 <p>UNIVERSITETET I NORDLAND</p> <p>Biologisk Forskningsgruppe FBA</p> <p>8049 BODØ Tlf.: 75517360 / 75517200 Fax: 75517410</p>	Testrapport		
	Tittel:		
	Effekt av Oxirate-behandlet sjøvann på Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i> L.)		
	av		
	Robert A. Eliassen		
Dato:	Prosjekt nr.:	Kortnavn:	Antall sider:
24.05.2011	73790	Oxirate	8
Arkiv: Test Av Oxirate			
Status: Avsluttet			

Innledning

I produksjon av oppdrettsfisk håndteres fisken ofte i forbindelse med sortering, vaksinerings og flytting mellom kar. I denne forbindelse vil fisk trenges sammen og holdes i mindre vannvolum under høye tettheter. Det er i slike sammenhenger økt risiko for overføring av smitt gjennom direkte kontakt, særlig hvor fisk fra flere kar blandes. En mulig måte å redusere risiko for kontaktsmitte var å benytte Oxirate i vann for å desinfisere vann så vel som overflate på fisk. Oxirate – aktivt ionisert vann, har vist god antibakteriell effekt i vann selv ved lave konsentrasjoner. Oxirate er sterkt oksiderende og vil drive redokspotensialet i vann opp, i tillegg er det aktive virkestoffer, som natriumhypokloritt, ozon og hydrogenperoksyd tilstede i moderate konsentrasjoner. Bruk av Oxirate vil ikke medføre utslippe av biocider eller andre giftstoffer når det slippe i miljøet. Effektiv og risikofri desinfeksjon av produksjonsvann eller overflater som i rør, kar og holdetanker for vann kan være av stor nytte for oppdrettsnæringen. Tidligere undersøkelser har vist at tilsetning av 0,2 og 0,4 % Oxirate har gitt god desinfeksjonseffekter når redokspotensialet er økt fra 250 mV til 350 mV.

I dette prosjektet, som ble initiert av Medis Pharmaceuticals AS, ønsket man å se på toleranse og mulige effekter på laks ved innblanding av Oxirate i sjøvann.

Material og metode

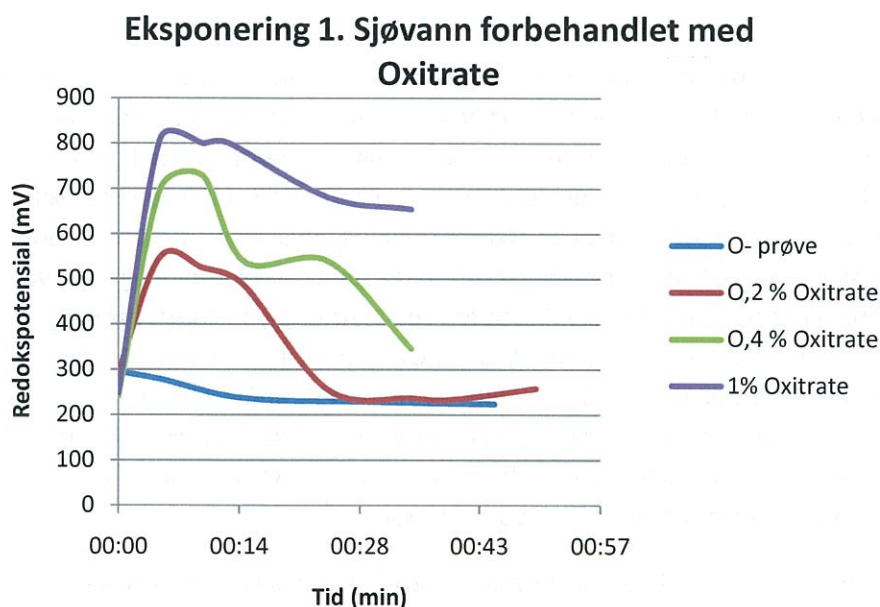
Det ble den 11. april 2011 gjennomført to eksponeringsforsøk hvor Atlantisk laks (*Salmo salar* L) (187 ± 43 g/ $25,0 \pm 2,0$ cm n=48) ble eksponert for:

1. sjøvann forbehandlet i 5 minutter med Oxitrate i dosene 0; 0,2; 0,4 og 1,0 %,
2. direkte tilsetning av Oxitrate i dosene 0; 0,2; 0,4 og 1,0 %

Fisk ble eksponert ved at den ble hovet direkte fra kar over i eksponeringsenheter à 60 l hvor fiskens adferd ble observert samt respirasjonsfrekvens registrert (slag med gjellelokk). Det ble forløpende målt redokspotensialet (Palintest Instrument, Micro 500), pH (Radiometer analytical, PHM201) og oksygen nivå (Oxyguard Polaris) i vann under eksponeringstiden. Eksponering ble avsluttet når oksygenmetning nådde 60 % metning, dvs. mellom 45 – 50 minutter. Ved avslutning ble fisk avlivet og blodprøver tatt for analyse av kortisol (stresshormon) og gjeller ble fiksert i 37 % buffret formalin for histologiskanalyse.

Resultater

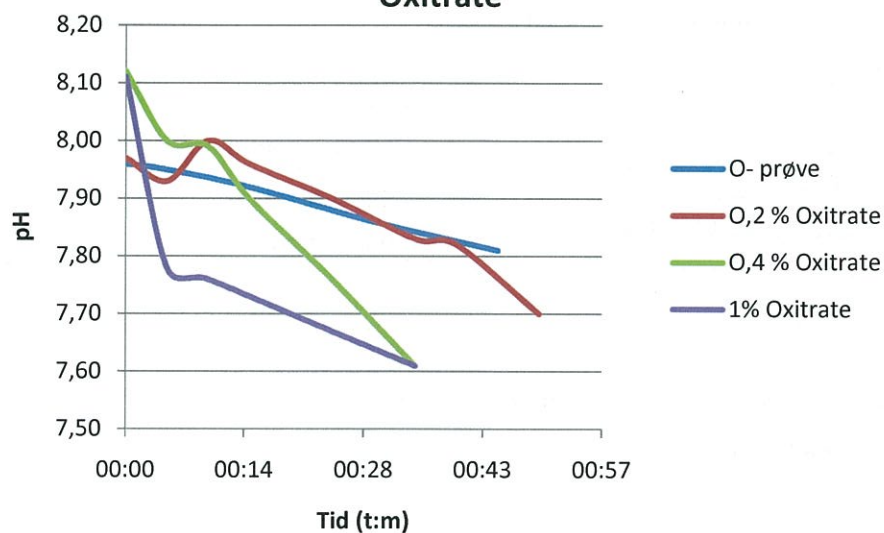
Eksponering 1 - Forbehandling med Oxitrate:



Figur 1 Redokspotensialet (mV) i ubehandlet sjøvann og etter tilsetning av ulike konsentrasjoner Oxitrate ca. 5 minutter før fisk ble eksponert.

Redokspotensialet (mV) økte fra ca 270 ± 29 mV i ubehandlet sjøvann til ca 550; 720; og 810 mV ved tilsetning av hhv. 0,2; 0,4 og 1,0 % Oxitrate. Potensialet avtok utover eksponeringstiden som vist i Figur 1. I sjøvann med en pH på ca 8,0 falt over tid pga. fiskens metabolskaktivitet og konsentrasjon av Oxitrate og var ved avslutning ca 7,6 ved tilsetning av 0,4 og 1,0 % Oxitrate.

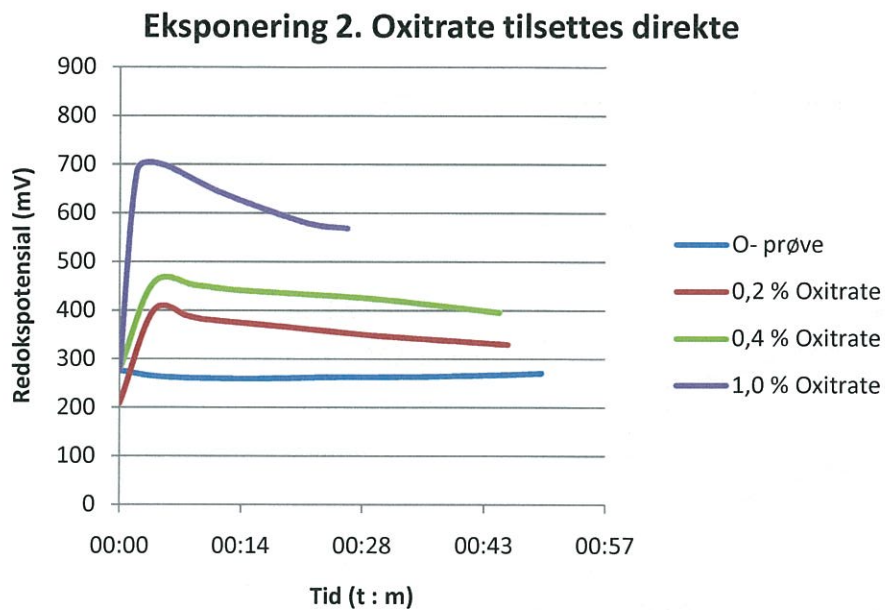
Eksposering 1. Sjøvann forbehandlet med Oxitrate



Figur 2 pH i ubehandlet sjøvann og etter tilsetning av ulike konsentrasjoner Oxitrate, ca 5 minutter før fisk ble eksponert.

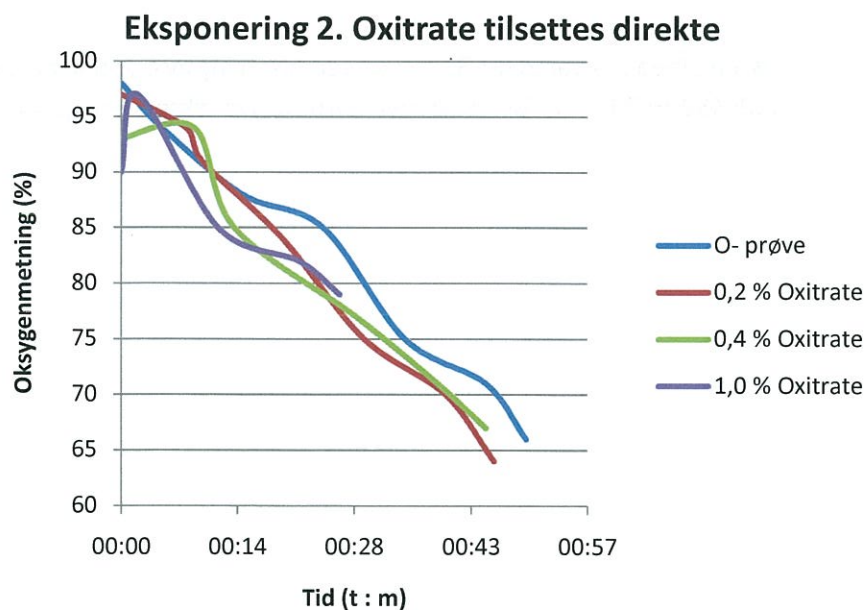
Eksposering 2 - Direkte tilsetning av Oxitrate i vann med fisk:

Redokspotensialet i ubehandlet sjøvann med fisk var 260 ± 30 mV og ved tilsetning av 0,2; 0,4; og 1,0 % Oxitrate økte potensialet til hhv.400; 450 og 700 mV, før det gradvis avtok utover eksponeringsperioden (Figur 3).



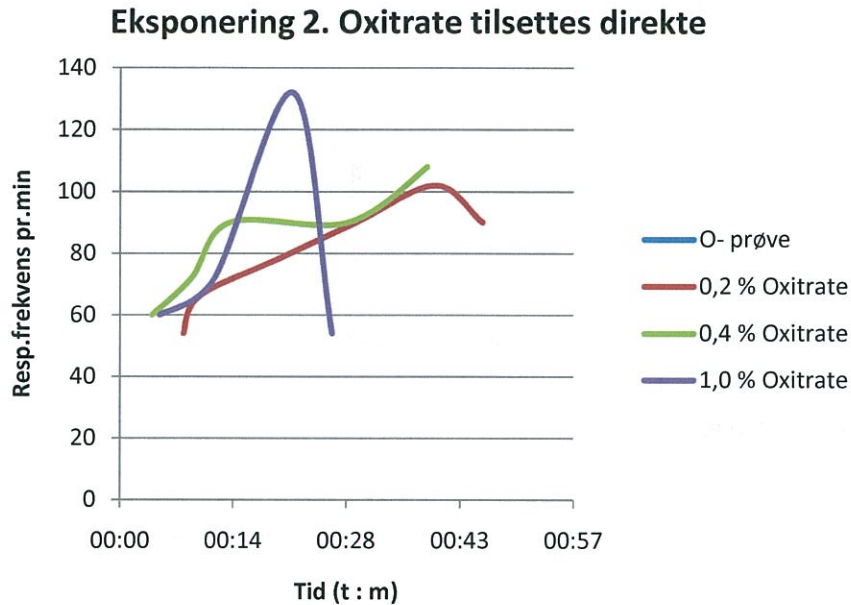
Figur 3 Endring i redokspotensialet (mV) ubehandlet sjøvann og ved tilsetning av ulike konsentrasjoner Oxitrate i sjøvann med fisk.

Oksygenforbruket under eksponeringen ble registrert som prosentvis endring i oksygenmetning, og som vist i Figur 4 avtok metningsgraden nokså likt ved Oxitrate konsentrasjonene på 0,2 og 0,4 %. Fiske eksponert for 1,0 % ble avsluttet etter ca. 20 minutter pga adferdsendring (snapping av luft).



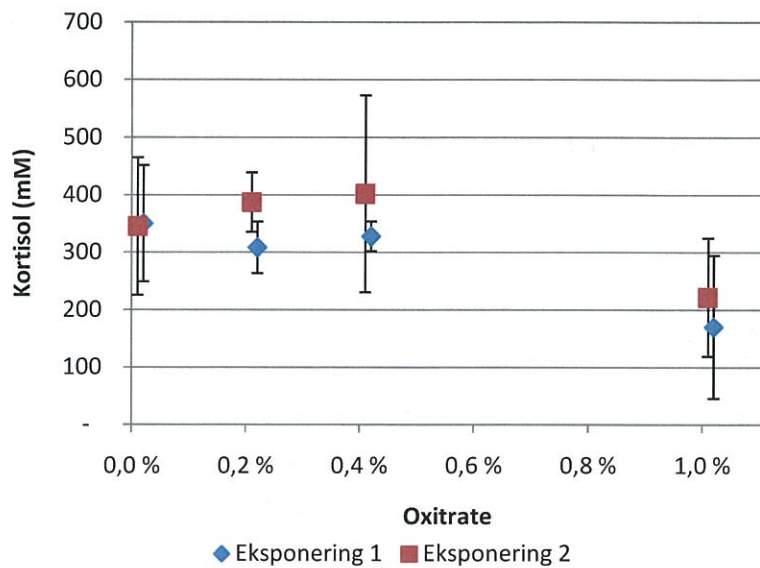
Figur 4 Oksygennivå, målt som %-vis oksygenmetning, i ubehandlet sjøvann og ved tilsetning av ulike konsentrasjoner Oxitrate i sjøvann med fisk.

Respirasjonsfrekvensen, målt som gjellelokk bevegelser pr minutt, økte gradvis utover i eksponeringsperioden, med unntak ved 1,0 % Oxirate hvor respirasjonsfrekvensen økte raskt til ca. 130 slag/min før den falt til under 60 slag/min.



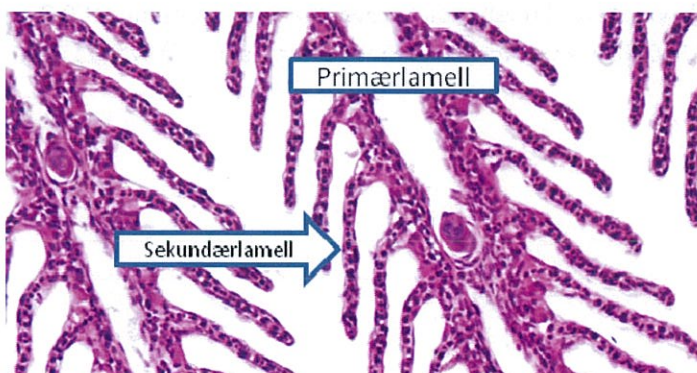
Figur 5 Respirasjonsfrekvens, målt som antall gjellelokk bevegelser per minutt, hos laks eksponert til ulike konsentrasjoner Oxirate i sjøvann.

Stresshormonet plasma kortisol ble analysert som en indikator på stressbelastning ved håndtering fra oppdrettskar til et begrenset volum med ulik konsentrasjon av Oxirate. Etter eksponering (45 – 50 min.) var det ingen signifikant forskjell mellom fisk håndtert til ubehandlet sjøvann eller sjøvann tilsatt 0,2 og 0,4 % Oxirate (354 ± 98 nM $n=36$). Ved 1,0 % Oxirate var kortisolnivået hos fisk lavere (197 ± 112 nM $n=12$) enn de øvrige gruppene, se Figur 6.



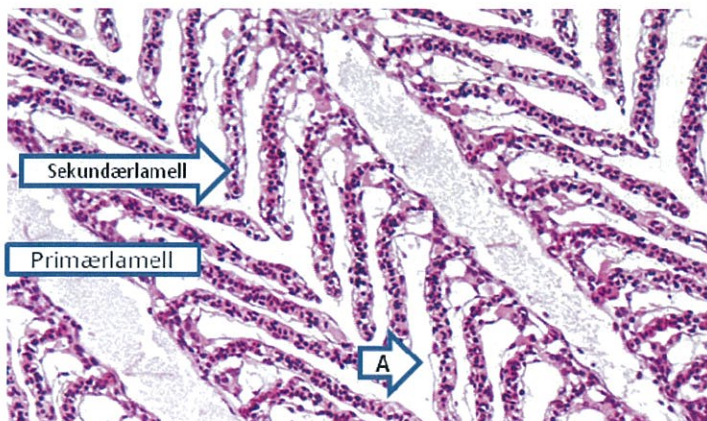
Figur 6 Stresshormonet plasma kortisol (nM) måt hos laks etter eksponering i sjøvann tilsatt 0,0; 0,2; 0,4 og 1,0 % Oxirate

Gjellelev fra laks i eksponeringsforsøk 1 og 2 fiksert og senere snittet for histologisk analyse. Det ble ikke påvist endringer fra normalstrukturer hos fisk eksponert for 0,2 % Oxirate i ca. 50 minutter (Bilde 1), ved 0,4 % var det påvist endringer men ikke av irreversibel karakter.



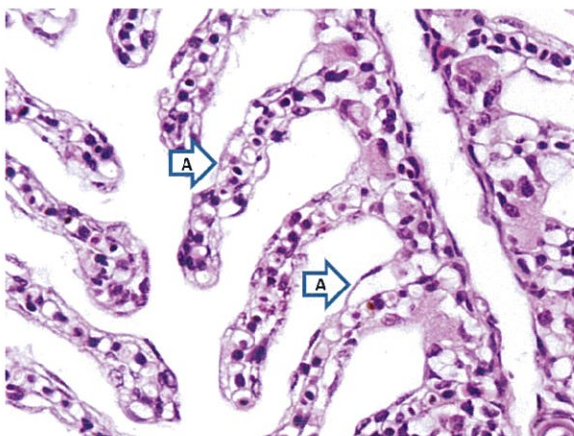
Bilde 1 Histologisk snitt (200 x forstørrelse) av gjeller fra laks (fisk H224 1), etter eksponering til 0,2 % Oxirate i ca 50 minutter. Primær- og sekundærlamella er markert.

Laks eksponert for konsentrasjon på 1,0 % Oxirate viste store og irreversible skader på gjellen. Sekundærlamell var tydelig svullenceller forstørret og med delvis membranbrist (hypertrofi og hyperplasia), som vist i Bilde 2.



Bilde 2 Histologisk snitt (200 x forstørrelse) av gjeller fra laks (fisk H229 1), etter eksponering til 1,0 % Oxitrate i ca 20 minutter. Område hvor basalmembran er løsnet er markert med "A".

Basalmembran var i områder løsnet fra epitelceller (ødem separasjon) (markert som "A" i Bilde 2 og 3)



Bilde 3 Histologisk snitt (600 x forstørrelse) av gjeller fra laks (fisk H230 1), etter eksponering til 1,0 % Oxitrate i ca 20 minutter. "A" markerer område på sekundærlamell hvor basalmembran er løsnet

Diskusjon

Desinfeksjonseffekten av sjøvann er som endring i redokspotensialet bedre ved forbehandling av vann (Figur 1 og Figur 3). Fra tidligere undersøkelser vil et reokspotensial over 350 – 400 gi en god antibakteriell effekt og kunne bidra til redusert smittepress. Forbruk av oksygen og adferd registret under eksponeringsperioden viser svært lik utvikling hos fisk i kontrollgruppen og eksponert for 0,2 og

0,4 % Oxirate. Det samme viser fysiologiske måleparametre som respirasjonsfrekvens og nivå av stresshormonet kortisol. Det var ingen forskjell på fisk håndtert fra oppdrettskar og over til rent sjøvann eller til sjøvann tilsatt 0,2 og 0,4 % Oxirate. Det var heller ingen effekt av forbehandling (Eksponering 1) eller direkte behandling med Oxirate (Eksponering 2). Histologiske undersøkelser av gjeller viste kun moderate forandringer ved 0,4 %, mens ved 1,0 % Oxirate var vevsskadene markante og uopprettelig. De fysiologiske effekter ved denne konsentrasjonen viste klar toksisk effekt og hemmet respirasjon, noe som vil forklare unormalt fall i kortisol samt adferdsendring med snapping av luft.

Konklusjon

Oxirate som desinfeksjonsmiddel i oppdrett har stort potensial både for desinfeksjon av vann og overflater samt i moderate konsentrasjoner også til fisk. Ut fra denne undersøkelsen kan man ikke se at eksponering av laks på over 100 gram i inntil en time med konsentrasjon på inntil 0,4 % Oxirate vil påføre fisk ekstra ubehag eller irreversible skader.

Bodø, 24.5.11

Frank Olsson