

3.6.5 BEHANDLING AV BAKTERIELLE SJKDOMAR HOS FISKELARVAR I MARINT OPPDRETT

Dei siste åra har produksjonen i marine klekkeri betra seg mykje, mellom anna gjennom betre kunnskap om hygiene og næringskrav til larvane. Likevel ser ein at sjukdomar i dei tidlege livsstadia hindrar stabile, høge produksjonar av yngel. På grunn av lite utvikla immunsystem hos marine fiskelarvar kan ein ikkje vaksinere desse mot aktuelle sjukdomar. Det viktigaste ein kan gjere er å førebyggje sjukdomar, men når sjukdom først oppstår, må det behandling til.

Irja Sunde Roiha

irja.sunde.roiha@imr.no

Marine fiskelarvar er avhengige av levande fôrorganismar i dei tidlege livsstadia. Dei mest brukte fôrorganismane er hjuldyr, *Brachionus plicatilis*, og saltkrepsen *Artemia franciscana*. Fôrorganismar får i seg føde gjennom å filtrere næringspartiklar frå vatnet og får også i seg store mengder bakteriar, både nyttige og potensielt sjukdomsframkallande. Før desse fôrorganismane blir gitt til larvane, betrar ein næringsverdien av dei ved å tilsetje næringsstoff, vitaminar og forskjellige oljar, også omtala som anriking (*matpakke*). Den mest vanlege metoden for slike anrikningar er via oljeemulsjonar tilsett i vatnet.

Bioinnkapsling

Tanken bak bioinnkapsling er å nytte dei levande fôrorganismane som ein tablett for larvane. Med dette som utgangspunkt, ville vi undersøkje om ein kan behandle sjuke larvar med florfenikol ved bruk av hjuldyr og/eller *Artemia*. Inkorporering av antibakterielle midlar i fôrorganismar som metode for behandling av bakterielle sjukdomar hjå marine larvar, er godt studert for *Artemia*, men lite kjent for hjuldyr. Florfenikol er eit amfenikol med liknande struktur og antibakteriell aktivitet som kloramfenikol. Florfenikol er bakteriostatisk (hemmar proteinsyntesen til bakteriar) og har baktericid aktivitet (drep bakteriar). Slik er florfenikol eit breispektra antibiotikum som er aktivt mot ei rekkje bakteriar. For oppdrett i Noreg er florfenikol tilgjengeleg som medikamentet Aquaflo, som er godkjent til behandling av furunkulose og kaldtvassvibriose hjå laks og aure. Florfenikol er i dag det nest mest brukte antibiotikum i norsk oppdrett.

Florfenikol er tungt løseleg i sjøvatn og vil difor føreliggje som partiklar når ein tilsett dette i vatnet. I våre studiar ville vi teste om florfenikol i partikkelform kunne bli teke opp av hjuldyr og *Artemia*, kva konsentrasjonar ein kan oppnå og kor raskt denne prosessen går. I vidare studiar vart anrika hjuldyr og *Artemia* gitt til torsk- og kveitelarvar, og det viste seg at det er

mogeleg å medisinerer marine fiskelarvar ved hjelp av levande fôrorganismar.

Metode

Som feltforsøk brukte vi 10-liters bytter med florfenikol direkte i vatnet til fôrorganismane. Etter bestemte tidsintervall vart dyr hausta frå bytta, vaska og fryst. I laboratoriet vart prøvane av dyra analyserte ved organisk ekstraksjon av florfenikol med påfølgjande analysar.

Resultat

Både rotatoriar og *Artemia* tok effektivt opp florfenikol, og vi såg at opptaket i dyra var avhengig av både tid (kor lenge vi anrika) og dose (kor mykje florfenikol vart tilsett i vatnet). Vi køyrde feltstudiar med både torsk- og kveitelarvar. For torsk har vi testa med begge fôrorganismane og sett at florfenikol vert teken opp i larvane frå både rotatoriar og *Artemia*. Sidan ein berre brukar *Artemia* som fôrorganisme til kveite, har vi testa denne organismen for desse larvane. Resultata viste at florfenikol også vert teken opp i kveitelarvane.

Det flotte med denne metoden er at det går raskt å få anrika fôrorganismane med florfenikol. Tidlegare studiar med anriking av andre typar antibiotika i *Artemia* har gått over fleire timar eller opp til eit døger. I våre studiar såg vi at opptaket skjedde veldig raskt, og etter berre 30–60 minutt flata det ut. Det vil seie at ein ikkje vinn noko særleg på å anrike lenger enn ein time. Dersom ein skal behandle sjukdom i klekkeri, er det særst viktig å kome i gang med behandling så raskt som mogeleg, før larvane blir så dårlege at dei sluttar å ete. Vi har sett at konsentrasjonen av denne medisinen i larvane er høg nok til å ta livet av sjukdomsframkallande bakteriar. Slik kan denne metoden godt nyttast til behandling i marine yngelanlegg.

Andre bruksområde

Denne metoden kan brukast i alle klekkeri der ein brukar levande fôrorganismar og kan nyttast til andre medikament og immunstimulantar. Den kan ha stort potensial, spesielt i Asia der ein brukar enorme mengder med antibiotika i til dømes produksjon av reker.



Foto: Irja Sunde Roiha

Figur 3.6.5.1

To hjuldyr *Brachionus plicatilis*. I torsk- og kveitelarvar brukar ein hjuldyr som levande fôr frå om lag dag 3 etter klekking og fram til om lag dag 30.

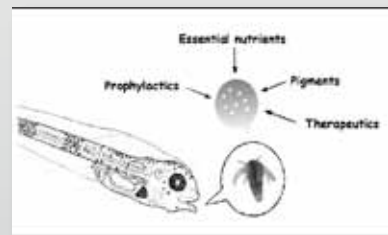
Two rotifers *Brachionus plicatilis*. In cod hatcheries rotifers are used from around day 3 after hatching and up until around day 30.



Foto: Irja Sunde Roiha

Figur 3.6.5.2

Artemia franciscana nauplii med cyste. I torsk- og kveitelarvar brukar ein *Artemia* frå om lag dag 25 og fram til weaning, gjerne med en overlappingsperiode mellom hjuldyr og weaning. I kveitelarvar brukar ein berre *Artemia* som levandefôr, frå om lag 35 og fram til weaning ved om lag dag 80. *Artemia franciscana* nauplii with a cyst. In cod hatcheries *Artemia* are used as live-feed from around day 25 and up until weaning, with some overlapp both. In halibut hatcheries *Artemia* is the only live-feed organism in use, from around day 35 and up until weaning around day 80.



Figur 3.6.5.3

Tanken bak bioinnkapsling eller anriking (modifisert teikning frå Støttrup & McEvoy 2003).

Principles of bioencapsulation or enrichment (Modified from Støttrup & McEvoy 2003).



Foto: Irla Sunde Roilha

Figur 3.6.5.4

Bilete som viser eit enkelt forsøksoppsett. Anriking av *Artemia* i 10-liters bytter med lufting.

Picture of an experimental set-up. Enrichment of *Artemia* in 10-l containers.

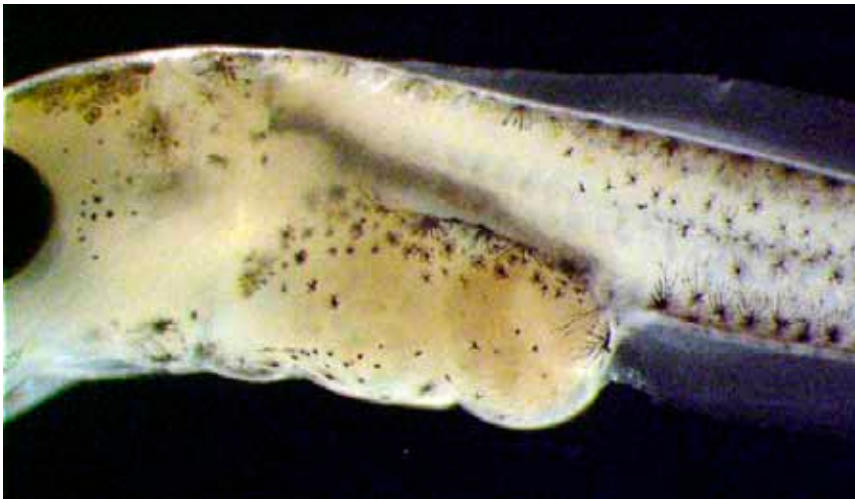


Foto: Irla Sunde Roilha

Figur 3.6.5.5

Torskelarve med anrika *Artemia* i magen. Cod larvae with enriched *Artemia* in the stomach.

Antibacterial Treatment Method for Marine Fish Larvae

Despite improved production in fish hatcheries through better husbandry and increased knowledge of larval nutrient requirements the recent years, stable productions of marine larvae are limited by the outbreak of bacterial infections during the early life stages. Due to the immature status of lymphoid tissues when hatched, the larvae possess no specific immune system, and vaccination is therefore not an option at this stage. Hence, in order to treat an infection, antibacterial therapy is needed.

At the earliest life stages, marine fish larvae are dependent on live feed organisms, and the most important are the rotifer *Brachionus plicatilis* and the brine shrimp *Artemia franciscana*. Prior to be offered to the larvae rotifers and *Artemia* sp. are given nutrients, vitamins and essential oils, during an enrichment process (bioencapsulation). Through bioencapsulation live feed organisms

are used as carriers of nutrients or chemotherapeutants. We wanted to investigate whether treatment of infected larvae with florfenicol was possible using rotifers and/or *Artemia* sp. as carrier organisms. Florfenicol is a broad spectrum antibiotic effective against a range of disease causing bacteria. For the Norwegian aquaculture industry florfenicol is available as Aquaflor and is approved for treatment of furunculosis and cold-water vibriosis in Atlantic salmon and rainbow trout, and is at present the second most used antibiotic in Norwegian aquaculture.

Both rotifers and *Artemia* sp. effectively incorporated florfenicol, and the assimilation in the organisms was dependent on both time (duration of the enrichment process) and dose (amounts of florfenicol added to the water). We have performed a number of field studies with cod and halibut larvae. Florfenicol was successfully incorporated in larvae at concentrations high enough to kill potential disease-causing bacteria. The great advantage using

this method is the velocity of the florfenicol enrichment process, where most of the uptake happened within the first 30-60 minutes. It is very important to identify disease outbreaks and initiate treatment as early as possible, before the larvae become so weak that they stop eating. Accordingly, this method may be applicable for treatment of bacterial diseases in marine hatcheries.

This method may be of benefit in all hatcheries using live feed organisms, and is also applicable to other compounds and immune stimulants.