

Kan vi hindre spredning av sykdomsagens fra villfanget stamfisk til avkom gjennom desinfeksjon av rogn og melke?

Rognkjeks er utsatt for sykdom, og rogn og melke fra villfanget stamfisk gir risiko for smitte mellom foreldre og avkom. Desinfeksjon av rogn, rensing av vann, og generelt gode hygienerutiner i klekkeriet er god sikring mot sykdomssmitte. Dette gjelder rogn fra både vill og oppdrettet stamfisk. I dette prosjektet har vi testet desinfeksjon av rogn under og like etter befruktning i tillegg til desinfeksjon på øyerognstadiet.

Problemstilling

Fordi rognkjeks er mottakelig for mange sykdommer er det viktig å lage barrierer inn til klekkeriet. Desinfeksjon av rogn og melke er en viktig metode for å hindre sykdomssmitte. Rognkjeksrogn klitrer seg sammen i kontakt med sjøvann, noe som kan gjøre det vanskelig å nå all rogn ved desinfisering. Rognkjeks melke kan også være bærer av sykdomsagens. Vi har derfor undersøkt om vi kan desinfisere både melke og rogn i forbindelse med befruktning.

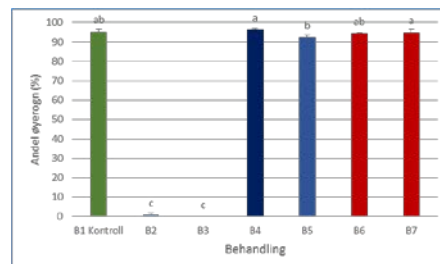
To desinfeksjonsmidler er testet: Ovadine som er en jødløsning som benyttes til desinfeksjon av lakserogn, og glutaraldehyd som har vært brukt til desinfeksjon av øyerogn fra kveite, torsk og berggylltrogn.

Desinfeksjon av rogn under og like etter befruktning

Før forsøksstart undersøkte vi hvordan spermene reagerer på de to desinfeksjonsmidlene. Melke ble tilsatt sjøvann med 50 eller 100 ppm Ovadine, eller 200 og 400 ppm glutaraldehyd. Vi så ingen effekt på motiliteten hos spermene med de to Ovadineløsningene, mens glutaraldehyd gjorde spermene immobile. I desinfeksjonsforsøket med rogn valgte vi derfor å teste kun Ovadine.

I det første forsøket ble ubehandlet kontroll testet mot desinfeksjon med to konsentrasjoner av Ovadine (50 og 100 ppm) fra befruktning i henholdsvis 30 og 10 minutter. Samme doser og behandlingstid ble testet etter herding, dvs. 15 minutter etter befruktning. I tillegg ble to konsentrasjoner av glutaraldehyd (200 og 400 ppm i henholdsvis 8 og 4 minutter testet etter herding.

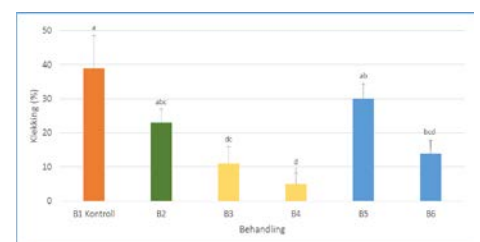
Andel øyerogn var høy i kontrollgruppen (95%) og i alle behandlingene som ble gitt etter at eggskallet var herdet, dvs. 15 min. etter befruktning. Desinfisering med 50 ppm Ovadine i 30 min under befruktning/herding ga derimot tilnærmet 0% øyerogn (Figur 1).



Figur 1

Andel øyerogn. B2 og b3 behandlet med Ovadine under befruktning. B4 og B5 behandlet med Ovadine (50 og 100 ppm) 15 min. etter befruktning. B5 og B6 behandlet med glutaraldehyd (200 og 400 ppm) 15 min. etter befruktning. SE og signifikansnivå ($P < 0,05$) er vist på figuren.

I et annet forsøk ble de samme behandlingene gjentatt. I tillegg testet vi behandling med formalin (1:4000) i 45 min. dagen etter befruktning etterfulgt av behandling med Pyceze hver 3. dag. Dette er en metode som benyttes for desinfisering av berggylltrogn. Rogna ble fulgt fram til klekking. Andel øyerogn var høy (95%), mens klekkeprosenten var relativt lav i alle behandlingene. Klekkeprosenten var høyest i kontrollgruppen (39%) og i gruppen behandlet med 200 ppm glutaraldehyd i 8 min 15 min etter befruktning (30 %). (Figur 2).



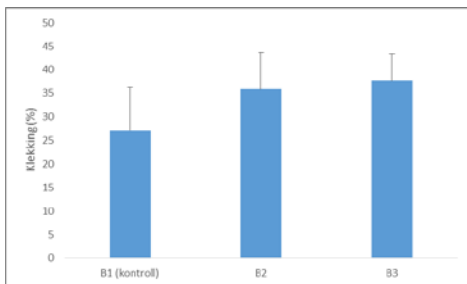
Figur 2

Klekkeprosent. B2 og b3 behandlet med Ovadine under befruktning. B4 og B5 behandlet med Ovadine (50 og 100 ppm) 15 min. etter befruktning. B5 og B6 behandlet med glutaraldehyd (200 og 400 ppm) 15 min. etter befruktning. SE og signifikansnivå ($P < 0,05$) er vist på figuren.

Desinfeksjon av øyerogn

Rognkjeksrogn ble befruktet og inkubert fram til øyerognstadiet (15 dager v/ 8% C). Da ble rogn desinfisert enten med en 100 ppm Ovadine-løsning i 10 minutter, eller med en 400 ppm glutaraldehydløsning i 4 minutter. Rogna ble fulgt til klekking.

Det var stor variasjon mellom gjentak innen hver behandling. Dette er trolig årsaken til at det ikke ble funnet statistisk sikre forskjeller i klekkeprosent mellom ulike behandlinger. Det var likevel en klar tendens til at desinfisering på øyerognstadiet ga best klekking. Kontrollgruppen ga 27 % klekking mens gruppene behandlet med Ovadine eller glutaraldehyd ga henholdsvis 36 og 38 % klekking.



Figur 3

Prosent klete larver. Ubehandlet kontroll, og rogn desinfisert med 100 ppm Ovadine i 10 minutter (B2) eller 400 ppm glutaraldehyd i 4 minutter (B3). SE er vist på figuren



Effekt av desinfisering på bakterietall og funn av kjente patogener

Det ble gjort utstryk på marin agar og blodagar både fra rogn (overflate), rognvæske, melke og fra rogn etter desinfisering (knust). I tillegg ble det tatt prøver til PCR-analyse for kjente patogener som ble analysert ved bruk av PCR. Analysene ble utført av Patogen as.

Det var generelt lave bakterietall både før og etter desinfisering, men desinfisering hadde likevel en klar effekt på bakterietallet. Det var lav forekomst av hemolyserende bakterier.

Blodparasitten *Nucleospora cyclopteri* er det eneste patogenet som ble påvist i disse forsøkene. Det ble funnet *Nucleospora* i melke før desinfisering, men den ble ikke påvist i rognvæske. Det ble funnet *Nucleospora* i et av 26 rogn i en behandling med 50 ppm Ovadine, noe som kan indikere at denne parasitten ikke drepes ved denne behandlingen.

Figur 4

Uttak av bakterieprøver etter desinfisering av nybefruktet rogn.

Hva betyr resultatene?

Behandling med 50 eller 100 ppm Ovadine under befruktning ga liten eller ingen befruktning. Dette betyr at Ovadine en ikke er egnet til å desinfisere rogn og melke under befruktning.

Desinfeksjon med 200 ppm glutaraldehyd ga noe redusert klekking ved desinfeksjon etter herding (30% mot 39% i kontroll). Dette viser at det er mulig å oppnå et brukbart resultat ved desinfeksjon av nybefruktet rognkjeksrogn. Det er imidlertid behov for videreutvikling av metoden, og for å undersøke alternative desinfeksjonsmidler.

Desinfeksjon på øyerognstadiet ga bedre klekkesresultat enn i kontrollgruppen, både for 100 ppm Ovadine og 400 ppm glutaraldehyd. Dette gir grunnlag for å anbefale desinfeksjon av rogn når den har nådd øyerognstadiet.

FHF-prosjekt

Forsøket er en del av FHF-prosjekt #901234 Hygienisk produksjon, desinfeksjon og transport av rognkjeksrogn. Prosjektet bygger på arbeid som ble gjort i FHF-prosjekt #900997 Stamfiskhold rognkjeks.

Kontaktperson



Seniorforsker Ingrid Lein (prosjektleder)

Ingrid.lein@nofima.no
+47 934 19 441

Juni 2017