

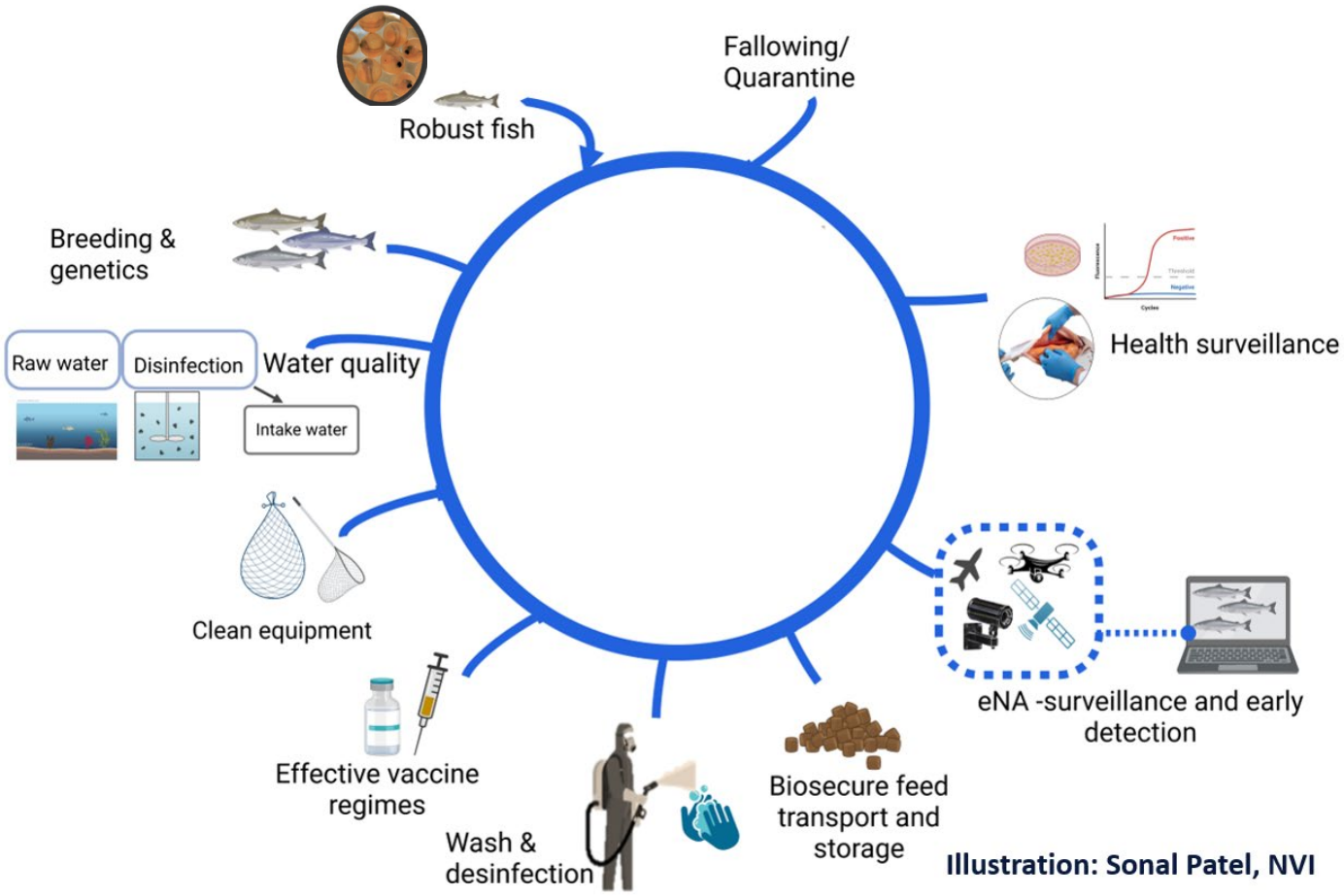
Sonal Patel/Aquaculture health

Når fisken er borte men patogener blir igjen -

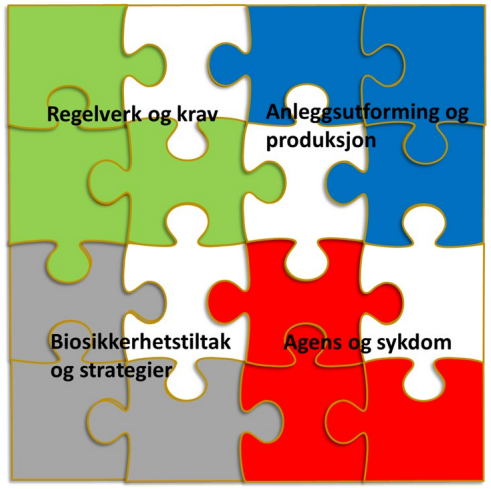
Hva vet vi om patogen persistens i RAS?

Norwegian
Veterinary Institute

Biosecurity: multi-factorial



Experiences from industry




BRAS
Vitenskapet

Hvordan arbeider næringen med biosikkerhet i RAS?

Akvaplan-niva rapport: 2024 64276.01
Veterinærinstituttets rapportserie, rapport 2024_5

Praktisk biosikkerhetsarbeid i resirkulerende akvakultursystemer (RAS)

FHF 901792 – Biosikkerhet i RAS (BRAS)

Akvaplan niva · NIVA · Veterinærinstituttet

Larsen, Sondre Veberg., Tørud, Brit., Hess-Erga, Ole-Kristian., Furseth, Kamilla., Patel, Sonal. (2024).
Praktisk biosikkerhetsarbeid i resirkulerende akvakultursystemer (RAS).
Akvaplan-niva rapport nr. 2024 64276.01 og VI rapportserie 2024_5. ISBN 97-82-449-0074-4.

FHF - prosjektdatabasen

Biosecurity measures (BM):

1. Fish out of system
2. BM1 + wash & disinfect tanks
3. BM1 &2+ partial wash and/or disinfection of water treatment system
4. BM1-3, Sanitization of whole system including bioreactor

Additional: varying period of **Fallowing**

Pathogens and disease history at the facilities

Facility	Last 5 Years	At Interview	Comment
1	ILAV-HPR0, PRV, HSMB	PRV	Working on PRV
2	ILAV-HPR0, Saprolegnia	ILAV-HPR0	
3	IPN	IPN	Acquired new IPNV strain
4	IPN	None	Introduced fry with IPNV only in one tank in 2021
5	PRV, HSMB, ILAV-HPR0, *Pseudomonas fluorescens*, Spironucleus salmonicida	PRV, HSMB	Screening of house strain, microbiome with Pharmaq Analytiq's NGS
6	ILAV-HPR0	ILAV-HPR0	
7	Yersinia, ILAV-HPR0, Costia, Flavobacterium, Tenacibaculum	*Tenacibaculum*, *Flavobacterium*, ILAV-HPR0	No active disease challenges except tail rot found with Tenacibaculum and Flavobacterium
8	ILAV-HPR0, part of ILA, *Vibrio* spp., *Ps. fluorescens*, *A. hydrophila*	Ps. fluorescens	*Ps. fluorescens* typically 1-2 weeks after moving to smolt section (fry)

- *Ca*. Branchiomonas cysticola
- *Yersinia ruckeri*
- *Pseudomonas* spp.
- Saprolegnia
- +++++

Clear difference between fish batches?

Age of biofilter is important - takes time to achieve stable and mature biofilters – outcompetes invading pathogens?



Norwegian Veterinary Institute

- Lack of knowledge about several factors
  - Persistence & establishment of pathogens
  - Methods/protocolls to get rid of those
- Biosecurity measures:
  - «Trial and error»
  - Several rounds



Norwegian
Veterinary Institute

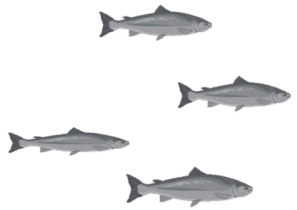
Typical biosecurity measures

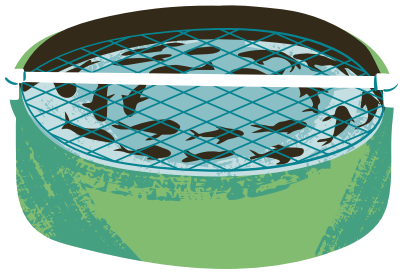
- Mechanical wash + with and without disinfection of tanks
- Pipe wash + water treatment system
- Anaesthesia in bioreactor
- Chemicals with chlorine/PAA
- Dry biofilter occasionally/ drains water in FBBR
- Circulates O_3 throughout the water treatment
- Treatment with lye pH > 12 and acid pH < 4
- Liquid ozone

Identify practices and test in trial

Test effect of different biosecurity measures in use in the Norwegian Industry

- Fallowing
- Cleaning and water exchange
- Ozonation



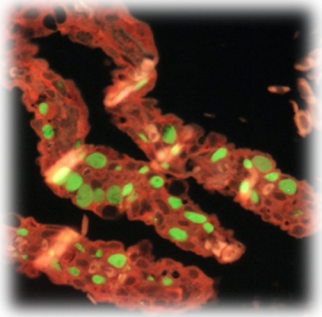


- **Survey of industry biosecurity**
- **Experimental trials**
- **Commercial RAS facilities**

Pathogens for experimental trial

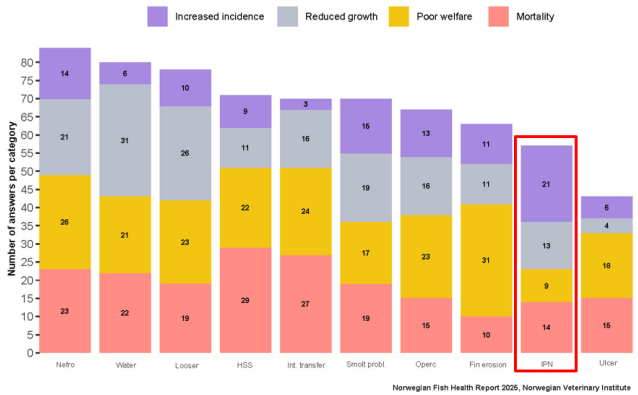
- Infectious Salmon Anaemia Virus (ISAV) HPRdel (virulent)

- *Ca*. Branchiomonas cysticola
  - Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV)
  - Piscine Orthoreovirus (PRV)

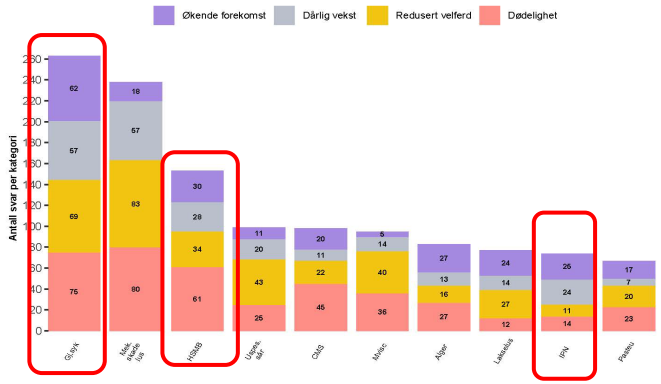


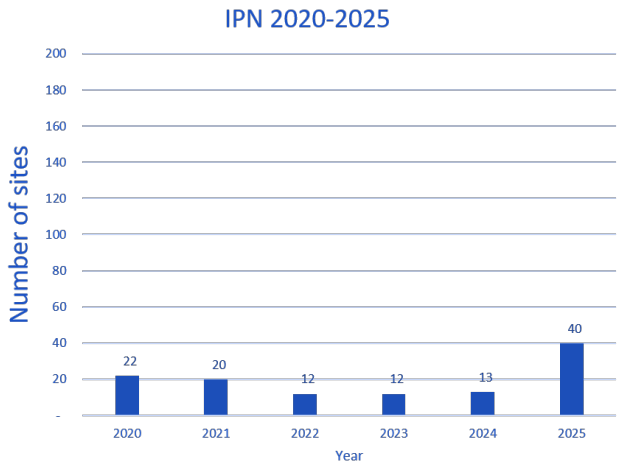
Fish health report – status 2025

Smolt phase



Grow-out phase

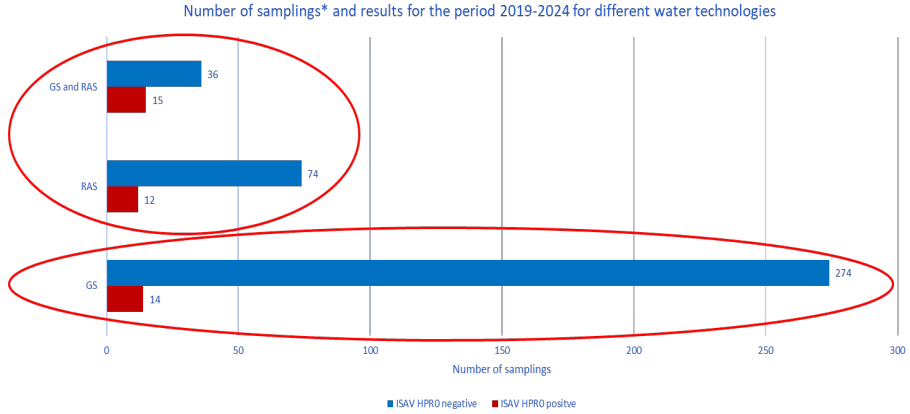






Figures: Victor Oliveira, Hege Løkslett, NVI

ILAV HPR0



Two Isavirus variants

Connection between ILAV HPR0 in smolt phase to ISAV HPRdel/ISA in Grow-out phase

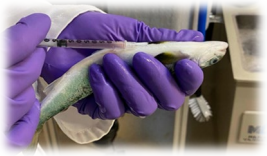
Fiskehelserapporten, Torfinn Moldal, NVI

Two trials





1. ISAV



IP challenge:

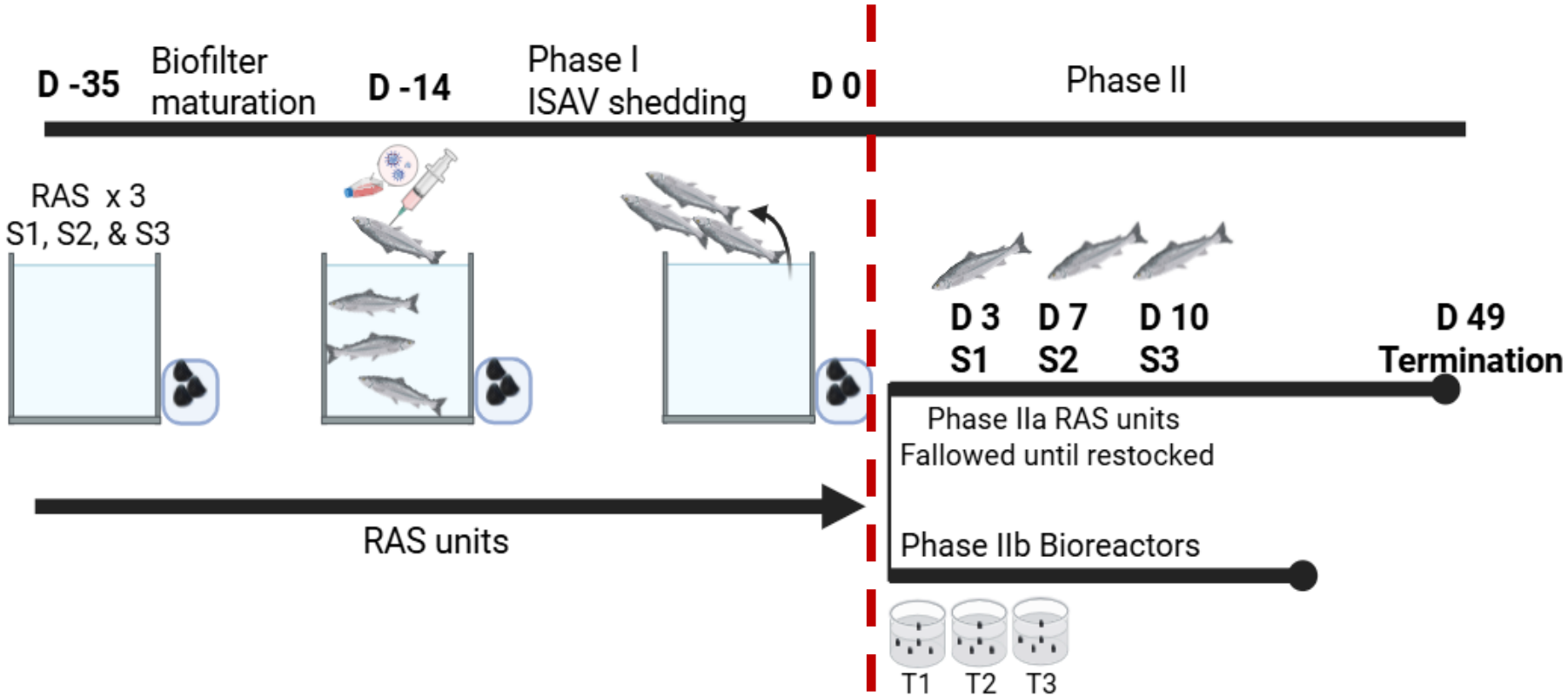
smolt 50 g

2. Ca. Branchiomonas cysticola + IPNV + PRV



Transport of infected smolt from commercial farm - ~78 g

A. Experiment set-up



Trial 2:

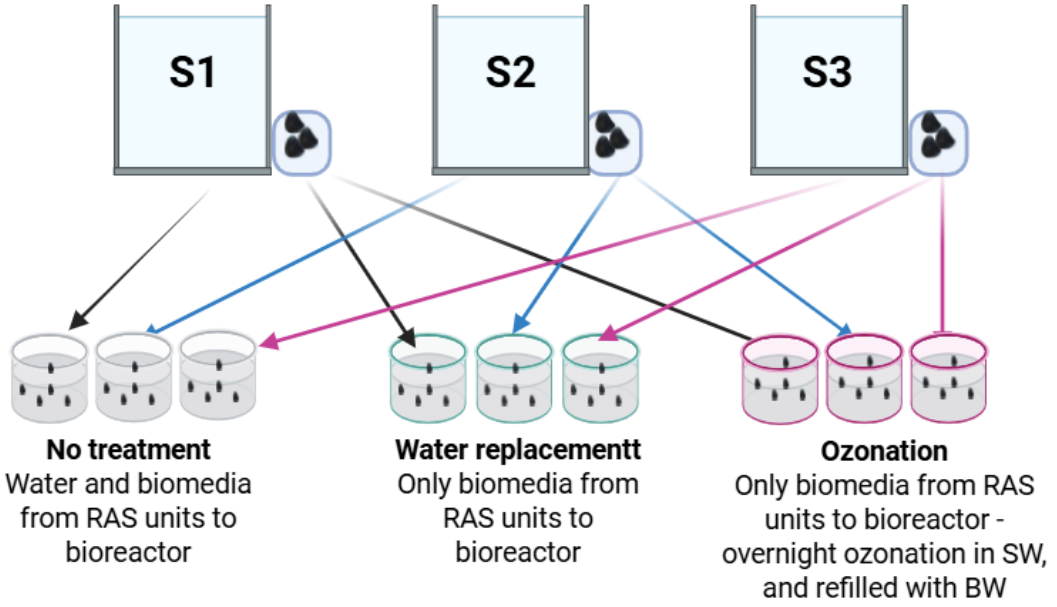
Shedding period 3 weeks

S1 - 5 hrs

S2 - 2 days

S3 - 4 days

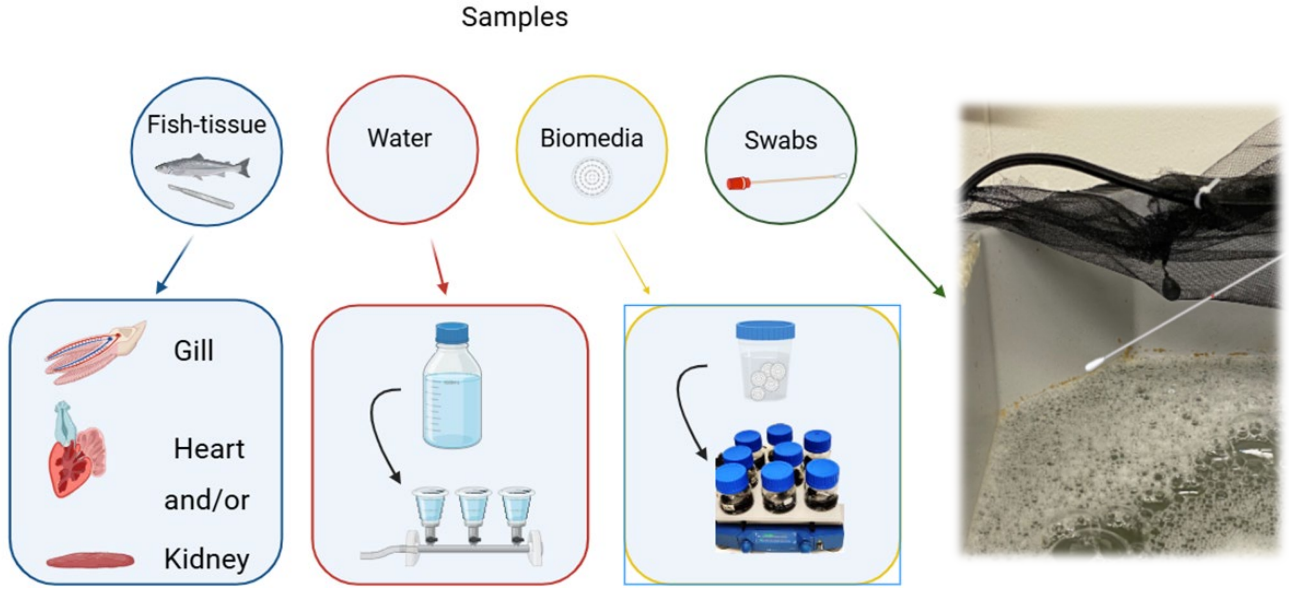
Phase II: small scale bioreactors





Sampling, processing and analyses





Infected "shedders"/ Nâive fish at termination

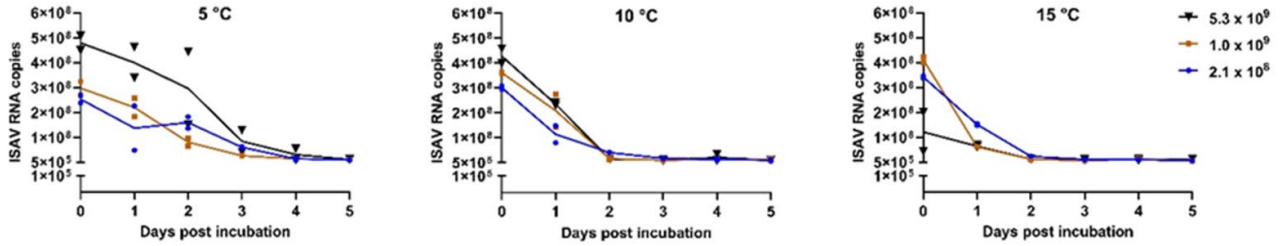
- qPCR
- Histology
- Immunohistochemistry

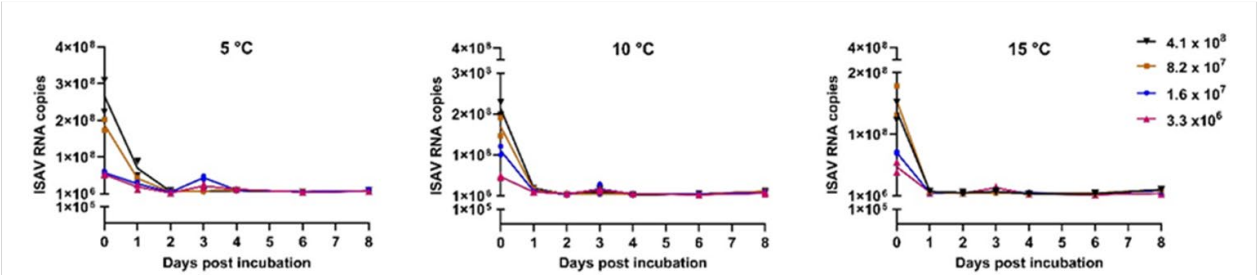
Analysis

- qPCR
- IFAT staining

ISAV persistence in seawater

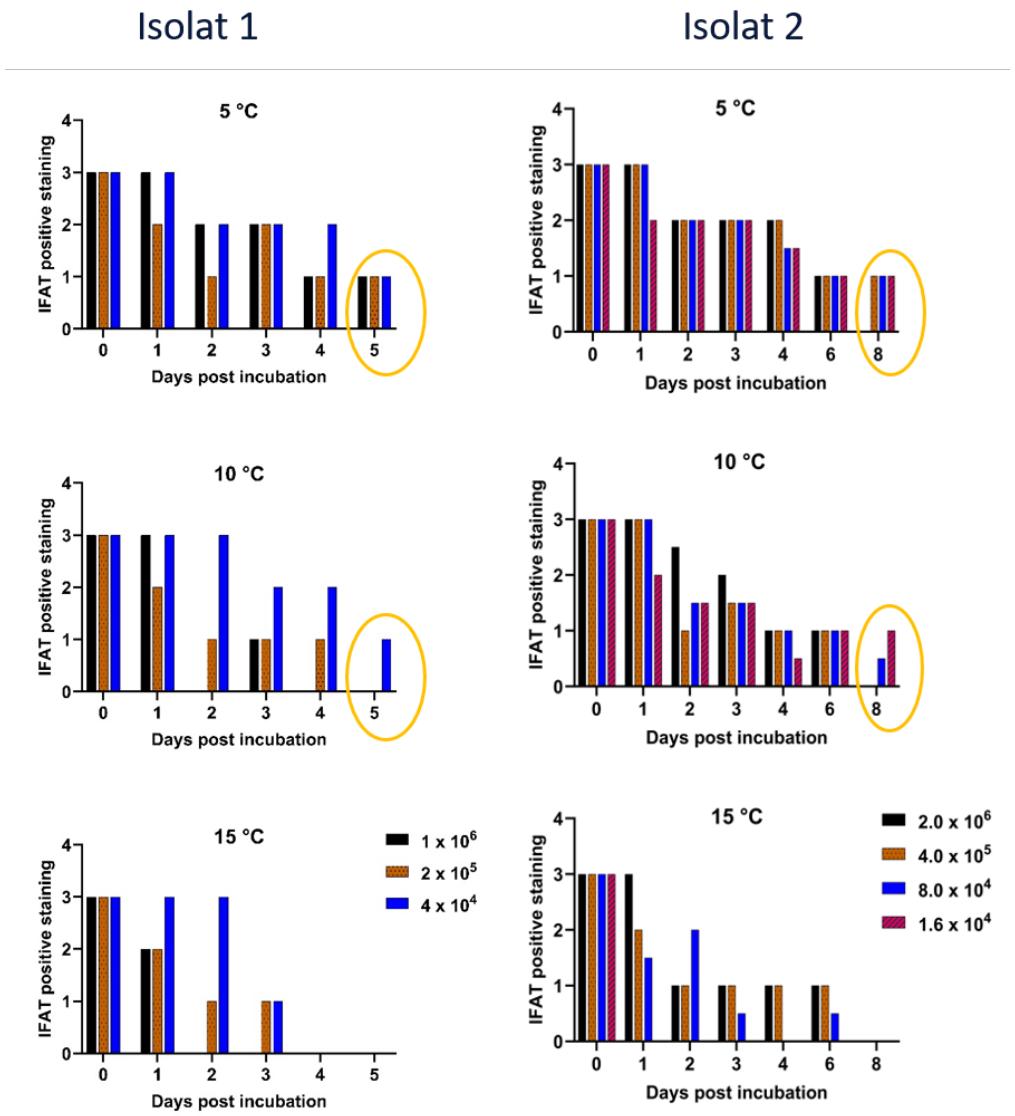
Viral RNA copies





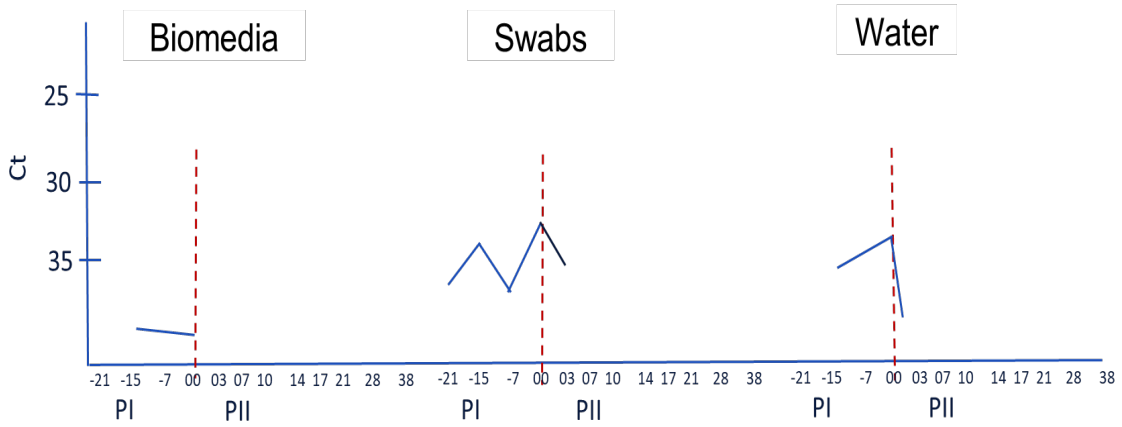
Weli et al, 2025

Infective ILAV



Persistence- Substantial pathogen dependent variation

Ca. B. cysticola



Summary – lab trials


BRAS
Vitenskapet

Spredning, overlevelse og inaktivering av fiskepatogener i labskala-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 labskala-RAS, nærmere bestemt i vannet, på biologemer 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.

Sonal Patel[1], Duncan Colquhoun[1], Paulo Fernandes[1], Simon Weli[1], Marta Guimarães Mourão[1,2], Håkon Dale[3], Ivana Ruaikvam[1], Lisa Øverdal[1], Merete Sture Glåsvær[1], Miriam Furre[1], Saima Mohammad[1], Sondre Vebenq Larsen[1], Elisabeth Midtbø Vik[4], Reidar Handegård[4], Melanie Andreas[4], Mai-Linn Jæger Agot[4], Hanne Nilsen[4] og Ole Kristian Hess-Erga[4]

[1]Veterinærinstituttet, [2]Nina, [3]Universitetet i Porto, [4]UiB, [5]Akvaplan-niva, [6]Patogen, [7]LAB, [8]Marinehotmen RASLab

sonal.jayesh.patel@vetinst.no

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 inntakskvannet 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 fæces, smittet fisk, transportvann o.l. Hvis slike agens først kommer inn i RAS, kan de bli utfordrende å fjerne, spesielt uten å påvirke biofiltrenet 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 infeksiøs pankreas nekrosevirus (IPNV) og infeksiøs lakseanemi virus (ILAV HPR0).

Det finnes ingen 'standardtiltak' for rengjøring og desinfisering av de ulike RAS-komponentene, inkludert biorealtorer, 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%202%202024-BRAS.pdf). Med grunnlag i denne kartleggingen ble det gjennomført kontrollerte laboratorieforsøk hvor introduksjon, 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 labskala RAS-enheter (CPT-1, MATKULING 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**). Biologemene i de tre identiske RAS-enhetene (ca 1.100 biologemer i hver RAS) ble modnet på forhånd i egne modning-stanker 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 intraperitonalt med ILAV HPRdel og forsøk 2 med laksesmolt (ca. 78 g) fra et kommersielt anlegg med påvist infeksjon av *Ca.* Branchiomonas cysticola og infeksiøs 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 fôret og drfket likt.

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

68 Landbrasedr.no · Nr 3-2024

Not effective: IPNV, PRV - näive fish positive at termination- so short-term (4 days) fallowing ineffective

Treatments

Fallowing :

Effective: *Ca.* Branchiomonas and ISAV HPRdel (virus degradation over time?)

- Pathogen load too low to sustain infection?
- Short persistence following removal of fish

Water exchange/replacement: NO real effect

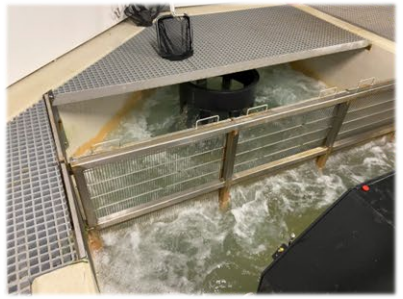
Ozonation: effective for elimination of ISAV HPRdel & *Ca.* Branchiomonas, but not completely for IPNV and PRV?

Commercial RAS facilities

5 (6) cases:

- *Ca.* Branchiomonas cysticola – 2 sites
- PRV – 3 sites
- IPNV – 1 site + historical case
- HPR0 – 1 site











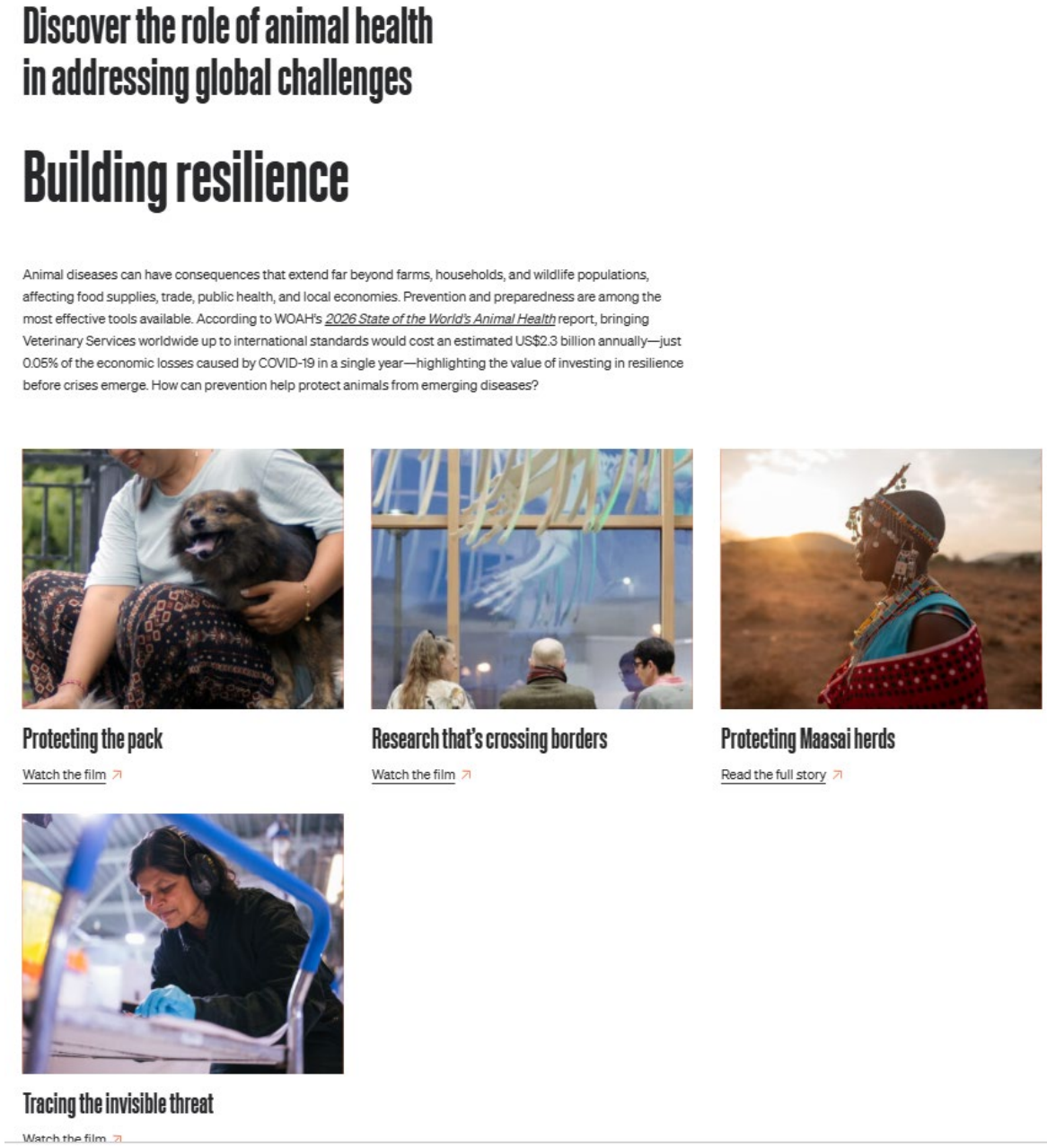


Collaboration for improved fish health

[Animals & Us - WOAH - World Organisation for Animal Health]

[European Partnership for Animal Health and Welfare - YouTube]

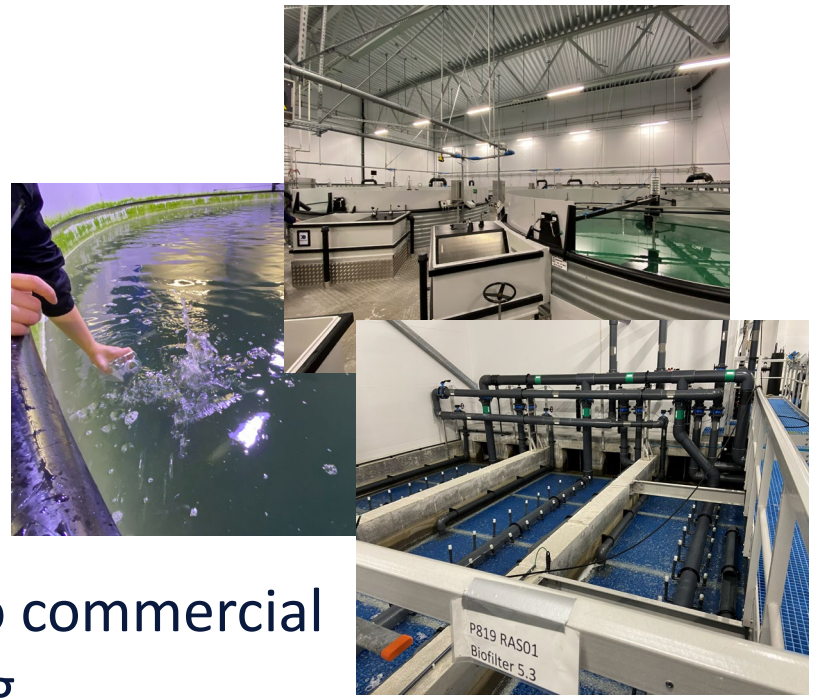
[eupahw yout tube - Google Search]



Norwegian Veterinary Institute

Bridging the knowledge gap





Vital role of Lab scale to commercial scale testing

Thanks to Industrial partners:

Osland Settefisk
Salmar Settefisk
Erko Settefisk
Helgeland Smolt
Grieg Seafood ASA
Lerøy Aurora
Salangfisk
Mowi ASA
Hardingsmolt AS
Ænes Inkubator AS

Thanks

Norwegian Veterinary Institute — Sonal Patel, Duncan Colquhoun, Simon Weli, Brit Tørud, Merete Sture Gåsvær, Miriam Furne, Saima Mohammad, Henriette Kvalvik, Marta Moutinho

NIVA — Ole Kristian Hess-Erga, Paulo Fernandes, Stephanie Delacroix, Kamilla Furseth

Akvaplan niva — Sondre Veberg Larsen

PATOGEN — Elisabeth Midtbø Viik, Martin Huun-Røed

IAB — Reidar Handegård, Melanie Andrews, Mai-Linn J. Aga

Universitetet i Bergen — Håkon Dahle

PURE salmon Technology — Morten Lund, Erik Sterud, Ragnhild Hasche

VESO — Sigmund Sævetdal

Nofitech — Kari Attramadal

Funds

FHF - 091792

SOA15 A2-1

EUP AH&W European Partnership on Animal Health and Welfare

«Co-funded by the European Union under project 101136346 EUPAHW. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Research Executive Agency. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.»

Scientifically ambitious, forward-looking and collaborative – for One Health

Norwegian
Veterinary Institute