

Spredning, overlevelse og inaktivering av fiskepatogener i lab skala-RAS

Hvor lenge kan fiskepatogener overleve i et RAS uten fisk? For å få svar på dette spørsmålet har det blitt gjennomført kontrollerte laboratorieforsøk. Vi undersøkte overlevelsen av fiskepatogener i lab skala-RAS, nærmere bestemt i vannet, på biolegemer og på overflater under ulike forhold. Resultatene indikerer at brakklegging og ozonering kan ha stor effekt på overlevelsen av smittestoffer, men behandlingene kan påvirke overlevelse av bakterier (Ca. *B. cysticola*) og virus (IPNV og ILAV HPRdel) på ulik måte.

Fiskepatogener og biosikkerhetstiltak i RAS

Flere og større resirkulerende akvakultursystemer (RAS) for settefiskproduksjon av laks etableres, og RAS er nå den dominerende produksjonsformen for settefisk i Norge. Siden RAS har et begrenset behov for inntak av vann, og inntaksvannet kan behandles på vei inn i anlegget, har disse oppdrettssystemene naturlige fordeler for biosikker produksjon. På tross av dette, kan smittsomme agens finne veien inn og spre seg internt mellom avdelinger på anlegg via f.eks. smittet fisk, transportvann o.l. Hvis slike agens først kommer inn i RAS kan de bli utfordrende å fjerne, spesielt uten å påvirke biofilteret med sin viktige mikrobiota. Alvorlige smittsomme agens påvist i norske RAS-anlegg inkluderer, men er ikke begrenset til bakterier som *Yersinia ruckeri* og *Ca. Branchiomonas cysticola* og virus som infeksjons pankreas nekrosevirus (IPNV) og infeksjons lakseanemi virus (ILAV HPR0).

Det finnes ingen 'standardtiltak' for rengjøring og desinfisering av de ulike RAS-komponentene, inkludert bioreaktorer, mellom fiskegenerasjoner/-innlegg, og forskjellige biosikkerhetstiltak er nå brukt i næringen (Larsen mfl. 2024, Holan mfl. 2020). Overlevelse av fiskepatogener i RAS og bioreaktorer spesielt, er lite studert. Slik kunnskap er viktig for identifisering av effektive biosikkerhetstiltak.

I BRAS-prosjektet har Larsen mfl. (2024) kartlagt vanlig praksis i næringen og identifisert en rekke utfordringer og kunnskapshull relatert til biosikkerhetstiltak i RAS (NF. nr. 2 2024 – <https://www.oceanspacemedia.com/files/2024/03/01/NF%20nr%20%202024-BRAS.pdf>). Med grunnlag i denne kartleggingen ble det gjennomført kontrollerte laboratorieforsøk hvor intro-

duksjon, tilstedeværelse og overlevelse av forskjellige fiskepatogener ble undersøkt. Disse forsøkene inkluderte studier av tre ulike biosikkerhetstiltak (ingen behandling/kun brakklegging, utskifting av vann og desinfisering med ozon) som ble identifisert som vanlige mellom fiskegenerasjoner/-innlegg, i tillegg til effekt av brakklegging (Larsen mfl. 2024).

Kontrollerte forsøk

Tre lab skala RAS-enheter (CPT-1, MAT-KULING Vannbehandling AS, Norge) med separate kar (150 l) og brakkvann (± 15 ppt, ± 12 grader, totalt vannvolum 200 l) ble satt opp for å etterlikne kommersielle smoltproduksjonsforhold (**Figur 1**). Biolegemene i de tre identiske RAS-enhetene (ca. 1 100 biolegemer i hver RAS) ble modnet på forhånd i egne modningstanker og systemene ble deretter akklimatisert i minimum 2 uker før innsett av fisk. Vannkvaliteten ble overvåket både med online-sensorer, manuelle sensorer og analyse av vannprøver. Spedevann og buffer (natriumbikarbonat) ble tilsatt med jevne mellomrom, og likt i de triplikate RAS-enhetene. I perioder uten fisk ble det også tilsatt ammoniumklorid for å sikre god nitrifikasjon.

To forsøk ble gjennomført (**Figur 2**); forsøk 1 med laksesmolt (ca. 50 g) som eksperimentelt ble smittet intra-peritonealt med ILAV HPRdel og forsøk 2 med laksesmolt (ca. 78 g) fra et kommersielt anlegg med påvist infeksjon av *Ca. Branchiomonas cysticola* og infeksjons pankreas nekrosevirus (IPNV). I sistnevnte forsøk ble det også overført transportvann til RAS-enhetene (50:50 transportvann og eksisterende brakkvann). Fisken i de triplikate RAS-enhetene (40 fisk i hver RAS) ble føret og driftet likt.

Begge forsøkene ble gjennomført i to faser. I fase 1 ble smittet fisk benyttet

Sonal Patel¹, Duncan Colquhoun¹, Paulo Fernandes², Simon Weli¹, Marta Guimarães Moutinho^{1,2,3}, Håkon Dale⁴, Irene Roalkvam¹, Lisa Øvredal¹, Merete Sture Gåsvær¹, Miriam Furne¹, Saima Mohammad¹, Sondre Veberg Larsen⁵, Elisabeth Midtbø Vik⁶, Reidar Handegård^{7,8}, Melanie Andrews⁸, Mai-Linn Jæger Aga⁸, Hanne Nilsen¹ og Ole Kristian Hess-Erga²

¹Veterinærinstituttet, ²Niva, ³Universitetet i Porto, ⁴UiB, ⁵Akvaplan-niva, ⁶Patogen, ⁷ILAB,

⁸Marineholmen RASLab

sonal.jayesh.patel@vetinst.no



Figur 1. En av 3 identiske labskala-RAS med integrert partikkelfilter, bioreaktor, sensorer og sirkulasjonspumpe. Foto: Ole-Kristian Hess-Erga (NIVA).

Forklaring av begreper

Biosikkerhet:

Summen av alt arbeid med formål å begrense risiko for innføring, utvikling, og spredning av agens og sykdom til, i og fra fiskegrupper i et anlegg eller sone.

Biosikkerhetstiltak:

Driftsmessige og fysiske tiltak som utføres praktisk med intensjon om å styrke biosikkerheten

Biosikkerhetsstrategi:

En strategi utarbeidet spesifikt for et anlegg sine driftsrutiner og aktiviteter for å ivareta biosikkerhet

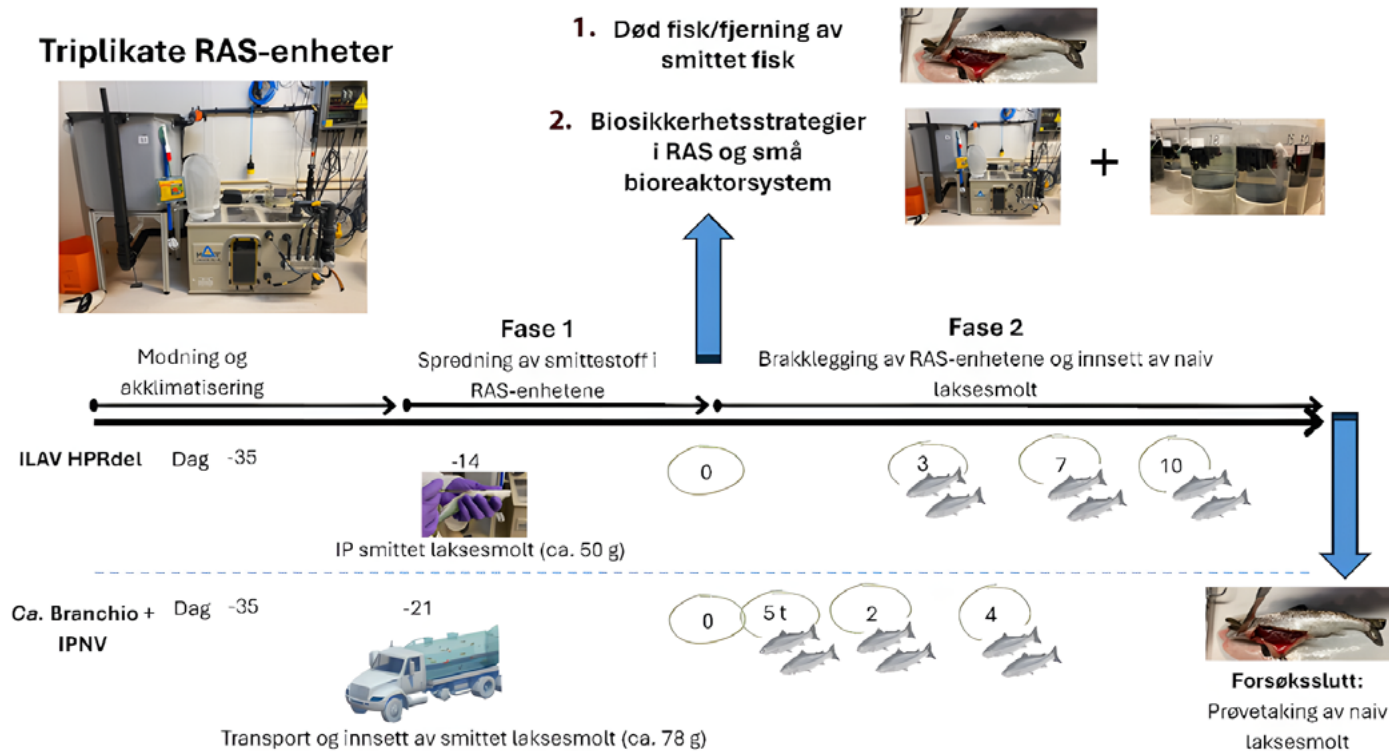
Brakklegging:

Perioden hvor et oppdrettssystem står helt uten fisk

Fiskepatogener:

Mikroorganismer som kan føre til sykdom hos fisk

Triplikate RAS-enheter



Figur 2. Forsøk 1 med ILAV HPRdel og forsøk 2 med fisk som både hadde *Ca. B. cysticola* og IPNV smitte, i labskala-RAS.



Figur 3. Små bioreaktorsystem (4 l) med biolegemer (75 stk.) fra labskala-RAS. Foto: Ole-Kristian Hess-Erga (NIVA).

for å spre smittestoff i RAS-miljøet (inkubasjonsperioden) og deretter fjernet (dag 0). I fase 2 ble effekten av ulike biosikkerhetstiltak undersøkt, både i små bioreaktorsystem med biolegemer (Figur 3) og i de opprinnelige RAS-enhetene med innsett av naiv fisk (fisk uten smittestoff) på ulike dager, for å simulere effekten av økende brakkleggingstid.

Umiddelbart etter at fisken ble fjernet fra RAS-enhetene, ble 75 biolegemer overført fra hver av RAS-enhetene til triplikate (biolegemer fra samme RAS-enhet) små bioreaktorsystem (Figur 3) for å studere effekten av 3 biosikkerhetstiltak. 1) Ingen behandling/kun brakklegging, dvs. biolegemer og vann fra RAS-enhetene ble overført, 2) Utskifting av vann, dvs. biolegemer ble overført og tilsatt nytt brakkvann, 3) Desinfisering med ozon, dvs. biolegemer ble overført, tilsatt sjøvann, ozonert over natt (opp til ca. 700 mV), utskifting av sjøvann og deretter fylt opp med nytt brakkvann (Figur 4). Buffer (natriumbikarbonat) og ammoniumklorid ble tilsatt med jevne mellomrom for å sikre gode nitrifikasjonsforhold. Ved uttak av vannprøver ble mengden erstattet med nytt vann. Tilsetninger og uttak ble utført likt i alle bioreaktorsystemene.

Etter fjerning av smittet fisk (dag 0) og overføring av biolegemer til de små bioreaktorsystemene, ble RAS-enhetene skrubbet lett (ikke i forsøk 2) og tømt for mesteparten av vannet (noen få liter

igjen) før de ble tilført nytt brakkvann og satt i drift. For å undersøke effekten av ulik brakkleggingstid ble 10–20 naive fisk (fisk uten smittestoff) satt inn på hhv. dag 3, dag 7 og dag 10 (forsøk 1) og 5 t, dag 2 og dag 4 (forsøk 2). Den naive fisken ble holdt i RAS-enhetene ca. 4 uker etter introduksjon.

Det ble tatt prøver underveis fra overflater i RAS-enhetene og de små bioreaktorsystemene, samt fra biolegemer og vann. Fisken ble prøvetatt før forsøksstart, ved slutten av fase 1 og ved slutten av fase 2. Prøvene ble analysert med qPCR for tilstedeværelse av de ulike smitteagens. Prøvetaking i alle RAS-enhetene og bioreaktorer ble gjennomført frem til det ble to påfølgende negative påvisninger.

Spredning og tilstedeværelse av fiskepatogener i RAS-enhetene

Laksesmolt som ble smittet med ILAV HPRdel (forsøk 1), både de som døde i inkubasjonsperioden (første fase) og de som ble avlivet ved avslutningen av denne perioden, testet positiv for ILA viruset. Det ble påvist store mengder virus i fisken ved avslutning av første fase. Dette stemmer godt med forventet inkubasjonsperiode og maksimal utskillelse av virus etter 14 dager. Denne delen av forsøket ble avsluttet etter 14 dager på grunn av kliniske tegn og dødelighet, iht. FOTS-tillatelsen.

I forsøk 2 hvor det ble benyttet fisk med *Ca. B. cysticola* infeksjon, testet de fleste prøvetatte fisk positivt for *Ca. B. cysticola* (forholdsvis lav mengde) ved start av inkubasjonsperioden. Disse fiskene testet også positivt for IPNV. Ved slutten av første fase (inkubasjonsperioden) var de fremdeles positive, med generelt høyere mengde bakterie-DNA og virus-RNA, i forhold til starten. Det ble ikke observert kliniske tegn eller dødelighet og laksesmolten ble derfor holdt i den planlagte perioden på 3 ukene.

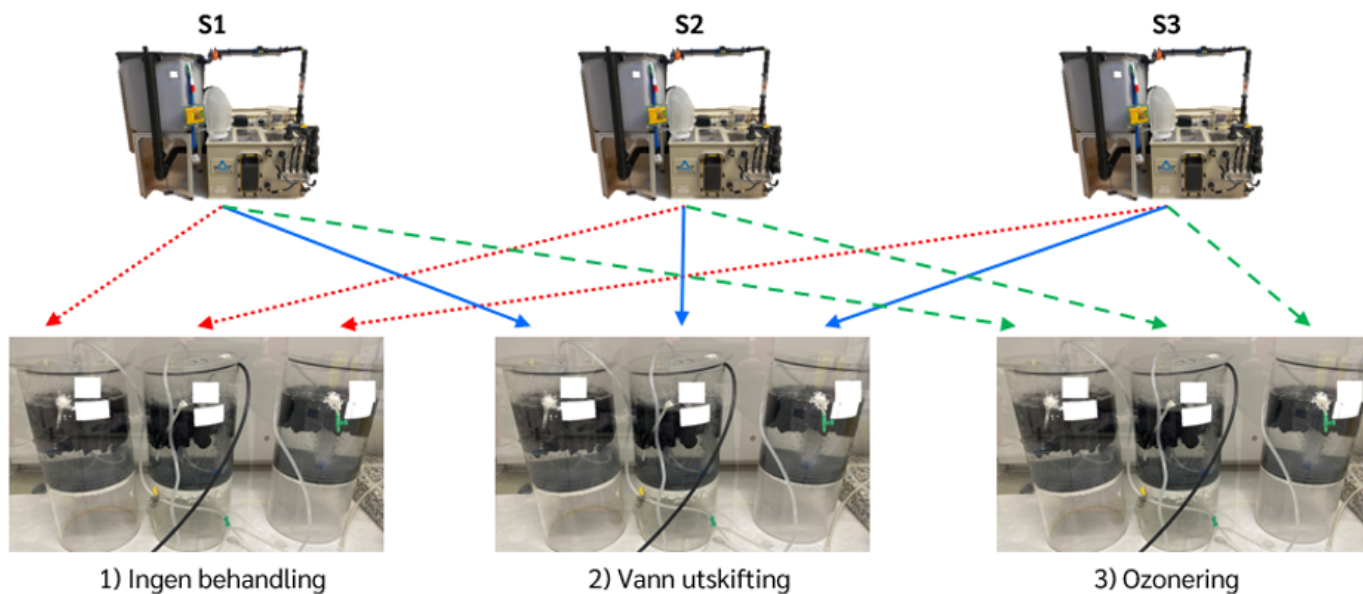
I begge forsøkens første fase (inkubasjonsperioden) ble alle de tre agens påvist på karoverflater, på biolegemene og i sirkulerende vann i alle RAS-enhetene (Figur 5, 6 og 7). I forsøk 1 med ILAV HPRdel ble det påvist mest virus i svaberprøver fra overflater, etterfulgt av vann og biolegemer. I forsøk 2 ble *Ca. B. cysticola* påvist i alle prøvetyper i fase 1 av forsøket, med størst mengde og fleste antall positive prøver ved slutten av fase 1 (Figur 6). IPNV ble påvist i økende mengde i alle miljøprøvene, mot slutten av inkubasjonsperioden. Dette bekrefter at de tre fiskepatogene mikroorganismene ble utskilt av den infiserte fisken og at kar, rørsystem og bioreaktorene ble eksponert for de ulike smittestoffene. Dermed var det grunnlag for å teste effekten av ulike biosikkerhetstiltak i fase 2.

Vannkvalitet i inkubasjonsperioden (fase 1)

Vannkvaliteten var tilnærmet identisk mellom de triplikate RAS-enhetene i inkubasjonsperioden, både i forsøk 1 og forsøk 2 (Tabell 1). Målinger av de forskjellige vannkvalitetsparametere indikerte gode forhold og nokså lik nitrifikasjon, innenfor normale verdier for lakseoppdrett i brakkvanns-RAS. Tilstedeværelse av smittet fisk og smittestoffer påvirket tilsynelatende vannkvaliteten i liten grad.

Brakklegging av RAS-enhetene og effekt på fiskepatogener

Tilstedeværelse av fiskepatogener i RAS og effekten av ulike biosikkerhetstiltak ble undersøkt, både i de opprinnelige RAS-enhetene (Figur 1 og 2), og i små bioreaktorsystem med biolegemer (Figur 3 og 4). I førstnevnte ble det satt inn naiv



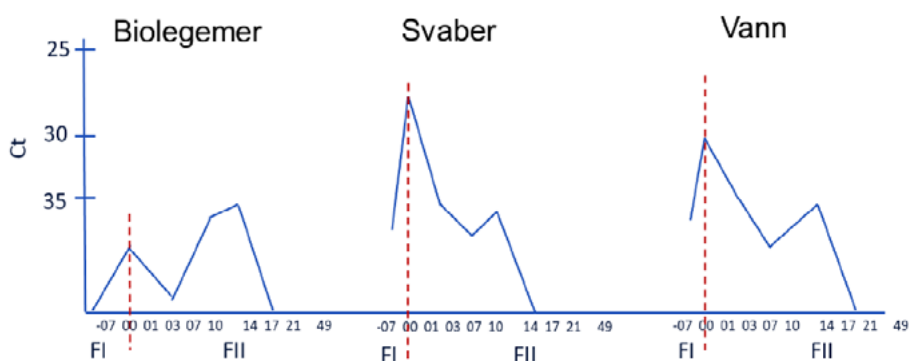
Figur 4. Triplikate bioreaktorforsøk med biogemer som ble behandlet iht. 3 biosikkerhetstiltak, identifisert som vanlige mellom fiskegenerasjoner/-innlegg. Størrelsene på RAS-enhetene og biorektorsystemene er ikke i riktig forhold til hverandre.

laksesmolt (fisk uten smittestoff) på ulike dager for hver RAS-enhet, for å simulere effekten av økende brakkleggingstid.

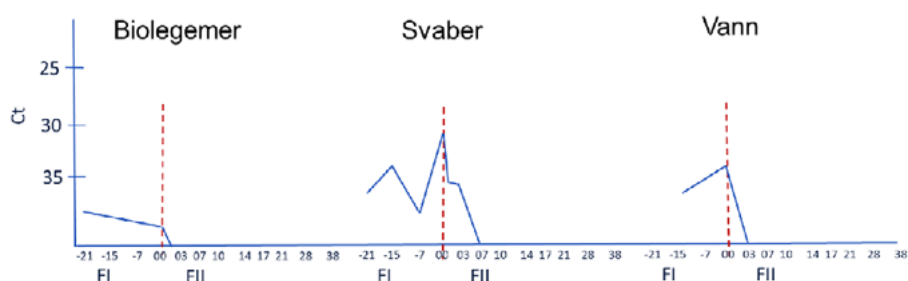
Forsøk 1 – ILAV HPRdel i RAS-enhetene

Fjerning av smittet fisk, grovvask av kar og utskifting av alt vannet med nytt brakkvann fra RAS-enhetene (dag 0) førte til en betydelig nedgang i mengde ILAV HPRdel som kunne påvises i miljøprøvene (Figur 5). Deretter ble viruset påvist i svaberprøvene frem til dag 10, og for biogemer og for vannprøver frem til dag 14 etter at smitekilden var fjernet og vannet byttet. Svaberprøvene viste høyest mengde med virus etterfulgt av vann, mens biogemene hadde lavest mengde. Dette indikerer at brakklegging har begrenset effekt på tilstedeværelse av ILAV HPRdel.

På tross av tilstedeværelse av ILAV HPRdel i miljøprøvene, var alle de naive fiskene som ble satt inn på hhv. dag 3, 7 og 10, negativ for ILAV HPRdel ved forsøkets slutt (etter ca. 4 uker). Dette indikerer at viruspartiklene som var til stede i RAS-enhetene ikke kunne smitte fisk, enten fordi smittepresset var for lavt eller at viruspartiklene ikke kunne infisere/smitte ny fisk. Hvorvidt en evt. ekstrabelastning (f.eks. håndteringsoperasjon) kunne påvirket resultatet, ble ikke undersøkt.



Figur 5: Gjennomsnittlig påvisning (Ct-verdier) av ILAV HPRdel i miljøprøver fra RAS-enhetene i forsøk 1. Lav Ct-verdi indikerer mer virus. FI = fase 1, FII = fase 2. Rød stiple linje indikerer tidspunktet hvor smittet fisk ble fjernet (dag 0).



Figur 6: Gjennomsnittlig påvisning (Ct-verdier) av *Ca. B. cysticola* i miljøprøver fra RAS-enhetene i forsøk 1. Lav Ct-verdi indikerer mer virus. FI = fase 1, FII = fase 2. Rød stiple linje indikerer tidspunktet hvor smittet fisk ble fjernet.

Tabell 1. Gjennomsnittlige vannkvalitetsverdier fra hver RAS-enhet i forsøk 1 og forsøk 2, fase 1, illustrert som intervallverdier. TAN er Total Ammonia Nitrogen = NH_4^+ + NH_3 .

Parameter	Enhet	Forsøk 1	Forsøk 2
Antall dager		14	22
Salinitet	(‰)	15,1-15,6	15,6-15,8
Temperatur	(°C)	12,2-12,6	11,7-12,6
pH		7,84-7,89	7,2-7,3
Oksygen	(%)	93,6-95,5	90,0-90,2
TAN	(mg N/l)	0,14-0,17	0,33-0,37
NO ₂ -N	(mg N/l)	0,53-0,67	0,84-1,29
NO ₃ -N	(mg N/l)	11,3-11,6	7,0-7,6
Alkalitet	mEq/l	1,6-2,0	1,6-2,1

Forsøk 2 – *Ca. B. cysticola* og IPNV i RAS-enhetene

Etter fjerning av smittet fisk og utskifting av alt vannet med nytt brakkvann i RAS-enhetene (dag 0), kunne *Ca. B. cysticola* påvises i miljøprøvene opp til 3 dager. Forskjellig brakkleggingstid hadde ingen synlig effekt på resultatene. Bakterien ble ikke påvist hos naiv fisk ved forsøksslutt (etter ca. 4 uker), verken den som ble satt inn etter 5 timer, 2 dager eller 4 dager med brakklegging. Dette indikerer at brakklegging i mer enn 3 dager reduserer risikoen for smitteoverføring av *Ca. B. cysticola* mellom fiskegenerasjoner/-innlegg.

IPNV kunne derimot påvises i alle prøvetyper, hhv. i biogegemer frem til dag 28 etter gjennomført tiltak og i svaberprøver og vann frem til slutten av forsøket (Figur 7), uavhengig av forskjellig brakkleggingstid. IPNV infeksjon ble også

påvist i 47 av 60 naiv fisk ved slutten av forsøket. Dette indikerer at brakklegging i 4 dager mellom fiskegenerasjoner/-innlegg har begrenset effekt på tilstedeværelse av IPNV og at viruspartiklene kunne infisere/smitte ny fisk. IPNV er kjent som et «motstandsdyktig» og persistent virus som 'overlever' lenge i miljøet.

Vannkvalitet i fase 2

Vannkvaliteten var nokså lik mellom de triplikate RAS-enhetene i perioden med naivlaksesmolt (fiskutensmittestoff), både i forsøk 1 og forsøk 2 (Tabell 2). Målinger av de forskjellige vannkvalitetsparametrene indikerte gode forhold og nokså lik nitrifikasjon, innenfor normale verdier for lakseoppdrett i brakkvanns-RAS. Ulik brakkleggingsperiode med tilførsel av ammoniumklorid og natriumbikarbonat for å opprettholde nitrifikasjonen, påvirket tilsynelatende vannkvaliteten i liten grad.

Biosikkerhetstiltak i små bioreaktorer og effekter på fiskepatogener

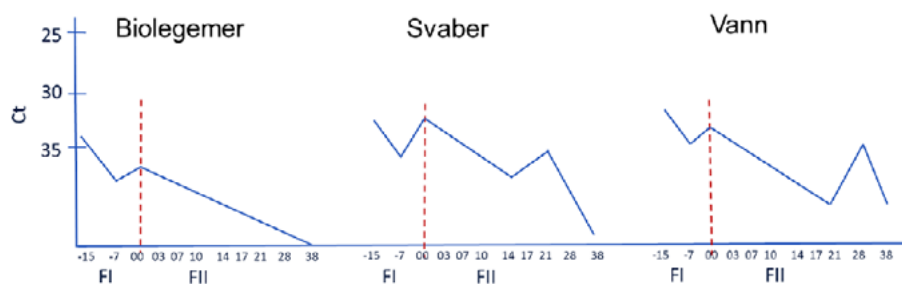
Som nevnt ble det overført biogegemer fra hver av de triplikate RAS-enhetene til 9 små bioreaktorsystem, hvor effekten av 3 forskjellige biosikkerhetstiltak ble undersøkt (Figur 3 og 4).

Forsøk 1 – bioreaktorer med ILAV HPRdel

I de små bioreaktorsystemene som 1) ikke ble behandlet/brakklagt og i dem hvor 2) halvparten av vannet ble skiftet ut, kunne det påvises ILAV HPRdel sporadisk hhv. frem til dag 7 og 14 i biogegemene og vann. Dette stemmer godt overens med funnene fra RAS-enhetene (Figur 5). Svaberprøver ble for øvrig ikke tatt fra bioreaktorsystemene i dette forsøket.

I bioreaktorene som ble 3) desinfisert, var alle prøvene gjennom hele testperioden negativ for ILAV HPRdel etter ozonering.

Vannkvaliteten i bioreaktorsystemene var nokså lik, både i de triplikate bioreaktorene og mellom bioreaktorene med biosikkerhetstiltak 1 og 2, og indikerer at nitrifikasjonsevn ble opprettholdt ved tilsetning av ammoniumklorid. Det var noe høyere konsentrasjon av nitrat i bioreaktorene med biosikkerhetstiltak 1 i forhold til biosikkerhetstiltak 2, både ved start (17,8 versus 5,7 mg N/l) og ved



Figur 7. Gjennomsnittlig påvisning (Ct-verdier) av IPNV i miljøprøver fra RAS-enhetene i forsøk 1. Lav Ct-verdi indikerer mer virus. FI = fase 1, FII = fase 2. Rød stiple linje indikerer tidspunktet hvor smittet fisk ble fjernet.

slutt (68 versus 59 mg N/l). Dette skyldes nok ulik mengde vann overført fra RAS-enhetene ved oppstart. To av de ozonerte bioreaktorene indikerte nitrifikasjon og forhøyet nitrat ved start og slutt, uten at det finnes en åpenbar forklaring på dette. I den tredje ozonerte bioreaktoren indikerer manglende omdanning av TAN (økende til 8.6 mg N/l) at de nitrifiserende bakteriene ble inaktivert.

Forsøk 2 – bioreaktorer med *Ca. B. cysticola* og IPNV

I de små bioreaktorsystemene som 1) ikke ble behandlet/brakklagt, 2) alt vannet ble skiftet ut og 3) desinfisert med ozon, kunne *Ca. B. cysticola* påvises (veldig svak positiv) bare unntaksvis første dagen etter oppstart, inkludert en positiv svaberprøve fra de ozonerte bioreaktorene.

IPNV kunne derimot påvises i bioreaktorene som ble 1) ikke behandlet/brakklagt frem til dag 14, noe kortere i bioreaktorene med 2) alt vannet ble skiftet ut, og bare i en av prøvene etter 3) desinfisert med ozon.

Funnene fra de små bioreaktorsystemene i forsøk 2, stemmer også godt overens med funnene i RAS-enhetene (**Figur 6 og 7**).

I forsøk 2 var også vannkvaliteten i bioreaktorsystemene nokså lik, både i de triplikate bioreaktorene og mellom bioreaktorene med biosikkerhetstiltak 1 og 2, og indikerer at nitrifikasjonsevnen ble opprettholdt ved tilsetning av ammoniumklorid. Det var noe høyere konsentrasjon av nitrat i bioreaktorene med biosikkerhetstiltak 1 i forhold til biosikkerhetstiltak 2, både ved start (9,9 versus 7,2 mg N/l) og ved slutt (42,7 versus 28,7 mg N/l). Som i forsøk 1 skyldes nok forskjellen i nitrat, ulik mengde vann som ble overført fra RAS-enhetene ved oppstart. I de ozonerte bioreaktorsystemene ble de nitrifiserende bakteriene i stor grad inaktivert, noe som manglende omdanning av TAN (økende TAN til 3,4 mg N/l) og tilnærmet like nitratverdier ved start og slutt (hhv. 5.0 og 5.7 mg N/l) indikerer.

Oppsummerende funn og foreløpige anbefalinger

Forsøkene indikerte at en relativt kort og enkel brakklegging (minimum 3 dager)

Tabell 2. Gjennomsnittlige vannkvalitetsverdier fra hver RAS-enhet i forsøk 1 og forsøk 2, fase 2 med naïv laksesmolt, illustrert som intervallverdier. TAN er Total Ammonia Nitrogen = NH_4^+ + NH_3 .

Parameter	Enhet	Forsøk 1	Forsøk 2
Antall dager		11-14	34-37
Salinitet	(‰)	14,9-15,0	14,9-15,5
Temperatur	(°C)	12,4-13,0	11,6-12,2
pH		7,17-7,29	7,4
Oksygen	(%)	98,5	90,8-91,8
TAN	(mg N/l)	0,05-0,07	0,25-0,31
NO ₂ -N	(mg N/l)	0,24-0,27	0,64-1,15
NO ₃ -N	(mg N/l)	1,8-2,9	1,1-1,5
Alkalinitet	mEq/l	1,2-1,5	1,8-2,1

mellom fiskegenerasjoner/-innlegg kan redusere risikoen betydelig for smitteoverføring av *Ca. B. cysticola*, så lenge det meste av vannet skiftes. Om dette også er mulig i kommersielle anlegg, gjenstår å undersøke i prosjektets feltdel.

For virus er det nok annerledes, da forsøkene indikerte at ILAV HPRdel og IPNV kunne påvises i miljøprøver i lengre tid etter brakklegging. Selv om ILAV HPRdel var til stede i miljøprøvene, ble ikke ny fisk smittet, verken etter 3, 7 eller 10 dager med brakklegging. Dette kan indikere at smittepresset var for lavt eller at viruspartiklene ikke kunne infisere/smitte ny fisk. Erfaring fra næringen indikerer at en ekstrabelastning (f.eks. håndteringsoperasjon) i slike tilfeller kan bidra til et nytt smitteutbrudd. Slike usikkerhetsmomenter bør undersøkes videre for å kunne komme med gode anbefalinger om brakkleggingstid.

Forsøket med IPNV indikerte at brakklegging i 4 dager mellom fiskegenerasjoner/-innlegg har begrenset effekt på tilstedeværelse og at viruspartiklene kunne smitte naïv fisk. Dette betyr at lengre brakkleggingstid og strengere biosikkerhetstiltak er nødvendig for å begrense risikoen for nytt IPNV-utbrudd.

Ozonering av bioreaktorsystem, ga ikke overraskende, mest komplett reduksjon av de studerte agens. Det ble ikke påvist RNA fra ILAV HPRdel i etterkant av ozonbehandlingen, men en enkelt svak påvisning av hhv. *Ca. B. cysticola* og IPNV (2 av 3 reaktorene)

Finansiering

Biosikkerhet i RAS (resirkulerende akvakultursystemer) (BRAS), finansiert av FHF #901792 pågår i perioden 2023–2026.

Samarbeidspartnere i BRAS prosjekt: Norsk institutt for vannforskning (prosjektansvarlig/-leder), Veterinærinstituttet, Akvaplan-niva, Universitetet i Bergen, Marineholmen RASLab, PatoGen, Pure Salmon Technology, Nofitech, VESO Aqua og næringsaktørene Osland Settefisk, Salmar Settefisk, Erko Settefisk, Helgeland Smolt, Grieg Seafood ASA, Lerøy Aurora, Salangfisk og Mowi ASA.

Biosikkerhet i akvakultur, Task 2 SOA15 ledet av VI, er delfinansiert av EUs Horisont Europa prosjekt 101136346 EUPAHW, og pågår i perioden 2024–2026. EU prosjektaktivitet foregår i samarbeid med og som utvidelse av BRAS prosjektaktiviteter. Synspunktene og meningene som uttrykkes er imidlertid kun forfatterens egne og gjenspeiler ikke nødvendigvis Den europeiske unions eller European Research Executive Agencys syn. Verken Den europeiske union eller tilskuddsmyndigheten kan holdes ansvarlig for dem.

Mer informasjon om prosjektet er tilgjengelig hos NIVA, <https://www.niva.no/prosjekter/biosikkerhet-i-ras> og i FHF's prosjektbase: <https://www.fhf.no/prosjekter/prosjektbasen/901792/>

Mer informasjon om EUPAHW: <https://www.eupahw.eu/projects/management-and-husbandry-guidelines-on-farm-including-aquaculture-during-transport-and-at-slaughter>

kunne for øvrig observeres. Om disse fortsatt var 'levedyktige' og infeksiose er ikke kjent.

Nitrifikasjonen i RAS-enhetene og i de små bioreaktorsystemene ble tilsynelatende i liten grad påvirket av de fiskepatogene mikroorganismene og brakklegging. Mikrobiom analysene indikerer at de mikrobielle biofilm-samfunnene i bioreaktorsystemene endres noe over tid, men at denne utviklingen i liten eller ingen grad påvirkes av utskifting av vann (biosikkerhetstiltak 2). Ozonering av bioreaktorsystemene påvirket derimot nitrifikasjonen og sammensetningen av bakteriesamfunn i stor grad, noe som også var forventet. Høy dose og langvarig ozonering, førte sannsynligvis ikke til fullstendig inaktivering av mikroorganismene.

Hvilke miljøprøver fungerte best til overvåking av fiskepatogener i RAS?

Av prøvetype for overvåking av fiskepatogener i RAS var det vann- og svaberprøver fra overflater som virker best egnet. Generelt var det langt færre positive prøver fra biolegemer enn både vann og overflater. Dette kan sannsynligvis forklares med at de nitrifiserende bakteriene og de heterotrofe bakteriene favoriseres under de gjeldende forholdene og dominerte biofilmen på biolegemene. Fiskepatogener vil derfor trolig bli utkonkurrert av disse spesialistene og ikke finne plass på biolegemene. De heterotrofe bakteriene vil og kunne benytte døende bakterier og virus som substrat, m.a.o. bryte ned fiskepatogener og øvrige mikroorganismer. Det kan også tenkes at fiskepatogener ikke evner å feste seg til biofilmen på biolegemene og blir skylt bort av turbulensen i bioreaktoren. Prøvetaking av noen få biolegemer (ift. den totale mengden av biolegemer) påvirker også muligheten for påvisning av fiskepatogener.

Levende eller død?

PCR er en sensitiv metode for å påvise tilstedeværelse av mikroorganismer. Metoden fanger opp DNA/RNA som kan stamme fra både levende og døde organismer. Positiv PCR sier derfor ingenting om levedyktighet av organismen og et negativt resultat kan ikke utelukke at organismen likevel finnes (som å lete

etter nålen i høystakken). For å få svar på førstnevnte introduserte vi derfor naiv laksesmolt (fisk uten smittestoff) til RAS-enhetene på ulike dager, for å undersøke om de fiskepatogene mikroorganismene i RAS miljøet kunne smitte ny fisk. Det ble ikke påvist *Ca. B. cysticola* eller ILAV HPRdel i noen av disse fiskene ved slutten av forsøkene, men IPNV ble påvist i nesten all fisk.

Målet med disse kontrollerte laboratorieforsøkene var å undersøke hvorvidt de testede fiskepatogene mikroorganismene kunne påvises og overleve i RAS, samt studere effekten av tre ulike biosikkerhetstiltak. Forsøkene ga verdifull innsikt i dette, tross sine iboende begrensninger, men det trengs ytterligere studier og uttesting, både under kontrollerte betingelser og kommersielle forhold. Selv om prinsippene bak oppdrett av fisk i RAS er like, finnes det en rekke forskjellige anleggsdesign og driftsprosedyrer. Kommerielle anlegg er betydelig mer komplisert og større enn RAS-enhetene som ble benyttet i dette forsøket. Observasjoner i kommersielle anlegg indikerer også at håndtering etter gjennomført biosikkerhetstiltak, kan påvirke utfallet. Funnene i de kontrollerte laboratorieforsøkene gjelder derfor ikke nødvendigvis i alle systemer og situasjoner, men generelt bør biosikkerhetstiltakene uansett inneholde fjerning av biofilm og annet organisk materiale, samt baseres på det/de aktuelle smitteagens.

Referanser

- Holan, A. B., Good, C., & Powell, M. D. (2020). *Health management in recirculating aquaculture systems (RAS)*. In *Aquaculture Health Management* (pp. 281-318). Academic Press.
- Larsen S.V., Tørud B., Hess-Erga O-K, Furseth K., Patel S. (2024). *Hvordan arbeider næringen med biosikkerhet i RAS?*, Norsk Fiskeoppdrett Nr. 2.