem øjne samt på halefinne) (1 hun) (endvidere *As* i milt, lever, hjerne og sår på halefinne).

*Fp* påvist hos alle 5 hanner (mælk, slim, gæller og bughule (1 han); mælk, gæller, bughule, tarm og sår på halerod (1 han); mælk og gæller (1 han); slim, gæller og tarm (1 han); gæller og tarm (1 han)).

Vandprøver:

Indløb til kumme med hunner: kimtal  $9,0 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Udløb fra kumme med hunner: kimtal  $1,3 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist.

Indløb til kumme med hanner: kimtal  $4,2 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Udløb fra kumme med hanner: kimtal  $2,3 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

## FORSØGSANLÆG

### →6/7 2000 prøveudtagning

Moderfisk (1 han og 4 hunner undersøgt):  
*Flavobacterium psychrophilum* (*Fp*) ikke påvist.

Vandprøver: Før UV-filter: kimtal  $1,0 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.  
Efter UV-filter: kimtal  $8,2 \times 10^2$ /ml, *Fp* ikke påvist.

### →6/9 2000 prøveudtagning

Moderfisk (5 hunner undersøgt):  
*Fp* påvist hos 1 moderfisk (i nyre og hjerte).  
Vandprøver: Før UV-filter: kimtal  $1,6 \times 10^3$ /ml, *Fp* påvist.  
Efter UV-filter: kimtal  $6 \times 10^2$ /ml, *Fp* ikke påvist.

### →11/10 2000 prøveudtagning

5 moderfisk (hunner) undersøgt.  
*Fp* påvist hos 1 moderfisk (fra opformering af ægsæk fra umoden hun).  
Vandprøver: Før UV-filter: kimtal  $4 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.  
Efter UV-filter: kimtal  $1,3 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

### →28/11 2000 prøveudtagning

7 moderfisk undersøgt i forbindelse med **strygning**, hhv. 5 hunner og 2 hanner.  
*Fp* påvist i gælleprøver fra 2 hunner og 1 han, slimprøve fra 1 hun samt ægvæskeprøve fra 1 hun.

Vandprøver: Før UV-filter: kimtal  $2,1 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.  
Efter UV-filter: kimtal  $2,3 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.  
NB. UV-filter havde ikke virket en måneds tid.

### →18/12 2000 prøveudtagning

10 moderfisk undersøgt (alle hunner). *Fp* påvist hos 5 moderfisk, hhv. ægsæk og slim (1 fisk), ægsæk (1 fisk), ægsæk, slim og sår (1fisk), samt sår fra 2 fisk.  
Vandprøve (UV-filter virkede ikke):  
kimtal  $6,0 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist

## ÆG

### Æg fra strygning primo 2000 (gamle kummehus, lige før overflytning til forsøgsanlæg)

#### →26/4 2000 prøveudtagning

Øjenæg undersøgt før og efter desinfektion. *Fp* ikke påvist.

Vandprøve: kimtal  $6,0 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

### Øjenæg fra andet dambrug (forsøgsanlæg)

#### →12/5 2000 modtaget øjenæg fra andet dambrug

1-6 udrystet (i alt 60 æg) → TYA

7-16 (6 æg i hver prøve) → TYB    17-26 (6 æg i hver prøve) → TYB + antibiotika

Desinfektion

27-36 (6 æg i hver prøve) → TYB    37-46 (6 æg i hver prøve) → TYB + antibiotika

*Fp* ikke påvist.

#### →26/5 2000 modtaget øjenæg fra andet dambrug

Undersøgt som ovenfor, *Fp* ikke påvist.

### Æg fra strygning 28/11 2000 (forsøgsanlæg)

#### →28/11 2000 prøveudtagning

Ægundersøgelser

Ubefrugtede æg:

Opformering af hele udesinficerede æg – meget skimmelvækst.

Opformering af hele desinficerede æg – hvis overfladen har vist sig at være steril, er æggene efterfølgende blevet knust og derefter opformeret. *Fp* ikke påvist i de knuste æg.

Befrugtede æg:

Ægoverflade – *Fp* påvist (i prøve med 5 æg).

Opformering af hele udesinficerede æg – *Fp* påvist.



Opformering af hele desinficerede æg – hvis overfladen har vist sig at være steril, er æggene efterfølgende blevet knust og derefter opformeret. *Fp* ikke påvist i de knuste æg.

→4/1 2001 prøver indsendt til Fpl

Øjenægundersøgelser (øjenæg stammer fra strygning 28/11 2000)

*Fp* kunne ikke påvises på overfladen af øjenæggene (der var kraftig vækst af andre bakterier, og derfor kunne det indre af æggene ikke undersøges)

Æg fra strygning 22/12 2000

→24/1 2001 prøver indsendt til Fpl

Øjenægundersøgelser (øjenæg stammer fra strygning 22/12 2000)

Udes. øjenæg (på dambruget):

*Fp* ikke påvist, dog optaget gule isolater fra overflade samt knuste æg der ikke var *Fp*

Des. øjenæg (på dambruget):

*Fp* ikke påvist, dog optaget gule isolater fra overflade samt knuste æg der ikke var *Fp*

YNGEL

**JORDDAM**

→6/9 2000 prøveudtagning

Yngel (5 undersøgt) med formodet rødmundsyge (stammer fra tidligere batch):

*Fp* påvist hos 3 fisk, hhv. fra slim hos 2 fisk, samt gæller hos 1 fisk. *Yr* fundet i alle indre organer hos 1 fisk.

**GAMLE KUMMEHUS**

→6/7 2000 prøveudtagning

Yngel (10 undersøgt):

*Fp* påvist i 3 fisk, hhv. i slim fra den ene fisk, gæller fra den anden fisk samt både i slim og gæller fra den tredje fisk.

Vandprøver: indløb: kimtal  $7,4 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

udløb: kimalt  $8,0 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.  
Vandprøver blev taget fra kumme hvori undersøgte yngel gik.

**→6/9 2000 prøveudtagning**

Yngel (5 undersøgt) flyttet ud fra gamle klækkehus til udendørs recirkuleringsbassin:  
*Fp* påvist i 4 fisk fra gællerne.  
Vandprøve: kimalt  $5,2 \times 10^6$ /ml, *Fp* påvist.

**Hold i forsøgsanlæg (øjenæg fra andet dambrug fra maj 2000)**

**→16/6 2000 prøver udtaget af HK**

10 yngel med gælleproblemer undersøgt. Ingen patogener påvist.  
Gelé-agtig substans fra klækkerender undersøgt: bl.flora påvist

**→6/7 2000 prøveudtagning**

Yngel (10 undersøgt):  
*Fp* ikke påvist.

Vandprøver: Før UV-filter: kimalt  $1,2 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.  
Efter UV-filter: kimalt  $1,7 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

**→6/9 2000 prøveudtagning**

Yngel (5 undersøgt):  
*Fp* påvist hos alle 5 fisk fra hhv. gæller hos 1 fisk, gæller og bughule hos 1 fisk, slim hos 1 fisk, gæller, tarm, milt og hjerte hos 1 fisk, gæller og milt hos 1 fisk.  
Vandprøver: Før UV-filter: kimalt  $6 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist  
kimalt  $1,6 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist  
Efter UV-filter: kimalt  $3,6 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist  
kimalt  $5,1 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist

Yngel (5 undersøgt) fra udendørs recirkuleringsbassin (flyttet ud fra nye kummehus):  
*Fp* påvist hos 3 fisk fra hhv. slim hos 1 fisk og gæller hos 2 fisk.  
Vandprøver: kimalt  $6,8 \times 10^6$ /ml, *Fp* ikke påvist, men *Yr* blev påvist

Yngel (5 undersøgt) fra jorddam (flyttet ud fra nye kummehus):  
*Fp* ikke påvist.  
Vandprøver: kimalt  $2,2 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist

**→11/10 2000 prøveudtagning**

10 yngel undersøgt (flyttet ud fra forsøgsanlæg til udendørs recirkuleringsbassin efter sidste prøvetagning 6/9 – der blev på daværende tidspunkt konstateret *Fp* i fiskene).

*Fp* påvist i slimprøve fra 1 fisk.

Vandprøve: kimtal  $3,1 \times 10^5$ /ml, *Fp* ikke påvist.

**Lille hold ved moderfiskeanlæg i forsøgsanlæg (fra strygning 28/11 2000)**

**→13/2 2001 prøveudtagning**

Yngel 10 styks. *Fp* ikke påvist.

**→16/3 2001 prøver udtaget af NHH**

Yngel i moderfiskehus, milt 3 fisk, gæller 3 fisk, hud 1 fisk. YDS - ikke påvist. (NHH diag, Costia).

**→26/3 2001 prøver udtaget af NHH**

Yngel i moderfiskehus, milt 3 fisk. YDS - ikke påvist. (NHH diag, Costia).

**→4/4 2001 prøveudtagning**

Yngel 10 styks. *Fp* ikke påvist.

Vandprøve:

Gennemstrømning ved udløb: kimtal  $6,3 \times 10^4$ /ml, *Fp* ikke påvist.

**→9/5 2001 prøveudtagning**

(fisk udtaget af PAA, samt transporteret levende med bil og tog, BU foretaget samme aften).

Prøver udtaget fra slim, gæller, bughule, tarm, milt, nyre, lever og hjerne hos ynglen.

Yngel (lille batch ved moderfiskeanlæg) (fra strygning 28/11 2000), 10 styks. *Fp* påvist i bughuleprøve fra 1 fisk.

Vandprøve: kimtal  $4,0 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

**→16/5 2001 prøveudtagning**

(fisk udtaget af PAA, transporteret levende med bil, BU foretaget samme aften).

Prøver udtaget fra slim, gæller, milt, nyre og hjerne hos ynglen.

Yngel 8 styks. *Fp* påvist i slim, gæller, nyre, milt og hjerne hos 6 fisk samt i slim og gæller hos yderligere en fisk.

## Yngel stort hold i forsøgsanlæg (fra strygning 22/12 2000)

### →13/2 2001 prøveudtagning

Blommesæk yngel 10 styks. *Fp* ikke påvist.

Vandprøver (3 styks: før UV-filter, efter UV-filter samt i fiskekumme): *Fp* ikke påvist.

### →26/3 2001 prøver udtaget af NHH

Yngel i nyt kummehus, milt og gæller 4 fisk. YDS - ikke påvist. (NHH diag, Costia).

### →4/4 2001 prøveudtagning

Yngel 10 styks. *Fp* ikke påvist.

Vandprøver:

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

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

### →3/5 2001 prøver udtaget af NHH og PAA

Yngel i forsøgsanlæg, milt fra 5 fisk, *Fp* påvist i alle 5 prøver.

### →9/5 2001 prøveudtagning

(fisk udtaget af PAA, samt transporteret levende med bil og tog, BU foretaget samme aften).

Prøver udtaget fra slim, gæller, bughule, tarm, milt, nyre, lever og hjerne hos ynglen.

Yngel (fra strygning 22/12 2000), 10 styks (små yngel efter sortering). *Fp* påvist fra slim og gæller hos 1 fisk, gæller hos 3 fisk, gæller og indre organer hos 1 fisk samt fra slim, gæller og indre organer hos 5 fisk.

Vandprøve: kimtal  $1,6 \times 10^4$ /ml, *Fp* påvist.

Yngel (fra strygning 22/12 2000), 10 styks (stor yngel efter sortering). *Fp* påvist fra gæller hos 2 fisk, indre organer hos 1 fisk samt gæller og indre organer hos 1 fisk.

## **YNGEL I RECIRKULEREDE JORDDAMME**

## Yngel flyttet ud fra forsøgsanlæg (fra strygning 22/12 2000)

### →3/5 2001 prøver udtaget af NHH og PAA

Yngel i recirkulerede jorddamme (flyttet ud fra forsøgsanlæg), milt fra 5 fisk, *Fp* påvist i alle 5 prøver

**→9/5 2001 prøveudtagning**

(fisk udtaget af PAA, samt transporteret levende med bil og tog, BU foretaget samme aften).  
Prøver udtaget fra slim, gæller, bughule, tarm, milt, nyre, lever og hjerne hos ynglen.

Yngel (fra strygning 22/12 2000), 10 styks. *Fp* påvist fra slim og gæller hos 2 fisk samt slim, gæller og indre organer hos 8 fisk.

Vandprøve: kimtal  $2,6 \times 10^5$ /ml, *Fp* påvist

## **ANDRE UNDERSØGELSER**

**→28/11 2000 prøveudtagning**

***Fp*-infektionsforsøg under befrugtningen:**

Ægoverflade – *Fp* påvist (i prøve med 5 æg).

Opformering af hele udesinficerede æg – *Fp* påvist.

Opformering af hele desinficerede æg – *Fp* påvist fra overfladeopformering i 6 prøver.

I de prøver hvor overfladen har vist sig at være steril, er æggene efterfølgende blevet knust og derefter opformeret. 9 ud af 17 prøver med knuste æg var sterile; *Fp* ikke påvist i knuste æg

**→14/3 2001 nystrøgne jomfruæg til YDS overlevelsesforsøg (laboratorieforsøg)**

Forskellige forsøg afprøvet, æg desinficeret, skyllet i steril vand, herefter klippet itu, sonikeret, bakterier tilsat æg + ægvæske og inkuberet. De foretagne undersøgelser viste, at YDS-bakterien kan leve, vokse i ægindhold. Men kommer den ind i ægget?

**→24/1 2001 prøver indsendt til Fpl**

Vandprøver (nye kummehus til yngel) – ingen fisk i vandet:

Før UV-filter: kimtal  $7,5 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

Efter UV-filter: kimtal  $1,8 \times 10^3$ /ml, *Fp* ikke påvist.

## **Bilag 3 : Sygdomsforløb og behandling**

### **1. Indledning**

I *kapitel 4* er resultaterne af de kliniske observationer og sygdomsudbrud i forsøgsanlægget og produktionsanlæggene kort omtalt og de kliniske tilfælde af YDS diskuteret og konkluderet. Som et supplement dertil er i dette afsnit givet en nærmere beskrivelse af sygdomsforløbene og deres behandling.

Emner som skimmelsvamp på øjenæg i klækkefasen, problemer med startfodring af yngel, bakteriel gælleinfektion, parasitangreb og det stress på yngel, disse sygdomme og deres behandling medfører, hører måske naturligt sammen med en diskussion om det recirkulerede anlægs funktion og vandkvaliteten, men har i høj grad også relation til YDS. Disse emner er diskuteret hér og afsnittet sluttet af med konkluderende bemærkninger om alle andre sygdomsudbrud end YDS.

### **2. Sygdomsudbrud og behandling i 2000**

#### **2.1 Yngel af en stamme fra et andet dambrug i forsøgsanlægget**

Få dage efter startfodring indtrådte dødelighed i bestanden og ved den kliniske undersøgelse den 10.06. blev der konstateret *bakteriel gælleinfektion*. Årsagen til problemet var sandsynligvis, at der udfældedes "slim" i vandmassen og en gelé substans over bunden. Sådanne udfældninger, der bl.a. består af en blanding af metalsalte og bakterier, optræder typisk i frisk vand i nye anlæg, indtil vandet er konditioneret og balance i de biologiske systemer er opnået.

Desinfektion var nødvendigt og da de almindeligt brugte desinfektionsmidler er meget vanskelige at dosere i recirkulerede anlæg uden at filterhudens bakterier påvirkes eller dræbes, blev foreslået en gradvis opsaltning af anlægget ved støddosering i vandet med fodersalt (jodfri NaCl).

*Badning i saltvand* fandt sted i perioden 10.-16. juni . Den første dag blev der tilført anlægget 50 kg salt, svarende til ca. 0,1 % saltopløsning (vandvolumen ca. 42.000 liter). Allerede dagen efter var indtrådt en mærkbar bedring. De følgende dage blev suppleret op med 10 kg salt om dagen. Slim og belægninger af bakterier på gællerne aftog gradvist, dødeligheden aftog og gelé-massen i vandet udfældedes som klumper, der kunne fjernes. Den 19.06. blev der ved en klinisk undersøgelse stadig fundet påvirkede gæller og der blev igen suppleret op med 15 kg salt, men der var indtrådt en mærkbar bedring og dødeligheden var ophørt. Saltbadning måtte gentages den 30.06., hvor der blev sat 100 kg salt til anlægget, svarende til en opløsning på ca. 0,2 %.

Den 03.08. blev der igen konstateret bakteriel gælleinfektion og dødelighed i bestanden, efter et uheld med pumpevigt og kortvarigt afbrud af friskvandsforsyningen dagen før. Uheldet havde medført, at der en kort overgang havde været et meget højt nitratniveau i anlægget, hvilket efter al sandsynlighed har udløst gælleinfektionen. Vandudskiftningen blev en overgang øget til 5 l/min og der blev den 05.08. tilført anlægget 100 kg salt. Herefter blev fiskene raske.

Gælleinfektionerne som følge af startvanskelighederne og pumpeuheldet bevirkede tilsammen en dødelighed på ca. 23 % af startantallet af yngel, jævnfør driftsresultaterne.

Ved den kliniske undersøgelse den 03.08. blev der også konstateret tilstedeværelse af flagellaten Hexamita salmonis i tarmen af alle de undersøgte fisk. Der kunne ikke foreslås nogen behandling herfor, da der i Danmark ikke længere findes godkendte midler til bekæmpelse af denne udbredte og smitsomme parasit i yngel. Det er uvist, hvad Hexamita har betydet for dødeligheden. Den optrådte først i forsøgsanlægget efter at yngelen var blevet sorteret den 26. 07. og holdet af store yngel var udflyttet til dambrugets produktionsanlæg.

Som det ses af oversigten i kapitel 4, blev der ikke på noget tidspunkt ved de kliniske undersøgelser fundet bakterielle symptomer i forsøgsanlæggets bestand, herunder heller ikke tegn på YDS . De bakteriologiske prøver viste heller ikke vækst af bakterier i de 3 sommermåneder juni, juli og august, jævnfør kapitel 3.

Ved den afsluttende sortering og udfiskning af forsøgsanlægget den 26. 08. blev en mindre portion flyttet til det udendørs recirkulerede anlæg og en større portion flyttet til et andet dambrug. Kun en lille rest yngel forblev efter sorteringen i forsøgskummerne. Der blev ikke på dette tidspunkt foretaget en klinisk undersøgelse af fiskene, men ved en bakteriologisk prøvetagning den 06.09. fandtes YDS-bakterier i alle de undersøgte individer, ligesom vandprøverne fra anlægget nu var positive, jævnfør kapitel 3.

## **2.2 Yngel flyttet fra forsøgsanlægget til det udendørs recirkulerede anlæg**

Den 03.08. viste kliniske undersøgelser af yngelen, der den 26.07. var flyttet fra forsøgskummerne til det udendørs recirkulerede anlæg, symptomer på Rødmundsyge og Fiskedræber. I nogle fisk var der samtidigt også symptomer på YDS.

Infektionen af Fiskedræber blev søgt slået ned med formalin, da dette anlæg i nogen grad er vænnet til formalinbehandling. Rødmundsygen blev bekæmpet med Tribriksen Vet. i foderet i 8 dage. Der blev ikke foreslået en særlig indsats imod YDS og sygdommen udviklede sig ved denne lejlighed ikke yderligere.

Da der den 26.08. igen blev overført yngel fra forsøgsanlægget til det udendørs recirkulerede anlæg, blev der ikke foretaget kliniske undersøgelser af yngelen, men i bakterieprøverne fra den 06.09. blev YDS-bakterier også påvist i denne yngel, ligesom de blev påvist i restbestanden i kummerne.

Det skal også nævnes, at der kort tid efter transporten kom udbrud af YDS i det hold yngel, der den 26.08. blev overflyttet fra forsøgsanlægget til et andet dambrug.

Den 03.10. blev der foretaget klinisk undersøgelse af det hold yngel (nu 10 cm), der blev overført fra forsøgsanlægget den 26.07. og diagnosticeret Rødmundsyge ,bakteriel gælleinfektion og Hexamita salmonis (få). Der var allerede påbegyndt en kurativ behandling af rødmundsygen med Branzil Vet. og behandlingsforslaget gik derfor ud på, at gøre denne kur færdig og i øvrigt prøve med et brintoverilteholdigt desinfektionsmiddel for at rette op på gællernes tilstand.

Efter afslutning af behandlingen med antibiotika blev der i en prøve fra den 11.10. påvist YDS-bakterier i gællerne fra en enkelt ud af 10 fisk i prøven, men der var ikke og viste sig heller ikke siden kliniske tegn på YDS i bestanden.

Den 08.12. i en vejræssigt mild periode blev der i dette anlæg igen diagnosticeret Rødmundsyge sammen med massiv infektion af hudsnylteren Glossatella og desuden optrådte Hexamita salmonis

igen i bestanden. Undersøgelsen var i det hold, der blev overflyttet fra forsøgskummerne den 26.07. Det var nu blevet til sættefisk på 30-50 g/stk..

Der blev sat en kur i gang med Branzil Vet. tilblandet foderet i 8-10 dage. Efter at dødeligheden var overstået og kuren ophørt, kom der imidlertid lidt dødelighed igen og en del fisk svømmede unaturligt på siden. Problemerne opstod efter at der havde været et temperaturfald lige før jul.

Da der samtidigt var problemer med foderet blev der efter nytår med foderfirmaets medvirken indsendt en del prøver af fisk til analyse. Der var ingen kliniske tegn på YDS eller Vintersår i fiskene, men i de bakteriologiske prøver af forskellige organer fra fiskene blev YDS-bakterien påvist i hjernen. Dette kan muligvis have medvirket til den abnorme svømmeadfærd og sygdomskomplekset, der medførte en vis lav dødelighed gennem længere tid.

Da symptomer og dødelighed langsomt forsvandt efter foderskifte, kan det dog heller ikke udelukkes, at problemerne har været relateret til foderet, ligesom faldet i temperatur kan have været en medvirkende årsag.

### 2.3 Yngel flyttet fra forsøgsanlægget til jorddamme

I yngel, der var flyttet fra forsøgsanlægget til jorddamme, fandtes den 03.08. i nogle fisk symptomer som blege gæller, bleg lever, bleg og skør tarm, grålig nyre og stor milt. Desuden var disse fisk anæmiske og med enkelte ubevægelige stavbakterier i blodet. Det er alt sammen typiske kendetegn for YDS. Der blev også diagnosticeret enkelte Fiskedræber på huden samt bakteriel gælleinfektion. Der blev foreslået desinfektion med blåsten og kloramin-T for at helbrede gællerne, og afvente om YDS situationen udviklede sig yderligere. Der kom imidlertid aldrig et egentligt sygdomsudbrud af YDS og der blev ikke givet medicin.

Yngel af dette hold blev undersøgt igen den 04. 09. og atter blev der diagnosticeret kraftig bakteriel gælleinfektion og Fiskedræber. Desuden var der i enkelte fisk typiske symptomer på Rødmundsyge. Behandlingsforslagene var sultning af fiskene samt intensiv desinfektion med blåsten og kloramin-T i en uge, dernæst formalin til decimering af Fiskedræber, men først når gællerne var bedre. Antibiotika mod Rødmundsyge kom kun på tale, hvis sygdommen udviklede sig, men det blev ikke nødvendigt.

De bakteriologiske prøver af dette hold yngel fra 06.09. viste ikke vækst af fiskepatogene bakterier.

### 2.4 Yngel af dambrugets egen stamme i det gamle kummehus

Den 23. 05. 2000 blev der i yngelhold (3-4 cm) i det gamle kummehus diagnosticeret bakteriel gælleinfektion og Hexamita salmonis og i de mindste yngel (2,5-3 cm), som netop var startfodret, desuden YDS. Gælleinfektionen blev forholdsvis hurtigt slået ned ved desinfektion af vandet med kloramin-T og YDS med florfenicol tilsat foderet i 10 dage.

Der blev ikke ved denne lejlighed udtaget bakterielle prøver, men YDS-bakterien blev senere påvist i prøver af yngel (4-5 cm) fra kummehuset den 06.07., jævnfør kapitel 3.

### 2.5 Yngel af dambrugets egen stamme i det udendørs recirkulerede anlæg

I yngel (> 5 cm), der var flyttet ud fra det gamle kummehus, blev der den 20.07. diagnosticeret YDS i udbrud og YDS-bakterien blev påvist i alle 10 individer, der blev undersøgt bakteriologisk.



ERM-bakterien (*Yersinia ruckeri*), der forårsager Rødmundsyge, blev samtidig påvist i 1 af de 10 individer. Der blev ved denne lejlighed foreslået bekæmpelse af YDS med florfenicol tilsat foderet i 10 dage. Dambrugeren har imidlertid efter eget udsagn ikke behandlet disse fisk for YDS, men derimod senere for Rødmundsyge med Tribriksen Vet.

YDS-bakterien blev igen påvist i bakterieprøver fra den 06.09. af dette hold yngel (6-8 cm), men heller ikke ved denne lejlighed fandt dambrugeren anledning til medicinsk behandling mod sygdommen.

## **2.6 Yngel af dambrugets egen stamme i jorddamme**

Den 04.09. blev der i større yngel og sættefisk i en række damme klinisk diagnosticeret bakteriel gælleinfektion, Fiskedræber og Rødmundsyge.

Behandlingsforslagene var, at gå i gang med at behandle gælleproblemet straks og samtidigt starte en medicinsk behandling af Rødmundsyge med Branzil Vet. tilsat foderet i 8 dage.

Til løsning af gælleproblemet anbefalede, at desinficere med blåsten først og siden med kloramin-T. Når gællerne var i bedring kunne fortsættes med formalin eller alternativt natriumpercarbonat jævnlige i en periode for at decimere antallet af Fiskedræberens sværme.

Den 3/11 blev der i fisk, som nu er af størrelse 30 stk/kg igen diagnosticeret Rødmundsyge samt enkelte Fiskedræber og nu også Gyrodactylus på hud og finner. Desuden blev der fundet Hexamita salmonis i tarmen på enkelte fisk. Rødmundsygen blev slået ned med Branzil Vet. i foderet og hudsnylterne med formalin.

Der blev ikke på noget tidspunkt fundet kliniske symptomer på YDS i dambrugets egne fisk i jorddamme, heller ikke efter perioder med intensivt stress og svækkelse af fiskene som de ovenfor nævnte, hvilket er bemærkelsesværdigt, da man i konsulenttjenestens arbejde på dambrug jævnligt konstaterer, at YDS kommer til udbrud i forlængelse af en medicinsk behandling mod andre bakterielle infektioner.

Der er dog ved de bakteriologiske undersøgelser den 06.09. påvist YDS-bakterier i nogle af disse fisk.

## **3. Sygdomsudbrud og behandling i 2001**

### **3.1 Det lille hold yngel isoleret i moderfiskeanlægget**

I de første 2 måneder er der ikke registreret problemer af nogen art, bortset fra at yngelen ikke voksede, som de skulle. Der var ingen sygdom at se før midt i marts, hvor der pludseligt opstod en situation med bakteriel gælleinfektion, svamp og Costia. Det blev ved den lejlighed noteret, at der var foderrester i renden, som fiskene gik i.

Parasitterne blev forsøgt udryddet ved desinfektion med formalin, men gælleinfektionen kom bestanden aldrig helt af med igen, trods gentagne desinfektioner med især kloramin-T, der plejer at være meget effektivt. Gælleinfektionen udviklede sig nærmest til en kronisk tilstand og har sandsynligvis medvirket til den manglende appetit og dårlige vækst sidst i perioden.

Der blev ikke ved de kliniske undersøgelser fundet bakterielle symptomer og ikke ved de bakterielle prøvetagninger fundet vækst af fiskepatogene bakterier, før symptomer på *YDS* pludseligt optrådte i en del fisk i begyndelsen af maj sammen med tarmparasitten *Hexamita salmonis*. YDS-diagnosen blev bekræftet ved bakterielle prøvetagninger den 09.05.

Der blev ikke fundet anledning til at give antibiotika, da dødeligheden var lav.

Det har været betegnende for dette hold yngel, at der aldrig har været iagttaget særligt mange syge fisk med afvigende udseende eller adfærd i bestanden og heller aldrig nogen stor dødelighed, hverken som følge af gælleinfektion, *Costia* eller YDS. Det er 3 sygdomme, der for det meste giver anledning til stort dødsfald. Der har mere været tale om et jævnt frafald henad vejen og ifølge dambrugeren er hovedårsagen til dødelighed, at en hel del fisk er sprunget ud af renden og havnet på betongulvet. Baseret på de omtrentlige tal for indsat og udfisket antal har der været et totalt frafald på ca. 24 % af startantallet.

### 3.2 Yngelen i forsøgsanlæggets kummer

Øjenæggene var sat ind den 22.01. 2001 og klækkede i perioden 28.01.– 05.02. . Yngelen blev fordelt på 6 kummer og startfodret heri den 17.02. En måned senere blev de fordelt på i alt 10 kummer og herefter ikke håndteret igen før sortering og udtynding den 26.04. Restbestanden blev udfisket den 26.06.. I opvæksttiden var der 3 perioder med sygdom og forhøjet dødelighed :

*Den 1. periode* var i selve klækkefasen. Som det ses af listen over observationer kom der dødelighed og *svamp* i øjenæggene allerede få dage efter, at de var lagt i klækkebakker i toppen af kummerne. Vandtemperaturen på klækketidspunktet var 9-10 ° C. Æggene klumpede meget og det blev værre, da klækningen gik i gang og vandet derfor begyndte at skumme kraftigt.

Da der efter få dage var tale om stor æg dødelighed og situationen var ude af kontrol, blev det besluttet at prøve at bade æggene i saltvand af lav koncentration, selvom det netop i denne fase kunne medvirke til tvangsklækning som følge af chokvirkning og dermed risiko for stærkt forhøjet dødelighed.

Der blev først prøvet med et par bakker æg, som blev badet i 1 % saltvand i 1 time. Forsøget viste, at allerede efter 10 min. var der kraftig reduktion af svampen og efter 20 min. var de sammenvoksede klumper på bunden i opløsning. Æggene løsnedes og dødt materiale kunne fjernes. Da der dagen efter tilsyneladende heller ikke havde vist sig skader eller dødelighed på æg og allerede klækket blommesæknyngel, blev det besluttet at bade alle æggene efter nedenstående fremgangsmåde .

*Badning af klækningsmoden øjenæg i saltvand* : I en kumme blev der lukket for tilløb og afløb og vandvolumen i kummen beregnet. Der blev installeret en lille pumpe, som returpumpede vandet fra afløbsenden af kummen til indløbet. Fodersalt (jodfri NaCl) blev tilsat kummens indløbsende i en beregnet mængde svarende til, at saltopløsningen i kummen ville være ca. 0,5 % . Klækkebakkerne blev herefter forsigtigt overflyttet til kummen og badet i saltvandet i 20-30 minutter. Der kunne bades 6 bakker ad gangen i kummen og det varede cirka 2½ time at bade alle 35 bakker med æg. Målinger af saliniteten i kummen viste variation, men den oversteg ikke på noget tidspunkt 0,6 %.

De klækkende øjenæg blev saltbadet 2 gange i løbet af den uge klækningen varede og efter dambrugeren opfattelse er der ved processen reddet mange æg fra at gå til grunde af svamp.

Det vurderes, at det samlede svind i perioden fra indsætning af æg den 22.01. til startfodring i kummer den 17.02. udgør ca. 15 % af startantallet. En væsentlig del heraf skyldes dødeligheden som følge af svamp ved klækningen.

Kort efter startfodringen var der en periode med ustabil vandkvalitet og enkelte døde yngel. Dambrugeren var ikke tilfreds med foderet, og skiftede foderfabrikat 8 dage efter startfodring. Ved en klinisk undersøgelse i denne periode havde yngelen hævet gælleepithel med bakterier mellem gællebuerne, men situationen udviklede sig ikke yderligere og gav ikke anledning til særlige foranstaltninger. Dødeligheden var meget begrænset. Derimod var der i perioden et vist svind på grund af utætheder ved ristene i kummerne.

Den 2. periode med sygdom kom sidst i marts, lige efter at yngelen var blevet fordelt på alle kummer og der var opsat nye foderautomater, hvilket havde medført en del foderspild. Umiddelbart efter var der problemer med fiskene og en klinisk undersøgelse den 26.03 viste en massiv infektion med Costia og kraftig bakteriel gælleinfektion. Situationen blev fulgt tæt, indtil angrebet var overstået den 04.04.

Formalin er det desinfektionsmiddel, der bedst slår en infektion med Costia ned, men da fiskenes gæller var meget dårlige og anlæggets biofilter ikke var vænnet til det, ville der være stor risiko forbundet med at anvende formalin. Der blev dog prøvet i en enkelt kumme med en meget lavere dosis end normalt anvendt, men yngelen reagerede meget kraftigt herpå, hvorfor yderligere forsøg i den retning blev opgivet. Heller ikke kloramin-T til bekæmpelse af gælleinfektionen kunne der i første omgang være tale om anvende, da det påvirker biofilterets funktionsevne meget .

Alternativet var at prøve støddosering med salt, ligesom i sommeren 2000, men der var ikke nogen forhåbning om den store succes overfor Costia. Der blev startet med 200 kg fodersalt (til ca.42.000 liter vand ) i anlægget. Dagen efter blev saliniteten målt til 0,3 % i anlægget og en klinisk undersøgelse viste, at næsten alle Costia nu var væk. Ved en ny undersøgelse 2 dage efter salttilsætningen blev der ikke fundet Costia. Vandet var nu blevet grumset, men af hensyn til bekæmpelsen af gælleinfektionen blev der givet salt en gang mere, men denne gang 250 kg, svarende til en koncentration på ca. 0,6 %. Efter 8 dage var yngelen helbredt.

Alle døde fisk fra perioden blev vejede og ud fra en anslået yngelstørrelse på 1 g udgør den samlede dødelighed i denne periode kun ca. 2500 stk., under 1 % af det totale antal.

Der blev ikke i perioden fundet symptomer på bakterielle infektioner og bakterieprøverne påviste heller ikke vækst af fiskepatogene bakterier.

Den 3. periode med sygdom begyndte en uge efter at yngelen den 26.04. var blevet sorteret og udtyndet, jævnfør afsnittet med driftsresultater. Her viste en klinisk undersøgelse den 03.05, at der var YDS og Hexamita salmonis i bestanden og YDS diagnosen blev bekræftet ved dyrkning af prøver fra 3. og 9. maj.

Der optrådte ikke mange synligt syge fisk i kummerne og dødeligheden var ikke voldsom. En konstant lav dødelighed var karakteristisk. Yngelen blev medicineret med florfenicol tilblandet foderet i 10 dage. Periodens dødelighed indtil kuren var overstået den 20.05. kan ud fra resultatet af opvejninger anslås til kun at udgøre ca. 6 % af det antal fisk, der var tilbage i kummerne efter udtyndingen den 26. april.

I perioden efter den 20. maj var der meget få syge fisk at se i anlægget. Undersøgelser af disse viste bakteriel gælleinfektion samt fortsat symptomer på YDS og nogle gange *Hexamita salmonis*. Ved besøget den 21.05. var vandet grumset og der havde igen været problemer med foderet, hvilket kan være årsag til gælleinfektionen. Der var frem til udfiskningen den 26.juni en konstant lav dødelighed i anlægget på 10-15 individer om dagen .

### 3.3 Yngel flyttet fra forsøgsanlægget til det udendørs recirkulerede anlæg

Efter sorteringen i forsøgskummerne den 26.04. blev der overflyttet 519 kg yngel til det udendørs recirkulerede anlæg, hvor de blev fordelt på de 5 jorddamme i anlægget. Fiskene havde på dette tidspunkt en middelvægt på ca. 2,2 g/stk.

Ligesom i forsøgskummernes restbestand blev der ved en klinisk undersøgelse af de udflyttede fisk den 03.05. konstateret YDS i bestanden og diagnosen blev senere bekræftet af dyrkningssvarene fra Fiskepatologisk Laboratorium. Yngelen var også nyinficeret med et stort antal små Fiskedræber.

Kort efter undersøgelsen blev der tilført anlægget formalin i en større dosis, hvilket åbenbart har været nok til at slå parasitten ned, eller blev gjort på et strategisk rigtigt tidspunkt. I hvert fald blev Fiskedræber ikke genfundet ved den kliniske undersøgelse af yngelen den 09.05.

YDS blev derimod genfundet den 09.05. og dagen efter startede en medicinsk behandling med florfenicol tilsat foderet i 10 dage.

Ved besigtigelsen af de 5 damme den 03.05. kunne man tydeligt se en del syge fisk langs kanterne, men ikke voldsomt mange og der var kun ganske få døde fisk. Dødeligheden steg i de følgende dage indtil antibiotikaen fik billedet til at vende. Dødeligheden er ikke registreret, men var ikke på noget tidspunkt i forløbet særlig høj og efter medicineringen ophørte den helt.

Disse fisk blev senere på sommeren angrebet af gælleparasitten Trichodinella, der optrådte i meget stort antal på fisk i hele det recirkulerede anlæg. Ved undersøgelsen var dødeligheden meget begrænset og infektionen blev hurtigt slået ned med formalin, som man er vant til at bruge i dette anlæg.

Det bør nævnes, at det udendørs recirkulerede anlæg forud for overflytning af yngelen fra forsøgskummerne havde været tørlagt og desinficeret, men man havde undladt at tørlægge biofilteret, da det efterfølgende ville være for længe at få gang i det igen. Denne undladelse kan være årsagen til, at bakteriel smitte kan overleve i anlægget og overføres til ny indsat yngel, eller som i dette tilfælde at yngelen kunne blive angrebet af Fiskedræber kort efter indsætningen i anlægget.

### 3.4 Anden yngel i produktionsanlæggene

Det fremgår af listen over observationer i kapitel 4, at YDS ligesom i 2000 er blevet diagnosticeret i det gamle kummehus, Rødmundsyge i det gamle kummehus og jorddambruget og Hexamita salmonis i alle produktionsanlæggene. Desuden har flere arter af hudsnyltere optrådt ved forskellige lejligheder.

## 4. Diskussion

Hvad YDS angår henvises til diskussionen og konklusionen i kapitel 4. Her diskuteres de øvrige sygdomsforløb og deres behandling.

### 4.1 Skimmelsvamp på øjenæg i klækkefasen

Både i 1. og 2. forsøgsperiode blev øjenæg lagt til klækning i det recirkulerede vand, idet klækkebakkerne var hængt op i toppen af kummerne.

I de forskellige hold af æg begyndte klækningen 5 – 8 dage efter indflytningen, ved en temperatur på ca. 9 °C i 2. forsøg, lidt højere i 1. forsøg.

Æggene var desinficeret i Actomar K30 inden de blev lagt i bakkerne. Alligevel kom der ret hurtigt problemer med skimmelsvamp, især i 2. forsøg, hvor situationen udviklede sig faretruende hurtigt og medførte stor dødelighed. Det er usandsynligt, at svamp har overlevet desinfektionen af æg, men svampesporer findes overalt hvor der er vand og har sandsynligvis været tilstede i forsøgsanlægget, hvor dødt organisk stof, som f.eks. døde æg og proteinskum fra klækningen, er et glimrende substrat for svampevækst.

Det var tydeligt, at problemet tiltog, da æggene begyndte at klække og vandet derfor skummede. Skumudviklingen var meget voldsommere, end man normalt ser, måske på grund af recirkuleringen og fordi biofilteret endnu ikke har fungeret tilfredsstillende efter tørlægningen og desinfektionen af anlægget kort forinden. Biofilteret er jo først startet op samtidigt med indflytningen af æggene. Angrebet af skimmelsvamp var også kraftigere og udviklede sig hurtigere end man normalt ser i traditionelle klækkeanlæg og der er næppe tvivl om, at det har forværret situationen, at klækningen foregik i et recirkuleret miljø, hvori betingelserne for svampevækst på dette tidspunkt øjensynligt var ideelle.

Skimmelsvampen blev i dette tilfælde med held bekæmpet ved at bade æggene 2 gange af 20 min. i en max. 0,6 % opløsning af jodfri fodersalt (NaCl). Forbedring af æggenes tilstand indtrådte allerede ved lavere koncentration og en dosis under 0,5 % salinitet er formentlig nok, især hvis man starter kuren lidt tidligere i forløbet, end det var tilfældet her.

Ved det indledende forsøg blev æg badet i ca. 1 % saltopløsning i 1 time uden at der tilsyneladende opstod dødelighed eller skader på æg og allerede klækket yngel. Saltbadning af æg og små yngel bør dog ikke finde sted i højere koncentration end 0,9 %, svarende til koncentrationen i fysiologisk saltvand (legemsvædske).

Man skal også være opmærksom på, at pludselig tilsætning af salt i større mængde i et recirkuleret anlæg kan påvirke biofilteret i negativ retning og få koncentrationen af nitrit til at stige.

Flytningen af ægbakkerne til saltbadet foregik med stor forsigtighed, da æggene i denne sidste fase før klækningen er meget følsomme for stød og andre påvirkninger. Man kan derfor heller ikke generelt anbefale at håndtere æggene eller at tilføre vandet salt eller andre kemikalier så tæt på klækningen, idet der er risiko for chockvirkning og tvangsklækning før æggene er helt modne. Dette kan efterfølgende medføre stor dødelighed.

Den ideelle løsning vil i stedet være, at lade klækningen foregå i et særligt anlæg, som er beregnet til det. Sandsynligvis vil man heri slippe for angreb af svamp, der er så aggressive som her omtalt, hvis man ellers holder sig inden for de normer, et sådant anlæg er dimensioneret til.

## 4.2 Startfodring af yngel i forsøgsanlægget

Startfodring finder mest hensigtsmæssigt sted i klækkebakker, når ca. halvdelen af yngelen er ”svøm op” og parat til at tage føde til sig efter absorption af blommemassen. Det kræver tid og tålmodighed, at give lidt foder mange gange i løbet af dagen. Fordelen ved at gøre det i bakkerne er, at fiskene går meget tæt og derfor hurtigt vænnes til at spise tørfoder.

Alternativt kan startfodring foregå i kummerne, idet yngelen overflyttes når de fleste er ”svøm op”. For at efterleve princippet om at yngelen i den indledende fase skal gå tæt, så de hurtigere lærer at æde tørfoder, gør man i et traditionelt kummeanlæg vandvolumenet mindre ved at trække nogle stemplanker, så vandspejlet står lavt i kummen i den første tid. Når fiskene så er helt tilvænnet tørfoder og i vækst, stemmer man kummen op efterhånden som behovet for mere plads opstår.

En anden grund til at trække kummen i starten er, at der skal være et afstemt forhold mellem bestand, fiskestørrelse, vandvolumen og vandflow, for at opnå bedst mulig selvrensning i kummen og mindst mulig ophobning af fæcalier og foderrester på bunden.

I dette projekt forsøgte dambrugeren i det 1. forsøg at startfodre yngelen, mens de endnu gik i klækkebakkerne i toppen af kummerne, men det var meget vanskeligt at styre, hvorfor han opgav og gik over til startfodring i selve kummerne.

Da kummerne i dette anlæg er forbundne kar, hvis vandstand er bestemt af vandstanden i biofilteret, kan de i normal drift ikke trækkes ned som i et traditionelt anlæg. For at efterleve princippet om, at fiskene skal gå tæt i startfodringsfasen, sættes yngelen i stedet i nogle få kummer til at begynde med og fordeles så på alle kummerne senere, når pladsmangel gør det nødvendigt. Denne metode kræver håndtering af yngelen tidligere end i det traditionelle system.

Fremgangsmåden har sandsynligvis medført, at kummemiljøet i den første periode ikke har været så optimalt, som forventet, måske på grund af for stort volumen til de små fisk og for langsomt flow, ligesom biofilteret heller ikke har fungeret helt optimalt, fordi det først er sat i gang samtidigt med, at æggene er klækket.

Der har således i begge forsøg været startproblemer med foderspild og ophobning af fæcalier, bakterier og slimdannelser på bunden. Formentlig er det årsagen til dødelighed og bakteriel gælleinfektion i yngelen straks efter startfodringen i 1. forsøg og en medvirkende årsag til samme problem i starten af 2. forsøg. Det er dog dambrugeren opfattelse, at foderkvaliteten var den væsentligste årsag til startproblemerne i 2. forsøg, hvorfor han skiftede foderfabrikat. I det 2. forsøg var problemet løst af sig selv i løbet af kort tid, uden at det blev nødvendigt at sætte specielt ind overfor gælleinfektionen. Derimod var det som omtalt nødvendigt i det 1. forsøg, at bade yngelen i saltvand i en periode, før symptomer og dødelighed ophørte.

Startproblemer af denne karakter kan sandsynligvis undgås fremover, hvis man som nævnt i forrige afsnit installerer et separat anlæg til klækning og startfodring af yngelen. I et lille anlæg, som er dimensioneret til formålet, vil man bedre kunne skabe optimale forhold og et kimfrit miljø til denne sårbare periode i fiskenes liv. Et sådant anlæg kan etableres uden større investering og var med i

projektets planlægning, men etableringen deraf blev under opførelsen af forsøgsanlægget udskudt til senere.

### 4.3 Bakteriel gælleinfektion og parasitter i forsøgsanlægget

Bortset fra problemerne i forbindelse med startfodring blev diagnosen bakteriel gælleinfektion stillet en gang mere i det 1. forsøg og i to perioder i det 2. forsøg i kummerne.

I det 1. forsøg skete det den 3. august efter et pumpesvigt dagen før, som havde medført forhøjet koncentration af ammoniak i kummerne. I det 2. forsøg blev diagnosen stillet den 26.03., to dage efter at der var opsat foderautomater og havde været et kraftigt foderspild. Diagnosen blev stillet igen den 21.05., umiddelbart efter afslutningen af en 10 dages periode med medicin i foderet. Fodring med medicinfoderet havde mod sædvane bevirket, at vandet var blevet meget uklart.

I august 2000 blev yngelen kureret ved midlertidigt at øge vandudskiftningen til 5 l/min. og ved et enkelt bad i 0,2 % saltvand. I marts 2001 blev badning i saltvand også taget i anvendelse, med der blev doseret 2 gange og i højere koncentration, henholdsvis ca. 0,4 % og ca. 0,6 % . Saltet bevirkede, at vandet blev meget grumset, men fiskene var helbredt ca. 8 dage efter, at diagnosen blev stillet. I maj 2001 blev der ikke givet nogen speciel kur. Problemet forsvandt et stykke tid efter, at der var skiftet foder.

Også i det lille hold yngel isoleret i moderfiskeanlægget blev der i marts 2001 diagnosticeret bakteriel gælleinfektion efter foderspild i renden.

Det ses, at bakteriel gælleinfektion såvel i startfodringsfasen som senere hver gang er fulgt i kølvandet på problemer, der har med vandteknik, management eller foderkvalitet at gøre, hvad enten årsagen er foderspild eller anden forurening.

Man kan derfor forvente, at tilfældene af bakteriel gælleinfektion i kummerne bliver færre, når det recirkulerede anlæg er kørt ind og driftsrutiner er indarbejdet.

Af hudsnyltere er der i forsøgsanlægget kun diagnosticeres Costia. De blev fundet den 16. marts 2001 i det lille hold yngel isoleret i moderfiskeanlægget og 10 dage efter i forsøgsholdet i kummer. I begge tilfælde var der samtidigt bakteriel gælleinfektion (se ovenfor). Det er sandsynligt, at smitten er ført ind i huset udefra på trods af de forebyggende foranstaltninger, jævnfør kapitel 5.

Det skal i den forbindelse bemærkes, at Costia optrådte i forsøgsanlæggets kummer 6 dage efter at yngelen var blevet håndteret, dvs. fordelt på alle kummerne, og 2 dage efter at der havde været arbejdet i kummerne med opsætning af foderautomater og vandet blev forurennet ved foderspild.. Begge arbejdsprocesser rummer muligheder for overførsel af smitte samtidigt med, at fiskene blev udsat for stress, som svækker deres immunforsvar.

Infektionen med Costia var let at slå ned med formalin i renden i moderfiskeanlægget, men det var forventet, at der ville blive store problemer med bekæmpelsen i de recirkulerede kummer, hvor der var tale om en udbredt og ret massiv forekomst i bestanden og hvor formalin ikke kunne anvendes.

Det er omtalt i litteraturen, at saltvand virker hæmmende på Costia, men de doser, der anføres som virksomme er så høje som 2 – 3 % i 1 time, hvorfor de næppe kommer på tale i recirkulering. Den samme kilde anfører, at saltbadet ikke er så effektivt som formalin, men tåles bedre, når yngelen er svækket (H.J.Schlotfeldt et.al., 1995).

Sammenlignet hermed blev yngelen i kummerne, som nævnt ovenfor, badet i ca. 0,5 % saltvand, men i meget længere tid. Det var overraskende at iagttage, at allerede dagen efter tilsætningen af salt var næsten alle *Costia* væk og to dage senere blev de ikke genfundet.

Badning i en lav koncentration af saltvand ser således ud til at være vejen frem, såvel overfor gælleinfektion som hudsnyltere i recirkulering, men sådanne infektioner burde i væsentligt omfang kunne undgås.

Den parasittiske tarm-flagellat *Hexamita salmonis* blev diagnosticeret i forsøgsanlægget både i 2000 og i 2001. I det 1. forsøg optrådte den ved undersøgelsen af yngel i kummer den 03. 08.. I det 2. forsøg optrådte den ved undersøgelsen af yngel i kummer den 03.05., 07.06. og 21.06. Den blev også fundet i det lille hold yngel isoleret i moderfiskeanlægget ved undersøgelsen den 09.05. og 07.06.

I begge hold forsøgsfisk i kummer optrådte *Hexamita* første gang 7-8 dage efter, at yngelen var blevet sorteret og de store yngel var flyttet ud i andre anlæg. Det er sandsynligt, at *Hexamita* er kommet ind i forsøgsanlægget udefra, jævnfør kapitel 5, og at smitteoverførselen fandt sted i forbindelse med sorteringsarbejdet.

Det fremgår af gennemgangen af sygdomme i de forskellige produktionsanlæg, at *Hexamita* er udbredt på hele dambruget. Det er omtalt tidligere, at der i Danmark ikke længere findes godkendte midler til behandling af yngel med *Hexamita*. Af denne årsag er parasitten vanskelig at komme til livs og man kan derfor måske forvente et stigende antal tilfælde fremover.

#### **4.4 Rødmundsyge på dambruget**

Blandt sygdomsproblemerne på dambruget er der i projektsammenhæng desuden især grund til at nævne Rødmundsyge. Sygdommen er ikke påvist i det nye kummehus, men er diagnosticeret og behandlet i yngel i det gamle kummehus. Rødmundsyge er også en hyppig diagnose i jorddambruget og i det udendørs recirkulerede anlæg. Brug af antibiotika er ofte nødvendigt og da sygdommen især har været et problem i større yngel og sættefisk er det også en bekostelig affære.

I 2000 blev yngelen ikke vaccineret mod Rødmundsyge, men i 2001 er bl.a. den yngel, der er flyttet ud fra forsøgskummerne, blevet vaccineret i forbindelse med flytningen.

Forbruget af antibiotika på dambruget vil kunne begrænses yderligere, hvis rødmundsygen kan forebygges gennem vaccination af yngelen i et smittefrit miljø, inden de flyttes ud af kummerne. Der synes med det nye forsøgshus at være skabt mulighed for, at sådanne planer kan realiseres fremover.

### **5. Konklusioner**

- Klækning og startfodring af yngel i det recirkulerede forsøgsanlæg har været et problem og kan med fordel henvises til at foregå i et særligt anlæg, som er dimensioneret dertil. Herigennem kan tabet ved yngelproduktion sandsynligvis begrænses yderligere.



- I forsøgsanlæggets kummer er gælleinfektion hver gang set efter foderspild eller anden forurening af opdrætsvandet. Problemet bør kunne begrænses meget fremover gennem bedre styring og management, når erfaringer med anlægget er indhøstet og driftsrutiner indarbejdet.
- Bakteriel gælleinfektion er diagnosticeret i alle afdelinger af dambruget.
- Af hud- og gælleparasitter er i dambrugets produktionsanlæg diagnosticeret *Fiskedråber*, *Gyrodactylus*, *Costia*, *Trichodinella*, *Glossatella*, *Epistylis* og *Saprolegnia* .
- I forsøgsanlægget er kun set *Saprolegnia* (skimmelsvamp) på øjenæg og *Costia* på yngel.
- Til kontrol af skimmelsvamp på øjenæg i klækkefasen er med held anvendt badning i 0,5 % saltvand i 20 min.
- Til kontrol af gælleinfektion på yngel i startfodringsfasen er med held anvendt badning i 0,2-0,6 % saltvand i 1 døgn.
- Til kontrol af *Costia* på yngel er med held anvendt badning i 0,4-0,6 % saltvand i et døgn.
- Tarm-flagellaten *Hexamita salmonis* er diagnosticeret i alle dele af dambruget. I forsøgsanlægget er *Hexamita* typisk fundet efter sortering af yngelen. Parasitten kan ikke kontrolleres.
- Rødmundsyge er ikke diagnosticeret i forsøgsanlægget, men i alle øvrige dele af dambruget. Sygdommen kontrolleres ved brug af antibiotika i foderet, når diagnosen er stillet. Det nye kummehus giver mulighed for vaccination i smittefrit miljø før yngelsen flyttes til andre dele af dambruget.
- Angående YDS findes konklusionerne i kapitel 4 , hvortil der henvises.

## DFU-rapporter – index

Denne liste dækker rapporter udgivet i indeværende år samt de foregående to kalenderår. Hele listen kan ses på DFU's hjemmeside [www.dfu.min.dk](http://www.dfu.min.dk), hvor de fleste nyere rapporter også findes som PDF-filer.

- Nr. 87-01 Blåmuslingebestanden i det danske Vadehav efteråret 2000. Per Sand Kristensen og Niels Jørgen Pihl
- Nr. 88-01 Genudlægninger af blåmuslinger (*Mytilus edulis* L.) på vækstbanker i Limfjorden, 2000. Per Sand Kristensen og Nina Holm
- Nr. 89-01 Indsatsprojekt rapport 7. Fiskernes holdning til og accept af fiskeriregulering. Jesper Raakjær Nielsen og Christoph Mathiesen (*udsolgt*)
- Nr. 90-01 Hesterejer (*Crangon crangon*) – køns- og størrelsesfordelinger I danske fangster og landinger fra Nordsøen, 2000. Per Sand Kristensen og Agnethe Hedegaard
- Nr. 91-01 Danmarks Fiskeriundersøgelser's Ramme- og aktivitetsplan 2001-2004. Danmarks Fiskeriundersøgelser
- Nr. 92-01 Blåmuslinger (*Mytilus edulis* L.) i det nordlige Bælthav i 1996 (fiskerizone 30, 31 og 34). Forekomster og fiskeri. Per Sand Kristensen
- Nr. 93-01 Udsætningsforsøg med 18-28 cm ørred (*Salmo trutta* L.) i vandløb 1995-1998. Stig Pedersen og Peter Geertz-Hansen
- Nr. 94-01 Simulation model for evaluation of effort and catch quota management regimes. Per J. Sparre
- Nr. 95-01 Fiskebestande og fiskeri 2002. Sten Munch-Petersen.
- Nr. 96-02 Genudlægninger af blåmuslinger (*Mytilus edulis* L.) på vækstbanker i Limfjorden 2001. Per Sand Kristensen og Nina Holm.
- Nr. 97-02 Indsamling af detaljerede oplysninger om tobisfiskeriet i Nordsøen. Februar 2002. Henrik Jensen, Henrik Mosegaard, Anna Rindorf, Jørgen Dalskov og Palle Brogaard
- Nr. 98-02 Danmarks Fiskeriundersøgelser. Ramme- og Aktivitetsplan 2002-2005. Danmarks Fiskeriundersøgelser
- Nr. 99-02 Skjern Å's lampretter. Statusrapport fra naturovervågningen før restaureringen. Nicolai Ørskov Olsen, Hans-Christian Ingerslev, Henrik Dam og Christian Dieperink. (*udsolgt*)
- Nr. 100-02 Fangster af laksefisk fra Skjern Å og Storåen. Christian Dieperink.
- Nr. 101-02 Blåmuslinger (*Mytilus edulis* L.) i Lillebælt i 1995 (fiskerizone 40 - 44). Forekomster og fiskeri. Per Sand Kristensen

- Nr. 102-02 Hesterejer (*Crangon crangon*) – køns - og størrelsesfordelinger i danske fangster og landinger fra Nordsøen, 2001. Per Sand Kristensen og Agnethe Hedegaard
- Nr. 103-02 Dansk laksefiskeri i Østersøen 2001 og Status for forsøg med forsinket udsatte laks ved Bornholm og Møn. Frank Ivan Hansen og Stig Pedersen
- Nr. 104-02 Forbrugernes kvalitetsopfattelse af frossen fisk. Baseret på to fokusgrupper. Francisca Listov-Saabye
- Nr. 105-02 Forbrugerundersøgelse af frossen og optøet torsk. Francisca Listov-Saabye
- Nr. 106-02 Udredning vedrørende vandforbrug ved produktion af regnbueørreder i danske dambrug. Alfred Jokumsen. Rapporten er udarbejdet for Skov- og Naturstyrelsen (*udsolgt*)
- Nr. 107-02 Torskeopdræt – forskningsresultater og kundskab om torskeopdræt. Josianne G. Støttrup
- Nr. 108-02 Hjertemuslinger (*Cerastoderma edule*) på fiskebankerne omkring Grådyb i Vadehavet, 2002. Per Sand Kristensen, Niels Jørgen Pihl og Alex Hansen
- Nr. 109-02 Delrapport vedr. klimaændringer. Udvalget om Miljøpåvirkninger og Fiskeriressourcer. Brian R. MacKenzie, André W. Visser, Jes Fenger, Poul Holm
- Nr. 110-02 Delrapport vedr. eutrofiering. Udvalget om Miljøpåvirkninger og Fiskeriressourcer. Helge Thomsen, Torkel G. Nielsen, Katherine Richardson
- Nr. 111-02 Delrapport vedr. miljøfremmede stoffer. Udvalget om Miljøpåvirkninger og Fiskeriressourcer. Stig Møllergaard, Britta Pedersen, Valery Forbes, Bente Fabech, Alf Aagaard
- Nr. 112-02 Delrapport vedr. habitatpåvirkninger. Udvalget om Miljøpåvirkninger og Fiskeriressourcer. Per Dolmer, Karsten Dahl, Søren Frederiksen, Ulrik Berggren, Stig Prüssing, Josianne Støttrup, Bo Lundgren
- Nr. 113-02 Delrapport vedr. toppredatorer. Udvalget om Miljøpåvirkninger og Fiskeriressourcer. Erik Hoffmann, Christina Lockyer, Finn Larsen, Palle Udh Jepsen, Thomas Bregnballe, Jonas Teilmann, Lene J. Scheel-Bech, Ellen Stie Kongsted, Henning Thøgersen
- Nr. 114-02 Delrapport vedr. andre faktorer. Udvalget om Miljøpåvirkninger og Fiskeriressourcer. Stig Møllergaard, Per Dolmer, Ulrik Berggren, Torben Wallach
- Nr. 115-02 Fiskebestande og fiskeri i 2003. Sten Munch-Petersen.
- Nr. 116-02 Manual to determine gonadal maturity of Baltic cod. Jonna Tomkiewicz, L. Tybjerg, Nina Holm, Alex Hansen, Carl Broberg, E. Hansen

- Nr. 117-02 Effects of marine windfarms on the distribution of fish, shellfish and marine mammals in the Horns Rev area. Report to ELSAMPROJEKT A/S. Erik Hoffmann, Jens Astrup, Finn Larsen, Sten Munch-Petersen, Josianne Støttrup.
- Nr. 118-02 Gyde- og opvækstpladser for kommercielle fiskearter i Nordsøen, Skagerrak og Kattegat. Lotte A. Worsøe, Mariana B. Horsten, Erik Hoffmann.
- Nr. 119-02 Kvalitet af optøet, kølet modificeret atmosfære-pakket torskefilet; modellering med teknologiske parametre. Ph.d.-afhandling. Erhvervsforskerprojekt EF 707. Niels Bøknæs.
- Nr. 120-03 Danmarks Fiskeriundersøgelser. Ramme- og aktivitetsplan 2003-2006.
- Nr. 121-03 Genudlagte blåmuslinger (*Mytilus edulis* L.) på vækstbanker i Limfjorden 2002. Per Sand Kristensen og Nina Holm
- Nr. 122-03 Blåmuslingebestanden i det danske Vadehav efteråret 2002. Per Sand Kristensen og Niels Jørgen Pihl.
- Nr. 123-03 Blåmuslinger (*Mytilus edulis* L.) i Århus Bugt 2002. Forekomster og fiskeri. (fiskerizonerne 24, 25, 26, 30, 31 og 34). Per Sand Kristensen.
- Nr. 124-03 Forebyggelse af YDS (yngeldødelighedssyndrom) og begrænsning af medicinforbrug i æg- og yngelopdræt i danske dambrug. Per Aarup Jensen, Niels Henrik Henriksen, Kaare Michelsen, Dansk Dambrugerforening og Lone Madsen, Inger Dalsgaard, Danmarks Fiskeriundersøgelser, Fiskepatologisk Laboratorium.