

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-504858

(P2004-504858A)

(43) 公表日 平成16年2月19日(2004.2.19)

(51) Int.Cl.⁷

A O 1 K 61/00

A O 1 N 35/02

F I

A O 1 K 61/00

A O 1 N 35/02

Z

テーマコード (参考)

2 B 1 O 4

4 H O 1 1

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2002-516888 (P2002-516888)
 (86) (22) 出願日 平成13年7月25日 (2001.7.25)
 (85) 翻訳文提出日 平成15年2月6日 (2003.2.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2001/003344
 (87) 国際公開番号 W02002/011528
 (87) 国際公開日 平成14年2月14日 (2002.2.14)
 (31) 優先権主張番号 0019607.1
 (32) 優先日 平成12年8月9日 (2000.8.9)
 (33) 優先権主張国 イギリス (GB)

(71) 出願人 595123069
 ビーエーエスエフ アクチエンゲゼルシャ
 フト
 ドイツ連邦共和国 デー-67056 ル
 ートビヒシャフェン (番地なし)
 (74) 代理人 100061815
 弁理士 矢野 敏雄
 (74) 代理人 100094798
 弁理士 山崎 利臣
 (74) 代理人 100099483
 弁理士 久野 琢也
 (74) 代理人 100114890
 弁理士 アインゼル・フェリックス=ライ
 ンハルト

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水産養殖における細菌およびウイルスのレベルを減少させるための方法

(57) 【要約】

本発明は、水産養殖における水の体積中の細菌およびウイルスレベルを減少させるための方法に関する。この方法は、(a) 飼育された水生生物またはその卵を放流すべき水の体積を供給し、(b) 放流前に、水中にグルタルアルデヒドが0.1～2 ppmの量で提供される程度に、水にグルタルアルデヒドを装入し、(c) 飼育された水生生物またはその卵を、グルタルアルデヒドの濃度が0.1～2 ppmになった時点で水に放流し、(d) 飼育された水生生物またはその卵を生育させ、かつ、(e) 場合によっては生育期間中において、グルタルアルデヒド水溶液の他の回分を装入することによって、グルタルアルデヒドの濃度を0.1～2 ppmの程度の量で維持する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

水産養殖における水の体積中の細菌およびウイルスのレベルを減少させるための方法において、

- (a) 飼育された水生生物またはその卵を放流すべき水の体積を供給し、
- (b) 放流前に、水中 0.1～2 ppm のグルタルアルデヒドを提供する程度の量で、水にグルタルアルデヒド水溶液を装入し、
- (c) 飼育された水生生物またはその卵を、グルタルアルデヒドの濃度が 0.1～2 ppm になった時点で水に放流し、
- (d) 飼育された水生生物またはその卵を生育させ、かつ、
- (e) 場合によっては生育期間中において、グルタルアルデヒドの濃度を 0.1～2 ppm で維持する程度の量で、水に少なくとも一つのグルタルアルデヒド水溶液のさらなる回分を装入することを特徴とする、水産養殖における水の体積中の細菌およびウイルスのレベルを減少させるための方法。

10

【請求項 2】

それぞれ工程 (b)、(c) および (e) 中のグルタルアルデヒドの濃度が 0.5～1.5 ppm の範囲内である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

ビブリオ種の細菌に適用する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

ビブリオ種の細菌が、*Vibrio parahaemolyticus* および *Vibrio harveyi* から選択される、請求項 3 に記載の方法。

20

【請求項 5】

白斑点病症候群バキュロウイルス (WSBV) 複合体、イエローヘッドウイルスおよびタウラ シンドロームウイルスから選択されたウイルスに適用する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 6】

ウイルスが、HABV、RV-JP および SEMBV から選択された WSBV 複合体である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

飼育される水生生物またはその卵が甲殻類またはその卵である、請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 8】

甲殻類またはその卵が小エビ、クルマエビまたはその卵である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

甲殻類が、*Litopenaeus vannamei*、*Litopenaeus setiferus*、*Litopenaeus stylirostris*、*Litopenaeus aztecus*、*Litopenaeus chinensis*、*Litopenaeus duorarum*、*Penaeus monodon* および *Penaeus vannamei* から選択される、請求項 7 または 8 に記載の方法。

40

【請求項 10】

請求項 1 に記載の工程 (e) を含む、請求項 1 から 9 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

グルタルアルデヒドの少なくとも 2 つの回分を、水に装入し、その際、これらの添加の間隔がそれぞれ 5～10 日である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

工程 (e) に加えてさらに、もはやグルタルアルデヒドが添加されない最終的な生育期間が付加されることを含む、請求項 1 から 11 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記のさらなる最終的な期間が、少なくとも 30 日間である、請求項 12 に記載の方法。

50

【請求項 14】

封鎖され通気された池を用いておこなう、請求項 1 から 13 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

海洋環境中でおこなう、請求項 1 から 14 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、水産養殖、特に小エビの養殖における水の体積中の細菌およびウイルスのレベルを減少させるための方法に関する。

【0002】

特に、この脅威は、伝染性の治療困難なウイルス、たとえば、タウラ シンドロームウイルス (Taura Syndrome Virus) (TSV)、イエローヘッドウイルス (Yellow Head Virus) (YHV) および白斑点病症候群バキュロウイルス (WSBV) に由来するものである。また、小エビは、ビブリオ パラヘモライチクス (Vibrio parahaemolyticus) (腸炎ビブリオ) のような細菌によって引き起こされる疾病になり易い傾向にある。

【0003】

前記のウイルスはすべて、養殖中の生育段階において影響する。典型的に TSV は、生育のための池に放流する 2～4 週間の間のその幼形段階 (0.1～5.0 g 体重) の、小エビ *Litopenaeus vannamei* に影響する。YHV は、典型的には、幼形段階後期 (5～15 g 体重) において小エビに影響を及ぼす。WSBV は、特に伝染性が高く、しばしば早期の後幼生段階 (post larval stage) に影響を及ぼすが、しかしながら同様に、養殖の後期段階においても影響を及ぼす可能性がある。これらのウイルスは、極めて特徴的な病原体の例である。多くのウイルス性病原体は、小エビの収穫量において打撃を与えることが示されている。

【0004】

水槽中での小エビの養殖中において、外部寄生菌 (原生動物) の増殖を制御するために、水槽に 2.5 ppm のグルタルアルデヒドを添加することが知られている。これは、Conference paper, 8th Scientific Compress, Faculty of Veterinary Medicine, Assuit University, Egypt, 15～17 November, 1998 から明かである。しかしながら、この論文においては、ホルマリンの使用が好ましいとされている。

【0005】

フィッツパトリックら (Fitzpatrick et al.)、Progressive Fish-Culturist (1995)、57、153～155 では、成形のスプリングキングサーモン (spring chinook salmon) を処置するための、グルタルアルデヒドを含む 3 つの候補となる殺菌剤が評価されており、この場合、これは、それぞれ 31.2 および 6.2 mg/l の量で、流動系中で適用させている。グルタルアルデヒドでの処置は予想通りであったが、もう一つの選択肢として、過酸化水素が好ましいとされた。

【0006】

ザルベッセンら (Salvesen et al.)、Aquaculture International (1997)、5、249～258 およびオルセンら (Olsen et al.)、Aquaculture (1999)、176、3～13 のそれぞれの論文において、400～1200 mg/l のグルタルアルデヒドを用いてのアトランティックハリバット (Atlantic halibut) およびターボット (turbot) の卵の殺菌法が開示されている。しかしながら、このような高いレベルにおいて、グルタルアルデヒドは水生生物の特定の形において毒性でありえ、また、フィッツパトリックらによると、62 mg/l と低いレベルであってもスプリングキングサーモンにとって毒性であるとしている。

10

20

30

40

50

【0007】

驚くべきことに、水生生物にとって、特に小エビに対して有害なウイルスおよび細菌の双方の高く効果的な減少が、養殖される水生生物およびその卵を成長させる池に、極めて低い濃度のグルタルアルデヒドを適用させることによって得られることが見出された。

【0008】

したがって、本発明は、水産養殖中における水の体積中の細菌およびウイルスのレベルを減少させるための方法を提供し、この場合、この方法は、

- (a) 飼育された水生生物またはその卵を放流すべき水の体積を提供し、
- (b) 放流前に、水中0.1～2 ppmのグルタルアルデヒド濃度が提供される程度の量で、グルタルアルデヒド水溶液を水に装入し、
- (c) 飼育された水生生物またはその卵を、グルタルアルデヒドの濃度が0.1～2 ppmの濃度になった時点で水に放流し、
- (d) 飼育された水生生物またはその卵を生育させ、かつ、
- (e) 場合によっては生育期間中において、グルタルアルデヒドの少なくとも一つの他の回分を、グルタルアルデヒドの濃度が0.1～2 ppmに維持される程度の量で水に装入する。

10

【0009】

好ましくは、それぞれ工程(b)、(c)および(e)で使用されたグルタルアルデヒドの濃度は、0.5～1.5 ppmの範囲である。

【0010】

方法は、特に細菌、殊にビブリオ種の細菌、詳細には*Vibrio parahaemolyticus*および*Vibrio harveyi*のレベルを減少させるのに適している。

20

【0011】

さらに方法は、白斑点病症候群バキュロウイルス(WSBV)複合体(またChina Virusとして公知)、たとえば、HHNBV;RV-PJおよびSEMBV イエローヘッドウイルス(Yellow Head Virus)(またHue Leungとして公知)およびタウラシンドロームウイルス(Taura Syndrome Virus)のレベルを減少させるのに特に適している。

【0012】

本発明による方法は、特に甲殻類、殊に小エビまたはクルマエビ、それらの卵、たとえば、*Litopenaeus vannamei*、*Litopenaeus setiferus*、*Litopenaeus stylirostris*、*Litopenaeus aztecus*、*Litopenaeus chinensis*、*Litopenaeus duorarum*、*Panaeus monodon*および特には*Panaeus vannamei*(ブラックタイガーエビ)の養殖のために適している。

30

【0013】

好ましくは、生育期間において、0.1～2 ppmのグルタルアルデヒドの濃度を維持する程度の量で、水に少なくとも一つの他の回分のグルタルアルデヒド水溶液を装入する。

【0014】

より好ましくは、グルタルアルデヒドの少なくとも2つの回分を、水に装入し、その際、これらを添加する間隔はそれぞれ5～10日間である。

40

【0015】

工程(e)の他に、生育のための最終的な期間、好ましくは少なくとも30日間を提供し、この間にさらにグルタルアルデヒドを添加しないことが好ましい。

【0016】

水産養殖は、最も好ましくは、封鎖され通気した池を用いておこなわれ、かつさらに好ましくは海洋環境でおこなう。

【0017】

したがって、生育のための池の水を、0.1～2 ppmのグルタルアルデヒドで処理する

50

ことによって、存在する任意の日和見病原体が制御され、かつ小エビまたは車エビの養殖作業が、以下に示したようになり改善された。同様に、他の甲殻類、貝類および魚類の養殖においてこの方法を使用することも可能である。

【0018】

グルタルアルデヒドは、好ましくは、商業的に入手可能な、水中の50%溶液として適用される。

【0019】

池は、放流前にグルタルアルデヒドで処理される。使用すべきグルタルアルデヒドの量は、その大きさおよび深さに依存してその池毎に異なる。50%グルタルアルデヒド水溶液 20kgを深さ1m当たり1ヘクタール(ha)当たりで添加することが推奨される(すなわち、グルタルアルデヒド濃度1ppm)。 10

【0020】

生成物の正確な量は、適した分散手段を用いて、池中に均等に分配されなければならない。分散前に、水中50%水溶液の前希釈液を作成することも許容される。

【0021】

池が準備されると直ぐに、グルタルアルデヒドを、20kg/ha/深さmで、週に一回、最大では週に二回添加してもよい。

【0022】

好ましくは、処理は、小エビの収穫前30日で停止させる。

【0023】

前記の推奨は、一般的なガイドとして使用することができる。局所的な条件、たとえば海の温度、気候および池の水組成は、効率に影響を及ぼす。 20

【0024】

小エビの健康状態を、定期的に調査し、副作用がないかを確認することが推奨される。

【0025】

本発明の好ましい実施態様は、以下の実施例を引用してより詳細に記載される。

【0026】

実施例

2個の池は、極東地域(Far East)において選択された。

【0027】

番号1の池は6000m²の面積および1mの深さを有していた。30個体 後幼生/m²の程度で放流し、したがって、擬似的な集約的養殖(simulating intensive farming)としてみなす。 30

【0028】

番号2の池は7000m²の面積および1mの深さを有していた。10個体 後幼生/m²の程度で放流し、したがって、半集約的養殖(semi-intensive farming)の典型的なものとしてみなす。

【0029】

活性成分としての50%のグルタルアルデヒド水溶液を、放流前にそれぞれの池に添加し、収穫前の107日間で30日間において処理した。 40

【0030】

それぞれの処理に関して目標とされる投与量は、1.0~1.4ppmの水溶液(すなわち、0.5~0.7ppm グルタルアルデヒド)であり、この場合、これは、10~14kg 水溶液/ha/深さ m(1ha=10,000m²)に達した。この方法においては、収穫前の少なくとも30日間を除き、グルタルアルデヒドの濃度を0.5~0.7ppmの範囲で維持した。

【0031】

この研究の結果は、以下の第1表に示した。

【0032】

結果

【0033】

【表1】

第1表 グルタルアルデヒド溶液（GDA）での以下の処理による試験池からの収穫量（トン／ha 等量）

池	面積 (m ²)	深さ (m)	放流 (後幼生 / m ²)	水処理	処理 期間 (日数)	濃度 (ppm)	投与量 (kg/ha)	収穫量 (トン / ha)
池 1	6000	1	30	GDA	30	(1.0-1.4)	[10-14]	7
池 2	7000	1	30	GDA	30	(1.0-1.4)	[10-14]	1.36

10

【0034】

池1（集約的）からの収穫量は、6000m²で107日間に亘って4.2トンであり、収率は7トン／ヘクタールに相当する。

【0035】

池2（半集約的）からの収穫量は、7000m²で107日間に亘って0.95トンであり、この場合、これは1.36トン／ヘクタールに相当する。

【0036】

備考：ベトナムにおける半集約規模の養殖における通常の収穫量は約0.7トン／ヘクタールである。 20

【0037】

これらの研究から、0.5～0.7ppm程度の低い濃度であっても、グルタルアルデヒド（活性成分として）は、処理において高い効果を示し、かつ、小エビの養殖における有害な疾病から水を保護することを示した。

【0038】

本発明による方法は池の管理に効果的であり、この場合、これは、清浄な放流されていない池において、グルタルアルデヒドで処理することによって開始し、疾病の危険性を減少させる。グルタルアルデヒドを用いての衛生的な水の処理は、小エビを後幼生段階へ導くための水の調整するのに役立ってもよい。これは、小エビに対して有害ではないレベルに、病原体を制御するのに使用することができる。 30

【0039】

方法を用いて、池の微生物数を、成育シーズンを通して確実に制御することが可能である。これは、微生物が養殖工程における機械に潜伏しているかまたはこれによって導かれることから好ましい。本発明の方法は、季節を通して安全に使用することが可能であり、これらの危険性を減少させることができる。

【0040】

正確に使用する場合には、本発明による方法は消費者の安全のための優れた利益を提供しながらも小エビに対して有害なものではない。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
14 February 2002 (14.02.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/11528 A1

- (51) International Patent Classification: A01K 63/04
- (21) International Application Number: PCT/GB01/03344
- (22) International Filing Date: 25 July 2001 (25.07.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 0019607.1 9 August 2000 (09.08.2000) GB
- (71) Applicant (for all designated States except US): BASF AKTIENGESSELLSCHAFT [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): ASHWORTH, David, Wilson [GB/GB]; 5 Morley's Close, Lowdham, Nottingham, Nottinghamshire NG14 7HN (GB). BENZ, Angelika [DE/DE]; Gernersheimerstrasse 130, 67354 Romerberg (DE). ZELLER, Dieter [DE/DE]; Remlingstrasse 1A, 67346 Speyer (DE).
- (74) Agents: COLEIRO, Raymond et al.; Mewburn Ellis, York House, 23 Kingsway, London, Greater London WC2B 6HP (GB).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
- with international search report
 - entirely in electronic form (except for this front page) and available upon request from the International Bureau
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/11528 A1

(54) Title: REDUCING THE LEVEL OF BACTERIA AND VIRUSES IN AQUACULTURE

(57) Abstract: A method of reducing the level of bacteria and viruses in a volume of water during aquaculture comprises: (a) providing the volume of water to be stocked with farmed aquatic organisms or eggs thereof; (b) prior to the stocking, introducing into the water an aqueous solution of glutaraldehyde in an amount such as to provide in the water from 0.1 to 2 ppm of glutaraldehyde; (c) stocking the water with the farmed aquatic organisms or eggs thereof at a time when the concentration of glutaraldehyde is 0.1 to 2 ppm. (d) allowing the farmed aquatic organisms or eggs thereof to grow; and (e) optionally during a period of the growth, introducing into the water at least one further portion of an aqueous solution of glutaraldehyde in an amount such as to maintain the concentration of the glutaraldehyde at 0.1 to 2 ppm.

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

1

REDUCING THE LEVEL OF BACTERIA AND VIRUSES IN AQUACULTURE

This invention relates to a method of reducing the level of bacteria and viruses in a volume of water during
5 aquaculture, especially shrimp farming.

More specifically the threat comes from virulent, difficult to treat viruses, for example Taura Syndrome Virus (TSV), Yellow Head Virus (YHV) and White Spot Syndrome Baculovirus
10 (WSBV). Shrimp are also prone to diseases caused by bacteria such as *Vibrio parahaemolyticus*.

The above viruses all effect shrimp in the growing out stage of farming. TSV typically affects the shrimp
15 *Litopenaeus vannamei* in its juvenile stage (0.1 - 5.0g weight) within 2 - 4 weeks of stocking into grow out ponds. YHV especially affects shrimps in the late juvenile stage (5 - 15g weight). WSBV is particularly virulent, often affecting early post larval stages, but equally capable of
20 affecting shrimp in the later stages of culture. These viruses are examples of the better characterised pathogens. A large number of viral pathogens have been described which have damaging effects on shrimp yields.

25 For controlling the growth of ectoparasites (protozoa) during shrimp farming in tanks it is known to add to the tank 2.5 ppm of glutaraldehyde; see Conference paper, 8th Scientific Compress, Faculty of Veterinary Medicine, Assuit University, Egypt, 15 -17 November, 1998. However, in this
30 paper, the use of formalin was preferred.

Fitzpatrick et al, Progressive Fish-Culturist (1995), 57, 153 - 155, evaluated three candidate fungicides for treatment of adult spring chinook salmon, including
35 glutaraldehyde, applied in respective amounts of 31.2 and

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

2

6.2 mg/l in a flow-through system. Although treatment with glutaraldehyde was regarded as showing promise, another alternative, hydrogen peroxide was recommended.

- 5 Articles by each of Salvesen et al, Aquaculture International (1997), 5, 249 - 258, and Olsen et al, Aquaculture (1999), 176, 3 - 13, disclose the disinfection of the eggs of Atlantic halibut and turbot with 400-1200 mg/l of glutaraldehyde. However, at such high levels, 10 glutaraldehyde may be toxic to certain forms of aquatic life; again see Fitzpatrick et al where levels as low as 62 mg/l were toxic to spring chinook salmon.

We have now found surprisingly that a highly effective 15 reduction in both viruses and bacteria harmful to aquatic life, especially those harmful to shrimps, can be obtained by application, to a pond in which farmed aquatic organisms and eggs thereof are to grow, of very low concentrations of glutaraldehyde.

20

Thus, the invention provides a method of reducing the level of bacteria and viruses in a volume of water during aquaculture, which method comprises:-

- 25 (a) providing the volume of water to be stocked with farmed aquatic organisms or eggs thereof;
- (b) prior to the stocking, introducing into the water an aqueous solution of glutaraldehyde in an 30 amount such as to provide in the water from 0.1 to 2 ppm of glutaraldehyde;
- (c) stocking the water with the farmed aquatic organisms or eggs thereof at a time when the 35 concentration of glutaraldehyde is 0.1 to 2ppm.

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

3

- (d) allowing the farmed aquatic organisms or eggs thereof to grow; and
- (e) optionally during a period of the growth, introducing into the water at least one further portion of an aqueous solution of glutaraldehyde in an amount such as to maintain the concentration of the glutaraldehyde at 0.1 to 2ppm.
- Preferably, the concentration of glutaraldehyde used in each of steps (b), (c) and (e) is within the range 0.5 to 1.5 ppm.
- The method is especially suitable for reducing the level of bacteria, especially the *Vibrio* spp, in particular, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi*.
- The method is also especially suitable for reducing the level of White Spot Syndrome Baculovirus (WSEV) complex, (also known as China Virus) e.g. HHNBV; RV-PJ and SEMBV Yellow Head Virus (also known as Hua Leung) and Taura Syndrome Virus.
- The method is especially suitable for the farming of crustacea, especially shrimps or prawns, eggs thereof, for example *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus setiferus*, *Litopenaeus stylirostris*, *Litopenaeus aztecus*, *Litopenaeus chinensis*, *Litopenaeus duorarum*, *Penaeus monodon* and, especially *Penaeus vannamei* (Black Tiger Shrimps).
- It is preferred, during a period of growth to introduce into the water at least one further portion of an aqueous solution of glutaraldehyde in an amount such as to maintain the concentration of the glutaraldehyde at 0.1 to 2ppm.

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

4

More preferably, at least two portions of the glutaraldehyde are introduced into the water, with an interval of from 5 to 10 days between respective additions thereof.

5

In addition to step (e), it is preferred to provide a further final period of growth, more preferably at least thirty days, during which no further glutaraldehyde is added.

10

The aquaculture is most preferably carried out using a sealed aerated pond and is also most preferably carried out in a marine environment.

15

Thus, by treating the water of a grow-out pond with from 0.1 to 2ppm of glutaraldehyde, any opportunist pathogen present may be controlled and the yield of a shrimp or prawn farming operation dramatically improved, as later demonstrated. Likewise, it is also possible to utilize the method in the farming of other crustaceans, shellfish and fish.

20

The glutaraldehyde is preferably administered as a 50% solution thereof in water, a convenient form which is commercially available.

25

The pond is treated with glutaraldehyde prior to stocking. The amount of glutaraldehyde to be used will differ from pond to pond depending on size and depth. It is recommended that 20 kg of a 50% aqueous solution of glutaraldehyde are added per hectare per metre of depth (i.e. at a glutaraldehyde concentration of 1ppm).

30

The correct amount of product should be evenly distributed throughout the pond using a suitable means of dispersion. It is acceptable to make a pre-dilution even of the 50%

35

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

5

aqueous solution, in water prior to dispersion.

Once the pond is stocked, the glutaraldehyde may be added,
at 20 kg/ha/metre depth, once each week, for a maximum of
5 twelve weeks.

Treatment is preferably stopped 30 days prior to harvesting
the shrimp.

10 The above recommendations can be used as a general guide.
Local conditions such as sea temperature, climate and pond
water composition may affect the efficacy.

It is recommended that the health of the shrimp is checked
15 regularly to ascertain that there are no adverse effects.

Preferred embodiments of the invention will now be
described in more detail with reference to the following
Example.

20

Example

Two ponds were chosen in the Far East.

25 Pond number 1 had an area of 6000m² and a depth of 1 metre.
It was stocked at a level of 30 post-larvae/m² and therefore
regarded as simulating intensive farming.

Pond number 2 had an area of 7000m² and also a depth of 1
30 metre. It was stocked with 10 post-larvae/m² and therefore
considered as representative of semi-intensive farming.

A 50% aqueous solution of glutaraldehyde as active
ingredient was added to each pond prior to stocking and
35 treated on 30 days out of the 107 days prior to harvest.

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

6

The target dose for each treatment was 1.0 - 1.4 ppm of the aqueous solution (i.e. 0.5 - 0.7 ppm glutaraldehyde), which amounts to 10 - 14 kg aqueous solution/ha/metre depth (1ha = 10,000m²). In this manner, apart from the last 30 days before harvest, the concentration of glutaraldehyde was maintained within the range 0.5 - 0.7 ppm.

The results of this study are shown in Table 1 below.

10 Results

Table 1 - Yield (tonnes/ha. equivalent) from test ponds following treatment with glutaraldehyde solution (GDA)

Pond	Area (m ²)	Depth (m)	Stock (Post-larvae/m ²)	Water treatment	Treatment		Yield (Tonnes/ha)
					Length (days)	Target Dose (ppm) [kg/ha]	
Pond 1	6000	1	30	GDA	30	(1.0-1.4) [10-14]	7
Pond 2	7000	1	30	GDA	30	(1.0-1.4) [10-14]	1.36

The yield from Pond 1 (intensive) was 4.2 tonnes in 107 days from 6000m², a yield equivalent to 7 tonnes/ha.

The yield from Pond 2 (semi-intensive) was 0.95 tonnes in 107 days from 7000m² equivalent to 1.36 tonnes/ha.

Note: The normal yield of semi intensive scale farming in Vietnam is about 0.7 tonnes/ha.

From the above study it can be seen that, even at concentrations as low as 0.5 - 0.7 ppm, glutaraldehyde (as active ingredient) showed a highly beneficial effect in treating and preserving the water against harmful diseases on a shrimp farm.

The method enables efficient pond management, which may

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

7

start with a clean unstocked pond which has been treated with glutaraldehyde to reduce the risk of disease. Hygienic water treatment with glutaraldehyde will help prepare the water for introduction of post-larval stage shrimp. It can
5 be used to control pathogens at levels which are not harmful to these shrimp.

It is possible, using the method to ensure that the microbial population of the pond is controlled throughout
10 the growing season. This is desirable because micro-organisms may be latent, or introduced by the mechanics of the farming process. The method of the invention can be safely used throughout the season helping to reduce this risk.

15 When used correctly, a method in accordance with the invention is unlikely to be harmful to the shrimp while providing an excellent margin of safety for the consumer.

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

8

CLAIMS

1. A method of reducing the level of bacteria and viruses
in a volume of water during aquaculture, which method
5 comprises:-
- (a) providing the volume of water to be stocked with
farmed aquatic organisms or eggs thereof;
 - 10 (b) prior to the stocking, introducing into the water
an aqueous solution of glutaraldehyde in an
amount such as to provide in the water from 0.1
to 2 ppm of glutaraldehyde;
 - 15 (c) stocking the water with the farmed aquatic
organisms or eggs thereof at a time when the
concentration of glutaraldehyde is 0.1 to 2ppm.
 - (d) allowing the farmed aquatic organisms or eggs
20 thereof to grow; and
 - (e) optionally during a period of the growth,
introducing into the water at least one further
portion of an aqueous solution of glutaraldehyde
25 in an amount such as to maintain the
concentration of the glutaraldehyde at 0.1 to
2ppm.
2. A method according to claim 1, wherein the
30 concentration of glutaraldehyde in each of steps (b), (c)
and (e) is within the range 0.5 to 1.5 ppm.
3. A method according to claim 1 or claim 2, applied to
bacteria of the species *Vibrio*.
- 35 4. A method according to claim 3, wherein the bacteria of

WO 02/11528

PCT/GB01/03344

9

the species *Vibrio* are selected from *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi*.

- 5 5. A method according to claim 1 or claim 2, applied to viruses selected from White Spot Syndrome Baculovirus (WSBV) complex, Yellow Head Virus and Taura Syndrome Virus.
6. A method according to claim 5, wherein the viruses are WSBV complexes selected from HABV; RV-JP; and SEMBV.
- 10 7. A method according to any preceding claim, wherein the farmed aquatic organisms or eggs thereof are crustacea or eggs thereof.
- 15 8. A method according to claim 7, wherein the crustacea or eggs thereof are shrimps, prawns or eggs thereof.
9. A method according to claim 7 or claim 8, wherein the crustacea are selected from *Litopenaeus vannamei*,
20 *Litopenaeus setiferus*, *Litopenaeus stylirostris*, *Litopenaeus aztecus*, *Litopenaeus chinensis*, *Litopenaeus duorarum*, *Penaeus monodon* and *Penaeus vannamei*.
10. A method according to any preceding claim, which
25 includes the step (e), given and defined in claim 1.
11. A method according to claim 10, wherein at least two portions of the glutaraldehyde are introduced into the water, with an interval of from 5 to 10 days between
30 respective additions thereof.
12. A method according to any preceding claim, which includes, in addition to step (e), a further final period of growth during which no further glutaraldehyde is added.
- 35

WO 02/11528

PCT/GB01/03344
PCT/GB01/03344

10

13. A method according to claim 12, wherein the said further final period is at least thirty days.

14. A method according to any preceding claim, which is
5 carried out using a sealed aerated pond.

15. A method according to any preceding claim, which is carried out in a marine environment.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/GB 01/03344
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A01K63/04		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A01K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MARKING L L ET AL: "Evaluation of Antifungal Agents for Fish Culture" PROGRESSIVE FISH-CULTURIST, WASHINGTON, DC, US, vol. 56, no. 4, October 1994 (1994-10), pages 225-231, XP000943429 ISSN: 0033-0779 figure 1	1
☐ Further documents are listed in the continuation of box C. ☐ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 October 2001		Date of mailing of the international search report 18/10/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2540, Tx 31 851 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer von Arx, V.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2002)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 デーヴィッド ウィルソン アシュワース
イギリス国 ノッティンガムシャー ノッティンガム ローダム モーリーズ クローズ 5

(72)発明者 アンゲリカ ベンツ
ドイツ連邦共和国 ローマーベルク ゲルマースハイマーシュトラッセ 1 3 0

(72)発明者 ディーター ツェラー
ドイツ連邦共和国 シュパイヤー レムリングシュトラッセ 1 アー

Fターム(参考) 2B104 AA17 BA14 CA01 EF09
4H011 AA02 AA04 DA13 DD01