

Dansk Dambrugerforening.

**Forebyggelse af YDS (yngeldødelighedssyndrom) og begrænsning af medicinforbrug 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*.

## **Indhold**

<b>Forord</b>	<b>Side 3</b>
<b>Sammenfatning</b>	<b>Side 4</b>
<b>1) Indledning</b>	<b>Side 9</b>
<b>2) Forsøgsanlægget</b>	<b>Side 17</b>
<b>3) Bakteriologiske undersøgelser</b>	<b>Side 30</b>
<b>4) Kliniske observationer og sygdomsudbrud i yngel</b>	<b>Side 44</b>
<b>5) Hygiejnetiltag</b>	<b>Side 52</b>
<b>6) Konklusion</b>	<b>Side 56</b>
<b>7) Perspektivering og forslag til videnopbygning</b>	<b>Side 57</b>
<b>8) Referencer</b>	<b>Side 59</b>
<b>Bilag 1 : A og B, konstruktionstegninger af forsøgsanlægget</b>	
<b>Bilag 2 : Bakteriologiske undersøgelser på dambruget</b>	
<b>Bilag 3 : Sygdomsforløb og behandling.</b>	

## 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,
- Fødevaredirektoratets 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

## 1. 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 dambrугets 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 jorddambrугet og det gamle kummehus samt i yngel og sættefisk i det gamle kummehus, jorddambrугet 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 dambrугet, 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 jorrdambruget 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 jorrdambruget 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

## 1.1 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 u hensigtsmæssige 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 forsøgsstykker 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 niveauguleret 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 udtyndet. 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 egentlig ”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

kummernes 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/ gamle kummehus	+ slim gæller sæd bughule	+ slim	+ ægvæske sår	-	-		
å-vand	+		+	-	-		
<u>Moderfisk i forsøgs-anlæg</u>			-	<sup>A, B</sup> nyre hjerter	<sup>B</sup> Ægsæk	<sup>B</sup> Slim Gæller Ægvæske Udenpå æg	<sup>B</sup> Ægsæk Slim 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 recirkuleringsystem. 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>  å-vand		+ slim gæller		
Yngel i udendørs recirkuleringsanlæg <sup>B</sup> vand fra anlæg <sup>A</sup>			+ gæller +	
Yngel i forsøgsanlæg  recirkuleret borevand	-	-	+ slim gæller bughule milt hjerte tarm +	
Yngel i udendørs recirkuleringsanlæg <sup>C</sup> vand fra anlæg <sup>A</sup>			+ slim gæller -	+ slim
Yngel i jorddam <sup>C</sup> å-vand			- -	
Yngel i udendørs recirkuleringsanlæg <sup>D</sup> vand fra anlæg <sup>A</sup>			+ slim 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.

Månedet 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. : Sættefisk 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. : Sættefisk i udendørs recirkulerede anlægs små betonkummer :  
Diagnose : *Miljøbettinget gællesyge og Hexamita salmonis, enkelte Glossatella*.
- 05.07. : Sættefisk 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

Smitterisikoen 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 (moderfiskeanlæg).
- Marts 2001: Påvist *Costia* (hud/gælleparasit) på yngel i forsøgsanlæg (kummeanlæg).
- Maj 2001: Påvist *Hexamita* og YDS-bakterien i yngel i forsøgshuset (moderfiskeanlæg).
- 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) Temperaturen 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).