

Sårproblematikk og hudhelse i laks- og regnbueørrettoppdrett

Harald Takle, Elisabeth Ytteborg, Kristoffer Vale Nielsen, Christian Rène Karlsen, Hanne Nilsen, Lene Sveen, Duncan Colquhoun, Anne Berit Olsen, Henning Sørum og Arve Nilsen





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsen gate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5828 Bergen

Sunnalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140

E-post: post@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

	ISBN: 978-82-8296-259-9 (trykt) ISBN: 978-82-8296-260-5 (pdf) ISSN 1890-579X
Tittel: Sårproblematikk og hudhelse i laks- og regnbueørrettoppdrrett	Rapportnr.: 5/2015
	Tilgjengelighet: Åpen
Forfatter(e)/Prosjektleder: Harald Takle ¹ (Prosjektleder), Elisabeth Ytteborg ¹ , Kristoffer Vale Nielsen ³ , Christian Rène Karlsen ² , Hanne Nilsen ³ , Lene Sveen ¹ , Duncan Colquhoun ³ , Anne Berit Olsen ³ , Henning Sørum ² , Arve Nilsen ³ . 1) Nofima 2) Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU) 3) Veterinærinstituttet (VI)	Dato: 19. februar 2015
Avdeling: Fiskehelse	Ant. sider og vedlegg: 95 +14
Oppdragsgiver: Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF)	Oppdragsgivers ref.: FHF # 900989
Stikkord: Akvakultur, laks, regnbueørret, hud, helse, sår, tap i sjø, slaktekvalitet, velferd, settefisk, lukkede anlegg, oppdrrett.	Prosjektnr.: 10988
Sammendrag/anbefalinger: Se kapittel 1	
English summary/recommendation: Sustainable growth of aquaculture is dependent upon good fish health and welfare. Ulcers can increase mortality, reduce product quality and fish welfare. A conservative estimate claims that on average mortality in sea and downgrading at the harvest plant both represent about 2.5% for Atlantic salmon in Norway. This review provides an overall status of knowledge on skin health in salmonids, where the available literature, supplemented with information from ongoing projects, information from various databases and industry actors. The first part provides an introduction to the integument system in salmonids and available methods for studying skin quality. Thereafter follows a review of documented abiotic factors in the farming environment and nutritional factors that may affect skin quality and ulceration. In the subsequent parts important pathogens that contribute to ulcers in salmonids are described together with an overview of the consequences for ulcers in Norwegian aquaculture. Finally, we suggest research and development that can improve fish skin health and reduce ulcers in farmed salmonids. The work is financed by the Fishery and Aquaculture Industry Research Fund (FHF) and conducted by Nofima, the Norwegian University of Life Sciences (NMBU) and the Veterinary Institute (VI).	

Innhold

1	Sammendrag	1
2	Generell innledning	2
3	Hud hos laksefisk - anatomisk oppbygging, celletyper og funksjon	3
3.1	Epidermis.....	4
3.2	Dermis	5
3.3	Skjell.....	5
3.4	Mucus.....	6
3.4.1	Antall mukusceller i huden varierer	7
3.4.2	Sammensetning av mucus.....	7
3.4.3	Muciner	8
3.4.4	Antimikrobielle peptider	9
3.4.5	Enzymer.....	9
3.4.6	Immunaktive proteiner	10
3.4.7	Immunoglobuliner	10
3.5	Sårheling	10
3.6	Huden endrer seg i løpet av livsløpet.....	11
4	Metoder for å analysere hud	13
4.1	Ytre evalueringer av hud, skjell og mucus.....	13
4.2	Histologisk evaluering av hud, skjell og mucus	14
4.3	Molekylære metoder for å evaluere hud, skjell og mucus	15
4.4	<i>In vitro</i> studier av hud	17
5	Effekt av oppdrettsmiljøet på hudkvalitet hos laksefisk	18
5.1	Temperatur.....	19
5.2	Tetthet.....	20
5.3	Vannforbruk.....	21
5.4	Salinitet.....	21
5.5	Strømhastighet	22
5.6	Tungmetaller	22
5.7	Lysstyring.....	23
5.8	Sulting.....	23
5.9	Transport og håndtering.....	24
5.10	Luseangrep og avlusningsmetoder.....	25
5.11	Andre vannkvalitetsparametere.....	25
6	Effekt av fôr på hudkvalitet hos laksefisk	26
6.1	Helsefôr og funksjonelle ingredienser.....	26
6.2	Fettsyrer, proteiner og karbohydrater	26
6.3	Mineraler og vitaminer.....	27
7	Sårproblematikk og infeksjose mikrober	28
7.1	Innledning.....	28
7.2	Historisk oversikt	28
7.3	Taksonomi og nomenklatur.....	29
7.4	<i>Moritella viscosa</i>	29
7.4.1	Diversitet, vertsspekter og -spesifisitet	29

7.4.2	Antigenisk diversitet	30
7.4.3	Virulensegenskaper.....	31
7.4.4	Smitteforsøk i cellerlinjer og i fisk	33
7.4.5	Diagnostiske kriterier	35
7.5	Tenacibaculum spp.....	36
7.5.1	Diversitet, vertsspekter og -spesifisitet	36
7.5.2	Virulensegenskaper.....	37
7.5.3	Diagnostiske kriterier	38
7.6	Aliivibrio wodanis	38
7.6.1	Diagnostiske kriterier	39
7.7	Flavobacterium psychrophilum.....	39
7.7.1	Diversitet.....	40
7.7.2	Diagnostiske kriterier	40
7.8	Andre sårassosierte bakterier	41
7.9	Laksens hudmikrobiota i immunitet og sykdom	41
8	Sårstatus i norsk lakseoppdrett	44
8.1	Sår, diagnostikk og definisjoner	44
8.2	Forekomst av sår i Veterinærinstituttets materiale, 2005-2014.....	46
8.2.1	2005-2006.....	47
8.2.2	2007	48
8.2.3	2008	48
8.2.4	2009	48
8.2.5	2010	48
8.2.6	2011	49
8.2.7	2012	49
8.2.8	2013	50
8.3	Sår og vaksine - forebygging.....	50
8.4	Bruk av legemidler ved sår – behandling	53
8.4.1	Opplysninger fra førselskap	55
8.4.2	Oppsummering legemidler	57
8.5	Tap grunnet sår i settefiskanlegg, erfaringer og forebyggende tiltak.....	57
8.5.1	Oppsummerte resultater fra spørreskjema til settefiskprodusenter.....	58
8.5.2	Beskrivelse av sårepisoder hos settefiskprodusenter.....	59
8.5.3	Aktuelle sårprosjekter hos settefiskprodusenter	61
8.5.4	Erfaringer, driftstilpasninger og suksesshistorier hos settefiskprodusenter	61
8.6	Tap grunnet sår i sjøanlegg –TALFS	63
8.6.1	Resultater for sårkartlegging i sjø –TALFS.....	65
8.7	Nedklassing på slakteri grunnet sår.....	70
9	FoU- og kunnskapsbehov.....	74
10	Oppsummering	77
11	Referanser	78

Vedlegg

1 Sammendrag

Bærekraftig vekst av laksenæringen forutsetter at fisken har god velferd og helse. Sår på fisken er en betydelig utfordring for oppdrettsnæringen, både økonomisk og omdømmemessig. Fiskens hud og mukus utgjør en viktig barriere mot de fysiske omgivelsene, men også mot potensielt sykdomsframkallende mikrober. Sår er en skade i denne barrieren som kan gi forhøyet dødelighet, nedgradert slaktekvalitet og redusert fiskevelferd. Et forsiktig anslag er at mellom 1,1 og 2,5 % av laks har sår. På slakteriene blir mellom 0,7 og 3,8 % av fisken nedklassifisert til kategorien «produksjon» på grunn av sår. Det er derimot store variasjoner mellom merder, anlegg, utsettsgrupper, årsklasser og regioner, noe som kompliserer muligheten til å finne årsaken til og fellesnevnerne ved sårdanning.

Denne utredningen gir en samlet kunnskapsstatus for sårproblematikk og hudhelse for laks og regnbueørret i oppdrett. Arbeidet er finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF) og utført av Nofima, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU) og Veterinærinstituttet (VI). For å kunne skrive en best mulig rapport er det utført en grundig gjennomgang av tilgjengelig litteratur, supplert med opplysninger fra pågående prosjekt, samt at informasjon fra ulike databaser og næringsaktører er hentet ut. Utredningen gir først en grundig innføring hudens anatomi hos laksefisk og metodikk som er tilgjengelig for å studere hudkvalitet. Deretter følger en gjennomgang av dokumenterte abiotiske faktorer i oppdrettsmiljøet og ernæringsmessige forhold som kan påvirke hudkvalitet og sårutvikling. I de påfølgende delene tar utredningen for seg viktige patogener som bidrar til sårutvikling hos laksefisk og det gis en oversikt over sårstatus og konsekvensen av denne i norsk oppdrettsnæring. Avslutningsvis pekes det på forsknings- og utviklingsarbeid som kan bedre fiskens hudhelse og redusere sårproblemer for næringen.

Prosjekt- og Styringsgruppe for prosjektet:

Startdato	02.05.2014
Sluttdato	01.02.2015
Prosjektgruppe	Harald Takle (prosjektleder): harald.takle@nofima.no Elisabeth Ytteborg: elisabeth.ytteborg@nofima.no Henning Sørum: henning.sorum@nmbu.no Anne Berit Olsen: anne-berit.olsen@vetinst.no Arve Nilsen: arve.nilsen@vetinst.no
Styringsgruppe	Arne Guttvik: arne.guttvik@salmar.no Frode Mathisen: frode.mathisen@griegseafood.com Eirik Welde: eirik@smolten.no Karl Fredrik Ottem: karl.ottem@cermaq.com FHF-ansvarlig: Merete Bjørgan Schrøder: merete.schroder@fhf.no

2 Generell innledning

Nasjonale myndigheter og oppdrettsindustrien har som mål å fortsette den sterke utviklingen av næringen og nærme seg en produksjon på 5 millioner tonn laks (*Salmo salar*) i år 2050. Skal Norge lykkes med å fremstå som verdens fremste sjømatnasjon kreves det blant annet at oppdrettsnæringen reduserer tap i sjø og at utfordringene med lus og rømming løses. Tapene varierer fra år til år og det er store forskjeller mellom landsdeler og anlegg, men en gjennomsnittlig dødelighetsprosent på 10-20 % er uakseptabelt og lite bærekraftig. Mattilsynet har utført en nasjonal datainnsamling for å kartlegge årsaker til tap i sjø i perioden 2012-2013 (TALFS prosjektet). Hovedårsakene til tap av fisk i oppdrettsnæringen er ulike virussykdommer, faktorer relatert til smoltkvalitet og smoltutsett samt diverse årsaker til skader/sår. I etterkant av Mattilsynets kartlegging har også amøbegjellesykdommen (AGD) blitt en betydelig faktor i deler langs kysten. Sår er en problemstilling det er svært viktig å ta tak i fordi det medfører betydelige tap av fisk og reduserer fiskens helse og velferd.

Oppdrettsfisk er svært utsatt for fysiske forstyrrelser og stressfaktorer, herunder miljømessige, mekaniske og smittsomme faktorer, som alle bidrar til å påvirke fiskens velferd. Huden og slimet utgjør den første forsvarslinje mot miljøet og gjennom å styrke disse lagene får fisken et robust forsvar mot det ytre miljøet. I motsetning til varmblodige organismer der det ytterste hudlaget består av døde, keratiniserte hudceller, er huden hos fisk et levende multifunksjonelt og metabolsk aktivt organ. Sett i lys av hudens viktige betydning som førstelinjeforsvar mot infeksjøs mikrober og parasitter, samt for fiskens fysiologi og velferd, er det påtakelig hvor lite dokumentert kunnskap vi har om huden.

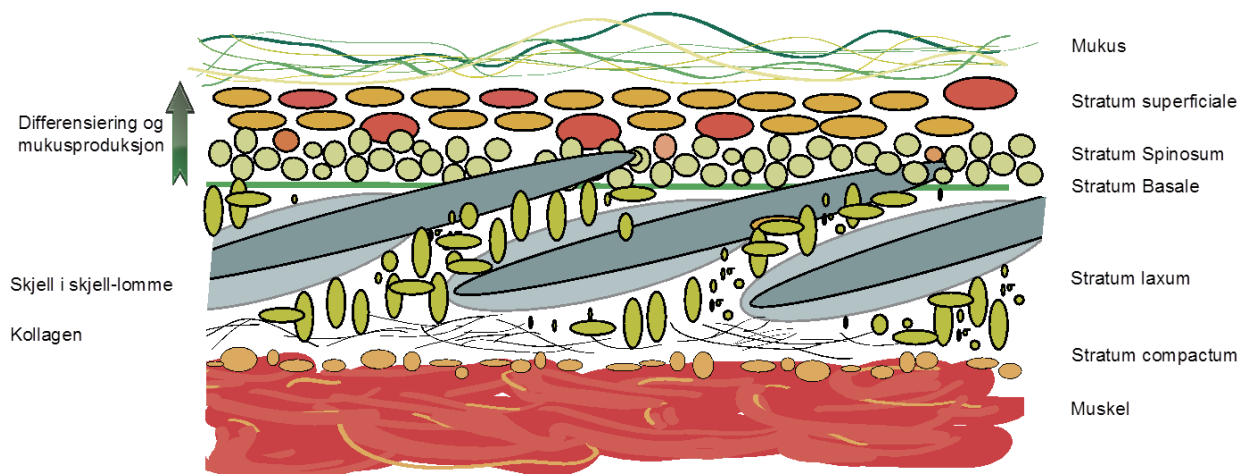
Målsetningen med denne utredningen var å samle tilgjengelig kunnskap om sår og hudhelse i laks- og ørretoppdrett. Utredningen er bygget opp ved at det er utført en grundig gjennomgang av tilgjengelig litteratur, supplert med opplysninger fra pågående prosjekter, og det har blitt hentet ut informasjon fra ulike databaser og næringsaktører. I og med at målgruppen for utredningen både er forskere og næringsaktører har vi inkludert grunnleggende teoretiske temaer og empiriske erfaringer fra praktikere. Forventningen er at en felles kunnskapsplattform vil danne det nødvendige grunnlag for målrettet FoU arbeid som kan bidra til anvendte løsninger for å forebygge og behandle sår hos laksefisk.

3 Hud hos laksefisk - anatomisk oppbygging, celletyper og funksjon

Fiskehuden er et multifunksjonelt organ med vitale funksjoner. Hud og mukus er den første barrieren mot omgivelsene og potensielt sykdomsfremkallende organismer. Huden gir kjemisk og fysisk beskyttelse, er involvert i sensorisk og atferdsmessig aktivitet, hormonmetabolisme, ionebalanse og homeostatiske reaksjoner. Skjellene, som er en del av huden, gir ytterligere styrke og hardhet og virker i tillegg som minerallagre. Det er derfor fiskens helse står på spill når huden blir svekket eller får skader.

Fisk lever i nærkontakt med miljøet, og spesielt i oppdrettsnæringen kan konsentrasjonen av ulike sykdomsfremkallende bakterier og virus være høy. Hud, skjell og mukus danner et beskyttende lag på fiskens overflate ved å hindre parasitter og bakterier i å feste seg. I tillegg inneholder lagene, og særlig mukuslaget, komponenter som direkte kan bryte ned ulike patogener (Magnadottir, 2006). Disse komponentene er for eksempel lektiner, lysozymer, komplement-proteiner og antimikrobielle peptider (Alexander & Ingram, 1992).

Huden er bygget opp av ulike lag som produseres av ulike celletyper. Lagene epidermis og dermis ligger over musklene og utgjør selve huden. Det ytterste laget, epidermis, består igjen av tre lag; *stratum superficiale*, *stratum spinosum* og *stratum basale*. *Stratum basale* utgjør basalmembranen mellom epidermis og dermis. Dermis igjen består av to lag; *stratum laxum* og *stratum compactum*. Det er i dermis at skjellproduksjonen hos fisk finner sted i såkalte skjellposer. Skjellene går gjennom hele dermis og stikker ut i epidermis. Epidermis dekker skjellene i tillegg til mukus-laget, som produseres av spesifikke celler i epidermis. Aller ytterst ligger mukuslaget som en beskyttende hinne rundt hele fisken. Oppbyggingen av disse lagene er illustrert i figur 1 og beskrevet i detalj nedenfor. Vi gjør oppmerksom på at dette er en generell beskrivelse for fisk og at det vil forekomme artsspesifikke forskjeller.



Figur 1 Skjematisk fremstilling av hudanatomi hos laksefisk. Til høyre angis navnene på de ulike lagene som bygger opp huden hos teleoster.

3.1 Epidermis

Epidermis består av tre lag: *stratum superficiale*, *stratum spinosum* og *stratum basale*. *Stratum superficiale* er ytterst og består av et lag med kubiske epitelceller og mukusceller. Cellene i dette laget fornyes ikke kontinuerlig slik det gjøres i huden hos pattedyr, men byttes ut etter hvert som de blir skadet eller dør. *Stratum spinosum* er det neste laget og består for det meste av mukusceller, nerveceller, klubbceller, ionocytter og udifferensierte celler. *Stratum basale* utgjør basalmembranen mellom epidermis og dermis og består av et lag med basalceller. Udifferensierte celler migrerer fra *stratum basale* til *stratum spinosum* og derfra rekrutteres de ved behov til *stratum superficiale*. Tykkelsen på epidermis varierer veldig avhengig av hvilken del av fisken man studerer, alderen til fisken, kjønn, reproduksjons-stadiet, miljøforhold osv., men er i gjennomsnitt ca. 5 -10 cellelag tykt (Zhao et al., 2008). Hos pattedyr består det ytterste laget *stratum corneum* av døde, forhornede celler fylt med keratin (Concha et al., 2003; Hawkes, 1974; Le Guellec et al., 2004) Fiskehuden derimot består av ikke-keratiniserte celler. Keratinocytter er dermed noe misvisende i forbindelse med fiskehud. Allikevel kalles hud-cellene hos fisk også gjerne keratinocytter i og med at dette beskriver hudceller. Epidermis hos fisk har bevegelige keratocytter (Al-Hassan et al., 1987b; Harris & Hunt, 1975; Shephard, 1994; Whitear, 1970). Keratocytene kan bevege seg relativt raskt og dekke sår eller skader med et beskyttende cellelag bare få timer etter at skaden har oppstått (Bullock et al., 1978; Böckelmann et al., 2010; Karlsen et al., 2012; Phromsuthirak, 1977; Vieira et al., 2011). Karlsen og kollegaer (2012) foreslo at denne mobiliteten hos epitelcellene hos laks er viktig for raskt å kunne dekke skadede områder, og for å kunne bevege seg rundt for å identifisere patogener. Ved hjelp av de eksoplasmiske hendene (*lamellipoda*) kan epitelcellene finne frem til patogener som må uskadeliggjøres og skadede områder som trenger fornyelse av celler (Karlsen et al., 2012). En annen forskjell på fiske- og pattedyrhud er at hos pattedyr er epidermis høyt organisert fra innerst til ytterst i stratifiserte lag. Huden til fisk er mindre organisert og lagene består av en blanding av flere celletyper (Alonso & Fuchs, 2003; Henrikson & Gedeon Matoltsy, 1967). De ytterste cellene i epidermis er kubiske og bundet sammen via desmosomer (Brown & Wellings, 1970). Desmosomer forbinder celler og holder dem sammen. Hos pattedyr produserer keratinocytene blant annet spesifikke granuler (lamellar bodies), rike i lipider (glykolipider), hydrolytiske enzymer, fosfater, glykosidaser, lipaser og proteiner (Ishida-Yamamoto & Kishibe, 2011; Proksch et al., 2008). Lipidinnholdet i keratocyttenes membran bidrar til hudens barrierefunksjon, osmotiske egenskaper og kjemiske struktur og balanse. Innimellom keratocytene er det hos mennesker immunreaktive celler, bl.a. Langerhans-celler, lymfocytter og makrofager. Langerhans cellene er dendrittiske celler som kan ta opp mikrobielle antigen og bli antigenpresenterende celler (Ishida-Yamamoto & Kishibe, 2011; Proksch et al., 2008). Hvordan dette er hos fisk vet vi lite om. Fibroblaster, lymfocytter, makrofager og granulocytter er beskrevet i både epidermis og dermis hos laksefisk (Ángeles Esteban, 2012; Davidson et al., 1992; Peleteiro & Richards, 1990; Peleteiro & Richards, 1985; Rakers et al., 2010; Reite & Evensen, 2006). Dendrittiske celler, lignende de langerhanske cellene hos pattedyr, er også identifisert i huden til zebrafisk (Lugo-Villarino et al., 2010) og nylig også i ørret (Bassity & Clark, 2012). Mest kjent i epidermis hos fisk er de mukus-produserende cellene. Mukus-cellene varierer i størrelse, antall og lokalisering. Mukus-cellene modner gjennom epidermis, øker i størrelse og raffinerer glykoproteinproduksjonen, før innholdet frigjøres på overflaten og danner mukus-laget. Cellene i epidermis hos fisk har en sterk prolifererende kapasitet, både i ung og i eldre fisk (Genten et al., 2009). I smittetest med laksefisk har fisk med ødelagt eller fjernet mukusceller og epitelceller økt dødelighet sammenlignet med frisk fisk (Madetoja et al., 2000; Svendsen & Bøggwald, 1997).

3.2 Dermis

Dermis er sonen mellom epidermis og de underliggende musklene. Dermis er satt sammen av to lag. Det ytre *stratum spongiosum* består av et nettverk av kollagenfibre, fibroblaster og pigmentceller, fagosytotiske celler, celler for å produsere skjell (osteoblaster og osteoklaster) og selve skjellene. Pigment-cellene (kromatoforer) er høyt utviklet hos fisk og varierer i farge; brune/sorte (melanoforer), sølv (iridoforer) og fargerike (lipoforer). Det er disse pigmentcellene i dermis som gir fiskehuden farge. Man tror også at de melanin-produserende cellene er melanoforer og melanomakrofager er assosiert med inflammasjon i hud hos laksefisk (Arciuli et al., 2012; Larsen et al., 2013; Larsen et al., 2012), zebrafisk og karpe (Lévesque et al., 2013; Rai et al., 2012). Antioksidant-effekten til melanin er foreslått som den aktive komponenten (Larsen et al., 2012; Schmidt et al., 2013). fant også en sammenheng mellom antall prikker i huden hos regnbueørret og sårheling, der fisk med mange prikker hadde en tregere sårhelingsprosess. Innenfor *stratum spongiosum* finner man *stratum compactum* som primært er et ikke-cellelag, men hvor kollagenfibre strekker seg langs fiskekroppen, bare infiltrert av noen fibroblaster. Dette laget inneholder også blodårer som er i kontakt med det underliggende muskellaget. Strukturen til *stratum compactum* danner grunnlaget for rigiditet, og fleksibilitet i huden. Dermisen til fisk har ikke vært mye studert (Ángeles Esteban, 2012).

3.3 Skjell

Laks har såkalte elasmoider skjell der de individuelle skjellene er sammensatt av et mineralisert ytre lag (16–59 vol %) som består av hydroksyapatitt (Marino Cugno Garrano et al., 2012; Torres et al., 2008; Whitear, 1986; Zhu et al., 2012). Skjellene har en elliptisk eller rektangulær form og platene overlapper hverandre. Denne orienteringen og overlappingen av mineraliserte plater skaper et robust ytre lag der samspillet mellom skjellene og huden kontrollerer de mekaniske egenskapene og robusthet. Komposisjonen av form og struktur avhenger ikke bare av art, men varierer fra individ til individ og langs kroppen til et enkelt individ (Hawkes, 1974; Park & Lee, 1988; Sire, 1989; Whitear, 1986).

Skjellene produseres i skjellposene i mesodermlaget av dermis. Skjell består av to lag: et øvre mineralisert (ossifisert) lag og et nedre fiberlag. Fiberlaget består av umineralisert matriks og kollagenfibre. Det øvre laget er den harde, mineraliserte matriksen (Meunier, 1984; Sire & Akimenko, 2004). Cellene som produserer lagene har sin opprinnelse i de mesenkymale stamcellene (MSC) – som også lager grunnlag for cellene som bl.a. danner skjelettet, muskler og fett. I skjellposene utvikler disse cellene seg til benceller, osteoblaster som produserer og mineraliserer benmatriks. Resultatet er at fisken dekkes med tusenvis av kalsifiserte, harde og beskyttende skjell. Osteoblastene organiseres seg som perler på en snor i ringstrukturer utover i skjellet. Dette fører til at matriksen og mineraliseringen danner karakteristiske ringstrukturer utover i skjellene, der en og en ring dannes etterhvert som skjellene vokser (Sire & Akimenko, 2004; Sire et al., 1997). Lignende arkitektur er funnet flere steder i biologien, bl.a. i benstrukturene hos pattedyr (osteoner i lange ben) og i trestammer. En slik struktur er lett å lage samtidig som det danner stor motstandsstyrke mot mekanisk trykk. I skjellene finner man i tillegg til de bendannende osteoblastene også benabsorberende celler, osteoklaster. Hos både fisk og pattedyr er benvekst resultatet av koordinert aktivitet fra disse to celletypene: benmatriks sekreteres og mineraliseres av osteoblastene, mens matriksen løses opp av osteoklastene. Dette systemet gjør bendannelsen og mineraliseringen i fiskeskjell komparativ til tilsvarende prosesser hos pattedyr (Metz et al., 2012; Witten & Hall, 2003;

Witten & Huysseune, 2009; Ytteborg et al., 2010a; Ytteborg et al., 2012; Ytteborg et al., 2010b). Når osteoklastene løser opp den kalsifiserte matriksen kan skjellene virke som reservoar for kalsium og fosfor (Persson et al., 1995; Rotllant et al., 2005; Simkiss, 1974; Yasuo, 1980) og muligens også andre mineraler. Kalsium er svært viktig for oppbyggingen av og styrken til mineraliserte strukturer, men også for enzymaktivitet og nerve- og muskelfunksjoner, og nivåene i organismen er derfor nøye regulert (Flik et al., 1986; Flik et al., 1990; Hunn, 1985). Kalsium i mineraliserte strukturer henger sammen med fosfor i hydroksyapatitten, og nivået av den ene påvirker derfor den andre. Både kalsium og fosfor er svært viktige mineraler i skjelldannelse og regenereringsprosesser (White et al., 2006). Det er derfor mobilisering av kalsium fra skjellene under krevende situasjoner kan svekke det beskyttende skjellaget rundt fisken.

Skjelltap involverer tap av epidermis, skjell og dermis. Slike sår heles raskt hos frisk fisk dersom forholdene ligger til rette. Såret blir raskt dekket av mukus, deretter av epitelceller (Iger & Abraham, 1990; Quilhac & Sire, 1999). I karpe og gullfisk tar dannelsen av nye skjell et par uker (Bereiter-Hahn & Zylberberg, 1993; Ohira et al., 2007). Regenereringsprosessene for skjelldannelse blir delt inn i fire faser; epiteldannelse og differensiering av skjelldannende celler (dag 1-2), produksjon av ekstern matriks (dag 3-5), produksjon av basalplate matriks (dag 6-14) og til slutt mineralisering av basalplaten (dag 14-28) (Ohira et al., 2007). Hos laksefisk tar disse prosessene betydelig lengre tid og hos regnbueørret ble det nylig funnet at huden ikke er fullstendig regenerert etter sårskade selv etter 3 måneder (Schmidt et al., 2013). Regenerering av skjell og sårheling generelt blir i stor grad påvirket av miljøet. Skjelldannelse blir for eksempel påvirket av næringsstoffer og saltkonsentrasjoner, mens temperatur har stor effekt på regenereringshastigheten til alle celletyper (Guerreiro et al., 2013). I tillegg har flere studier vist at osteoblastene er svært sensitive til ytre påvirkninger og at kvaliteten til den mineraliserte matriksen derfor avhenger av optimale forhold (Whitson et al., 1992; Ytteborg et al., 2009; Ytteborg et al., 2013). Det vil si at dersom forholdene er ugunstige for å produsere mineralisert matriks vil kvaliteten på skjellene senkes. Dette påvirker selvfølgelig nydannelse av skjell, men også videre vekst og utvikling av ferdige skjell. Skjelltap forekommer i både vill- og oppdrettsfisk og regenereringsprosessene er viktige for at fisken skal opprettholde normal barriere funksjon. Skjellene er festet i dermis med kollagenfibre. En svekking av disse fibre kan føre til løsere feste av skjellene. Dessverre mangler det både kunnskap om de underliggende årsakene til skjelltap og kunnskap om hvordan sårheling kan stimuleres på en best mulig måte for å redusere infeksjonsfare hos oppdrettsfisk.

3.4 Mukus

Aller ytterst på fisken finner vi mukuslaget, som ikke bare opprettholder fuktighet og smidighet i fiskehuden, men som aller viktigst beskytter fisken mot mikroorganismer og forurensninger og gjør huden mindre permeabelt. Slimlaget er også en kjemisk barriere, da det inneholder enzymer og antistoff som kan drepe invaderende sykdomsfremkallende organismer (Rottmann et al., 1992). Mukus produseres i *stratum spinosum* av celler som ligner gobletcellene (mucocyttene) hos pattedyr. Mukuscellene er godt synlige i *stratum spinosum* fordi de fleste andre epitelcellene i dette laget er udifferensierte. Dette er derimot ikke tilfelle hos coho laks (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum), der det er rapportert umodne mukusceller i basallaget (Hawkes, 1974). Stort sett ellers blir mukuscellene produsert kontinuerlig i *stratum spinosum* og vandrer til *stratum superficiale* der de sekreterer innholdet på overflaten av epitellaget (Easy & Ross, 2010; Rakers et al., 2010). Foreløpig er forskningen på mukus hos laks mangelfull og få studier er utført med produksjon av mukus i fokus.

Mekaniske skader som er et resultat av håndtering (f.eks. fanging, bedøvelse og transport), bestemte kjemikalier i vannet (f.eks. dårlig vannkvalitet og sykdomsbehandling) og/eller feilernæring (f.eks. mineralinnhold og fettprosent) kan fjerne eller ødelegge slimlaget og dermed redusere den beskyttende effekten. Fjernet eller ødelagt mukuslag kan i tillegg føre til at fisken får en ubalanse i osmoregulering og føre til en redusert "glideeffekt" slik at fisken må bruke mer energi på respirasjon og bevegelse (Rottmann et al., 1992).

3.4.1 Antall mukusceller i huden varierer

Mukuscellene kan kvantifiseres og synliggjøres ved hjelp av histologiske undersøkelser. Slike analyser har vist at antall mukusproduserende celler avhenger av en rekke faktorer: art, omgivelser og fysiologiske forhold, ernæring, helsestatus, infeksjoner, stress, m.fl. Mukuscellene er derfor foreslått som gode og pålitelige indikatorer på stress, vannkvalitet, infeksjoner, kosthold, livsstadier osv. Noen mener også at størrelsen og antallet av mukusceller i overhuden er en god indikasjon på virkningen av stress fordi de fysiologiske forandringer ikke ser ut til å være påvirket av kortisolnivåer (Vatsos et al., 2010). Det har blitt vist at økt antall (hyperplasi) og økt størrelse (hypertrofi) av mukuscellene kan oppstå i regnbueørret utsatt for giftstoffer. Morfologien til disse cellene (antall og størrelse) har derfor blitt foreslått som et nyttig verktøy for biomonitorering, det vil si kjemiske målinger av nivåer av giftstoffer (Ledy et al., 2003). Studier har vist at tettheten av mukusceller er lavest i området ved haleregionen (kaudalt område) og høyest i ryggregionen (dorsalt område) (Buchmann & Bresciani, 1997; Pickering, 1974; Pittman et al., 2013) Ifølge har den dorsolaterale siden (på siden av ryggen) hos laks den høyeste tettheten av mukusceller (8 % av epitellaget dekket) i tillegg til de største cellene (160 μm^2). Hodet derimot har den laveste tettheten med de minste cellene (4 % og 110 μm^2). Størst og flest celler på dorsolateral side indikerer at dette området krever høyest mukusproduksjon (Buchmann & Bresciani, 1997; Pickering, 1974; Pittman et al., 2013). Forskjellene mellom de ulike områdene på fisken er i tillegg påvirket av kjønn, ernæring og vannstrømning. Antall mukusceller minker videre med 50 % ved smoltifisering hos laks (O'Byrne-Ring et al., 2003) noe som understreker viktigheten av å se på mukusproduksjon og hud-dynamikk også på ulike livsstadier. Arbeid på torsk (*Gadus morhua*) har vist forskjeller i immun- og stressmarkører under buken og på halen og at det kan ha sammenheng med de fysiske egenskapene til fiskehuden i disse områdene (Caipang et al., 2011).

3.4.2 Sammensetning av mukus

Det høye innhold av mukusproteiner og den høye produksjonshastigheten til mukus i fiskehuden betyr muligheter for rask forandring i både mukusinnhold og antall mukusproduserende celler. En viktig del av den beskyttende effekten av slimet kommer av en fysisk vaskeeffekt som oppstår når ny mukus stadig produseres og skilles ut fra fiskehuden istedenfor de kjemiske funksjonene til selve mukusen (Yamamoto et al., 2011). Mukus inneholder også flere aktive biokomponenter; f.eks. immunoglobuliner, komplement C-reaktive proteiner, lektiner, lysozymer, proteolytiske enzymer, alkalisk fosfatase og esterase og antimikrobielle peptider, som er med på å gi mukusen de antibakterielle egenskapene (Alvarez-Pellitero, 2008). I torskehud er det funnet antibakterielle gener (g-type lysozym, metallothionein, BPI/LBP, galectin, hepcidin, transferrin), antivirale gener (fortilin og IRF-1, ISG-15 og methyltransferase), cytokingener (IFN-c, CC-kjemokin og interleukiner), glukosetransportere og stress-relaterte gener (Cu/ZN-SOD, katalase, GSH-Px og Hsp-70) (Caipang et al., 2011). Mange av disse genene viste høyest uttrykk også på siden av ryggen (dorsolateralt – der det også er flest mukus celler). I artikkelen til Caipang og kollegaer (2011) ble det diskutert at det

ikke bare er forskjeller i tetthet og størrelse på mukuscellene det kommer an på, men at også ulike typer mukusceller forårsaker forskjellene i genekspresjon, og til syvende og sist forskjeller i mukusen som skilles ut. Andre studier har vist at sammensetningen av mukus, både i tarmen og på huden til fisk, kan forandres med ernæring, noe som igjen kan påvirke bioaktive komponenter og de naturlige barriere-forsvarsmekanismene (Sweetman et al., 2010; Torrecillas et al., 2011).

3.4.3 Muciner

Muciner er en familie bestående av proteiner med høy molekylærvækt, de er betydelig glykosylerte og produseres av mukusceller som er spesialiserte epitelceller. Mucinene som skilles ut varierer i størrelse fra 322-13288 enheter og mange av egenskapene til disse proteinene er fortsatt ikke studert. Mucinene har den spesielle egenskapen at de kan danne gele, noe som gjør at de er nøkkelkomponenter i de aller fleste sekreter og slimlag (Marin et al., 2000; Marin et al., 2007). Muciner kan være av to primære typer: membranbundet eller sekreterte. Begge typer er glykosylerte molekyler, dvs. at de har sukkerkjeder bundet til proteinet (Bansil & Turner, 2006). Mucinstrukturene varierer fra hydrofile (vannløselige) og hydrofobe (fettløselige) enheter, de holdes sammen av både hydrogenbindinger og elektrostatiske interaksjoner og har evnen til å danne store komplekser (Bansil & Turner, 2006). Rundt 20 mucingener har så langt blitt identifisert i mennesker og homologe sekvenser med likt genetisk opphav er oppdaget i mus og rotte. Ulike sammensetninger av disse 20 mucinene er funnet i ulike vev hos pattedyr (Bansil & Turner, 2006) og hos fisk (Urawa, 1992; Van Der Marel et al., 2010). Mucinene har fått navn med forkortelsen MUC, etterfulgt av et nummer (1-20) (Perez-Vilar & Hill, 2004) der MUC5AC og MUC5Ber mucinene som oftest finnes i luftveiene hos pattedyr, mens MUC2 finnes i tarmene, men også i luftveiene. Når de blir utskilt har de en rekke funksjoner; fra enkel smøremiddel-effekt til transport av kjemiske celle-celle signaler og fysiske barrierer. Ofte har de en hemmende effekt på patogener og er en viktig del av immunsystemet. Overstimulering av muciner derimot er forbundet med ulike typer krefttilstander, luftveisinfeksjoner og cystisk fibrose. Særlig de to membranbundne mucinene MUC1 og MUC4 har vært til stede i ulike patologiske tilstander hos pattedyr (Singh et al., 2007; Singh et al., 2006; Singh et al., 2004). Muciner har derfor potensialet til å virke som gode diagnostiske markører for en rekke ulike sykdommer, men på grunn av det store antallet og ulike og mange glykosyleringsmønstre er mucinene svært vanskelige og tidkrevende å studere hver for seg.

Mucingenene koder for mucin-monomerer som syntetiseres som stav-formede apo-muciner. Disse går videre til post-translasjonelle modifiseringer der de blant annet glykosyleres. Glykosyleringen gjør at mucinene får stor kapasitet til å binde vann, noe som bidrar til den gele-dannende evnen, samtidig som det gjør proteinene motstandsdyktige mot proteolyse (proteasenedbryting). Denne motstanden er en viktig del av mucinenes evne til å virke som barrierer mot patogener. Ferdige muciner er satt sammen av to domener. Det første domenet er amino-karboksy-terminal regionen som har få glykosyleringer, men er rik i aminosyren cystein. Cystein-enhetene danner disulfidbindinger mellom mucin-monomerene. Det andre domenet er den sentrale delen som danner flere tandem-repeterte enheter, hver på 10-80 subenheter, der opp til halvparten av aminosyrene i kjeden er serin eller threonin. Dette området blir mettet av hundrevis av O-linkede oligosakkarider. N-linkede oligosakkarider er også tilstede, men ikke så hyppig som de O-linkede. Mucinene sekreteres deretter som store aggregater med molekylærmasser som varierer fra 1-10 mill kD. Aggregatene holdes stort sett sammen av ikke-kovalente interaksjoner, men intermolekulære disulfidbindinger er også til stede. Myristylerte alanin-rike C kinaser, MARCKS, er proteiner som initierer og tar del i

sekresjonen av aggregatene og også andre eksocytose prosesser. Aggregatene blir transportert ut av cellen i spesifikke vesikler.

3.4.4 Antimikrobielle peptider

Antimikrobielle proteiner og peptider (kjede av aminosyrer) er viktige elementer i det uspesifikke immunsystemet og er en forsvarsmekanisme som evolusjonært sett er godt bevart (Zaslhoff, 2002). I dyr er de spesielt funnet på overflater med mukus, i kroppsvæsker og i hvite blodceller. Peptidene kan variere i størrelse, struktur og aktivitet, men de fleste er amfipatiske (både vann og fettløselige) og positivt ladet (Hancock & Scott, 2000). De dreper enkelte virusarter, bakterier, sopp, parasitter og noen svulster. Peptidene klassifiseres etter primær, sekundær eller tertiær struktur, funksjon eller opphav. De virker hovedsakelig ved å ødelegge cytoplasmamembranen slik at mikrobene raskt drepes. Antimikrobielle peptider har en rask og enkel syntese og blir uttrykt i mange typer vev (Smith et al., 2000). Det finnes flere forskjellige antimikrobielle komponenter, og selv når man begrenser det til peptider vil man finne stor diversitet, og mange forskjellige strukturer. Ifølge Antimicrobial Sequences Database er mer enn 2400 forskjellige antimikrobielle peptider karakterisert fra forskjellige arter. De ble først isolert fra insekter, men har nå også blitt isolert fra flere marine arter. Virkemekanismene til disse gruppene er forskjellige, men generelt kan man si at et av målene for disse peptidene er lipid bilaget i membranen hos bakterier (Epanand & Vogel, 1999). Det har imidlertid vist seg at dette ikke gjelder alle antimikrobielle peptider. Hos Gram negative bakterier tror man at peptidet reagerer ved å krysse begge cellemembranene, og angripe flere anioniske (negativt ladet) mål samtidig. Det ser her ut som om peptidet går direkte på den anioniske Lipo-polysakkarid (LPS) membranen og nøytraliserer denne ved å overta plassen for de divalente ione-brøene. Dette resulterer i at membranen ødelegges, og at peptidene kan trenge inn i membranen. Inne i membranen kan det se ut som om peptidet binder seg til fosfolipid laget, og danner supramolekylære kanaler. Disse kanalene kan være med på å hemme eller drepe cellen ved at membranen får permeabilitetsproblemer ved at gjennomtrengeligheten for substanser endres. Disse kanalene er kun midlertidige, og når de kollapser kan peptidet som da befinner seg innenfor membranen virke videre på for eksempel DNA (Alexander & Ingram, 1992).

3.4.5 Enzymer

Et av de mest studerte enzymene (protein som virker som biologiske katalysatorer) i fiskehud er lysozym. Lysozym (N-acetylmuramid glukanothidrolase eller muramidase) er et bakteridrepende enzym identifisert i en rekke organismer. Lysozym er til stede i mukus, lymfe og serum hos de fleste fiskearter, men ikke i alle (f.eks. ikke hos torsk) (Bergsson et al., 2005; Nigam et al., 2012). I mukus bidrar lysozym til å bekjempe invasjon av bakterier (Ellis, 1999; Saurabh & Sahoo, 2008; Subramanian et al., 2007). Mengden av lysozym i mukus avhenger av art og miljø. For eksempel er lysozym aktiviteten i mukus hos laks i ferskvann høyere enn hvis den lever i saltvann (Fast et al., 2002). Sure og alkaliske fosfataser (enzym som bidrar til spalting av fosfatgrupper fra ulike molekyler) er viktige for lysosom-aktiviteten, og alkalisk fosfatase har vært foreslått som en indikator på endret immunforsvar og/eller økt stress-aktivitet i huden hos laks (Ross et al., 2000). En unik kobber og zink superoxid dismutase (SOD) har også blitt identifisert i hud fra *Paralichthys olivaceus* (Nakano et al., 1995). Proteaser er en gruppe enzymer som spalter proteiner og peptider og som er involvert i motstandsdyktigheten til mukus og bekjempelse av patogener (Ingram, 1980). Frigjøring av proteaser kan drepe bakterier direkte ved å dele viktige proteiner i bakteriene eller gjøre det vanskelig for bakteriene å feste seg ved å forandre egenskapene til mukus (Aranishi et al., 1998). Katepsin er

eksempel på protease som har vært beskrevet i forbindelse med mukusproduksjonen hos fisk (Aranishi, 1999; Cho et al., 2002).

3.4.6 Immunaktive proteiner

Flere ulike typer proteiner er studert i fiskemukus der de aller fleste har viktige funksjoner i immunsystemet. For eksempel laktoferrin som kan indusere immunresponser og virke dempende på allergiske reaksjoner (González-Chávez et al., 2009). Den antimikrobielle effekten til histoner har lenge vært kjent (De Falco et al., 1993; Thatcher & Gorovsky, 1994), også i fisk (Fernandes et al., 2002; Fernandes et al., 2003; Noga et al., 2001; Park et al., 1998; Richards et al., 2001; Robinette et al., 1998). Histon H2B har blitt isolert fra mukus hos Atlantisk torsk (Bergsson et al., 2005) der den er vist å hemme vekst av bakterier og sopp, for eksempel *Aeromonas hydrophila* og *Saprolegnia* spp. (Robinette et al., 1998). Nivået av histon H2A i mukus har blitt redusert ved perioder med fravær av patologiske tilstander (Robinette & Noga, 2001).

Lektiner i mukus hos fisk er ikke mye studert, men det er kjent at lektiner og lektin-lignende molekyler er tilstede i mukus i fisk der de trolig bidrar til det medfødte og/eller adaptive immunsystemet (Ingram, 1980). Lektiner interagerer med patogenene via overflatestrukturer, noe som via ulike biokjemiske kaskader fører til økt fagocytotisk aktivitet eller aktivering av komplement systemet (Matsushita et al., 2004; Ottinger et al., 1999). Lektin-nivåene i mukus på fiskehud øker ved infeksjoner (Easy & Ross, 2009).

3.4.7 Immunoglobuliner

Sekretoriske immunoglobuliner (Ig) spiller en viktig rolle i opprettholdelse av slimhinner og de er involvert i immunitetsegenskapene til fiskemukus (Rombout et al., 1993; Saha et al., 2004). Mukus isolert fra en rekke organismer inneholder ulike immunoglobuliner (Harris & Hunt, 1973; Pigman, 1977). Fisk har tre klasser immunoglobuliner; IgM, IgD og IgT/IgZ (Hordvik et al., 1999). IgT, men også IgM, er hoved-immunoglobulinet i vev med mukusoverflater hos fisk (Salinas et al., 2011; Xu et al., 2013). Det har vist seg å være vanskelig å bestemme mengden av immunoglobuliner i fiskemukus fordi mengden er lav og variasjonen mellom individer er høy, men man vet at mengden av IgM vil variere blant annet med temperatur (Clark et al., 1996; Dickerson & Clark, 1998; Lin et al., 1996). Studier som viser hvordan immunmolekylene transporteres mellom og på tvers av organer i fisken mangler for å få en bedre forståelse av temaet (Ángeles Esteban, 2012).

3.5 Sårheling

De fleste studier av sårheling hos fisk fokuserer på finneamputasjon eller på overfladiske sår hvor kun epidermis er fjernet. Få studier er utført på salmonider og de fleste studier stammer fra ferskvannsfisk. Sårhelingsprosessen kan deles inn i flere steg som i noe grad overlapper hverandre. Stegene er som følger; homeostase, inflammasjon, dannelse av reparasjonsvev, re-epitelisering, sammentrekning av såret og til slutt omdannelse av reparasjonsvevet (Richardson et al., 2013). Trinnene i sårhelingsprosessen ligner de vi finner hos pattedyr, med unntak av arrdannelse som ikke skjer hos fisk. Ettersom fisk er vekselvarme spiller temperatur trolig en større rolle enn hos pattedyr og påvirker i stor grad hastigheten av re-epiteliseringen (Bullock et al., 1978; Ream et al., 2003). Dybden på såret har også noe å si for helingsprosessen; sår som går ned til muskelen regenererer ikke like bra som overflatesår (Richardson et al., 2013). Re-epitelisering av overflatesår med intakt

stratum basale skjer relativt raskt og er beskrevet i detalj av Quilhac og Sire (1999). Dersom såret er mer omfattende tar sårhelingen lenger tid. I første omgang vil blodårene rundt såret trekke seg sammen og blodet koagulerer. Minutter etter sår dannelse rekrutteres hvite blodlegemer som i hovedsak består av neutrofiler og makrofager (Richardson et al., 2013). Såret lukker seg i en kombinasjon av re-epitelisering og kontraksjon. Reepitelisering skjer ved at celler fra *stratum superficiale* og *stratum basale* beholder sin posisjon, mens celler fra det intermediære laget migrerer og differensieres til basalceller og overflateceller (Quilhac & Sire, 1999). Dette fører til at omliggende normal hud blir tynnere (Bullock et al., 1978). Cellene som migrerer ser ut til å ha fagocytisk aktivitet (Iger & Abraham, 1990). Migreringen stopper først når de migrerende cellefrontene kommer i kontakt med hverandre og såret lukkes alltid i midten (Phromsuthirak, 1977; Schmidt et al., 2013). Reparasjonsvevet dannes først etter at epitelcellene dekker såret (Schmidt et al., 2013). Omdannelsen av reparasjonsvevet starter ett par uker etter sår dannelsen og kan vare i flere år.

3.6 Huden endrer seg i løpet av livsløpet

Laksefisk er anadrome, det vil si at fisken blir født i og lever den første tiden i elver, for så å vandre ut i sjøen. Fisken kan etter en periode i sjøvann vandre tilbake til ferskvann igjen for å overvintre eller gyte. Laksefisk som tilhører denne gruppen omfatter bl.a. laks og ørret (*salmo*), røyeartene (*salvelinus*) og stillehavslaksene (*oncorhynchus*), der graden av anadromi varierer mellom artene. Laks, ørret og røye viser avtagende grad av anadromitet (Hoar, 1988; Hoar, 1976; Rounsefell, 1958), men hos alle artene medfører livet fra ferskvann til saltvann store forandringer i livsmønster og fysiologi for å tilpasse seg et nytt miljø. Den synkroniserte prosessen av endringer i utseende, atferd og fysiologi kalles smoltifisering. Smoltifiseringsprosessen styres av indre (endogene) rytmer som styres av ytre miljøforhold slik at utvandringen fra elven til havet kan skje på et optimalt tidspunkt. Hos de fleste laksefiskene skjer dette i løpet av noen uker på våren og den korte perioden fisken er smolt blir kalt «smoltvinduet». Overføring av fisk til sjøvann utenfor dette vinduet kan føre til stor dødelighet og lav eller ingen vekst. Dersom smolten holdes igjen i ferskvann vil den imidlertid kunne desmoltifisere, for så å kunne resmoltifisere igjen neste vår (Boeuf & Harache, 1982; Conte & Wagner, 1965; Duston & Saunders, 1990; Houston, 1961). Alder, størrelse, vekt og veksthastighet er faktorer som påvirker smoltifiseringsprosessen, og som i stor grad kan påvirkes av ytre faktorer. Smoltifiseringsperioden er mest studert i forbindelse med hudkvalitet hos laks i og med at det skjer direkte og synlige forandringer i huden til fisken samtidig som man erfaringsmessig vet at fysiologien har en avgjørende betydning ved sjøutsett. Parrmerkene, som ligger dypt i huden, blir under smoltifiseringen etter hvert skjult av lysreflekterende krystaller (purinene guanin og hypoxanthin) som avsettes i skjell og ytre hudlag (Hayashi, 1971; Johnston & Eales, 1970; Johnston & Eales, 1968; Johnston & Eales, 1967; Parker & Vanstone, 1966; Robertson, 1948; Vanstone & Markert, 1968). Verken endringer i temperatur eller fotoperiode synes å være nødvendig for å indusere den økte avsetningen av puriner, og fargeforandringen synes først og fremst å være endogent kontrollert (Hoar, 1988; Johnston & Eales, 1970). Hos flere arter er det vist at toleransen for sjøvann øker med størrelsen til fisken som følge av et redusert forhold mellom overflate og volum, når fisken vokser øker volumet forholdsvis mer enn overflaten og/eller en størrelsesavhengig utvikling av de hypoosmotiske reguleringsmekanismene (McCormick & Saunders, 1987). Dette innebærer en mindre overflate og et mindre hud-areal, og kan også spille en rolle i hudkvaliteten hos fisken under andre hurtigvoksende perioder. I forbindelse med smoltifiseringen vet man også at antallet mukusceller minker med 50 % hos laks (O'Byrne-Ring et al., 2003), noe som indikerer at mukusproduksjon og hud-dynamikk også varierer i løpet av de ulike livsstadiene. Det er velkjent hos lakseoppdrettere at smolt

er «løs på risten» og ofte har betydelig skjelltap ved overføring til sjø. Vitenskapelig dokumentasjon på hvilken betydning ulike smoltifiseringsstrategier (f.eks. ulik bruk av lysregime, temperatur, størrelse) og smoltstatus har på hudkvalitet er likevel mangelfull (se kap. 5).

4 Metoder for å analysere hud

Forebyggende fiskehelse krever en helhetlig forståelse av alle tenkelige innsatsfaktorer som påvirker fiskens velferd og helse, overvåking av disse og en drift der alle forhold optimaliseres slik at fisken er mest mulig robust og motstandsdyktig mot sykdom. For å kunne optimalisere drifts- og miljøparametere, fôr og genetikk er man avhengig av å ha sensitive, nøyaktige og reproducerbare målemetoder. Hudanalyser vil i årene som kommer bli et svært viktig verktøy i det forebyggende helsearbeidet og danne grunnlag for utvikling av driftsoptimaliseringer som styrker hudhelsen hos oppdrettsfisk og også bidra til effektiv utvikling av bedre helsefôr. Tilsvarende kan spesifikke og dyptgående analyser fra enkelte sykdomsutbrudd gi verdifull informasjon om bestemte reaksjonsmønstre og omfang av patologiske prosesser, noe som igjen kan resultere i spesifikke diagnoser og/eller til og med behandlingsmetoder. For laksefisk er det flere eksempler på slike studier, med mange publikasjoner fra 70- og 80-tallet; (Bruno, 1986; Foda, 1973; Harbell et al., 1979; Hoffmann & Lommel, 1984; Mulcahy, 1971; Mulcahy, 1969; Møyner, 1993; Shieh & MacLean, 1976; Waagbø et al., 1988). For å utarbeide pålitelige, diagnostiske verktøy kreves det både enkle og godt etablerte metoder, men det er også behov for mer avansert og spesialisert metodikk for å øke kunnskapen om underliggende biologiske mekanismer. En rekke metoder er foreslått og prøvd ut, og noe er publisert i de siste årene. De fleste kjente metodene for hudanalyser er utviklet i zebrafisk som er en viktig modellorganisme for å forstå grunnleggende biologi og derfor blir brukt mye i medisinsk forskning. Fiskehud er blant annet interessant fordi den har så høyt utviklede antimikrobielle forsvarsmekanismer utviklet for å kunne håndtere den store mikrobetettheten som er i sjøvann. Smitteforsvarsprinsippet man finner hos fisk er fortsatt operativt og bevart i huden til mennesker. Et annet eksempel er de grunnleggende molekylære studiene utført i zebrafisk med in vivo-genomikk og regenerering som blant annet har vært viktig for melanom studier hos mennesker. Studier har også vist at preparater fra fiskehudsekret kan stimulere sårhelingsprosesser hos pattedyr (Al-Hassan et al., 1991; Al-Hassan et al., 1985; Al-Hassan et al., 1983; Al-Hassan et al., 1987a; Al-Hassan et al., 1987b), men molekylene involvert i denne effekten har ikke blitt identifisert (Ángeles Esteban, 2012). Komplekse antimikrobielle forsvarssystemer i fiskehud og de molekylære kontrollmekanismene for melanocyt-stamceller er bare noen av mange fascinerende eksempler som illustrerer potensielle anvendelser av fiskehud-modeller i undersøkende dermatologi. Å studere fiskehud er derfor viktig av flere grunnleggende årsaker i tillegg til at fisk er en viktig oppdrettsart. Avsnittene nedenfor gir en oversikt over tilgjengelige analyseteknikker for å studere hud hos fisk.

4.1 Ytre evalueringer av hud, skjell og mukus

Det finnes i liten grad standardiserte metoder for å karakterisere eller kvantifisere status på hud, skjell og slimlag. Ytre observasjoner er ofte brukt, som f.eks. at huden er hel, blank og at skjellene sitter jevnt. Fisken skal ikke ha ytre sår eller tegn på svakheter i huden. Dette gjelder hele kroppen, inkludert hode, gjellelokk og finner. Utvendig slim har vært undersøkt kvalitativt i et visst omfang i forbindelse med immunologiske studier. En sunn fisk har litt slim fordelt jevnt over. Det er godt grunnlag for å hevde at analyser av faktorer i slimlaget kan brukes til å beskrive både begrensninger i kosthold, stressnivå og immunkompetanse. Det har også vært registrert variasjon i mengde og viskositet av slimlaget, uten at det eksisterer studier som setter dette i sammenheng med hva det har å si for fiskens ve og vel, (NFR, 2009). I NFR rapporten står det videre at det er nødvendig å utvikle bedre metoder for å kvantifisere og karakterisere hudens status, skjellfestene og det ytre slimlaget, i tillegg til å utarbeide kunnskap om sammenhengen mellom disse og fiskens velferds-

status for bedre å kunne vurdere risiko og målrettet behandling. Siden rapporten kom er det ikke kommet noen banebrytende ny teknologi på området, mest på grunn av lite fokus på temaet.

I sammenheng med hud og skjellkledning er det først og fremst tap av hudens integritet som er av interesse. Spesielt i forbindelse med håndtering er det fare for å påføre fisken sår og skrammer, eller å forårsake skjelltap. Hos laks er dette et typisk problem rundt smoltifisering, der en gjerne gjør registreringer i forbindelse med utsett i sjø, når skjellene sitter løst og væskebalansen samtidig er på det mest sårbare, men problemet er aktuelt for fisk uansett stadium. Skjelltap registreres noen ganger systematisk, og da gjerne i form av et scoringssystem. Med utvikling av bildeanalyseteknikker burde det være mulig å komme frem til objektive målemetoder for å kvantifisere skjelltap, slik at dette kan brukes mer systematisk i en vitenskapelig sammenheng.

Etter ytre analyser må man dypere ned i hudens struktur og cellulære egenskaper for å forstå sammenhengen og for å utvikle nye teknikker for raske diagnostiske analyser. Analyseverktøyene inkluderer morfologiske metoder som histologi, immunohistokjemi, *in situ* hybridisering, lysmikroskopi (LM), skanning elektronmikroskopi (SEM), transmisjon elektronmikroskopi (TEM), ScyScan (micro-CT), infrarøde teknikker som fourier transferred infrared spektroskopi (FTIR), near infrared R (NIR) og Raman spektroskopi og kvantitative molekylære metoder som kvantitativ sanntids PCR (qPCR), mikromatrise og RNA sekvensering. Metodene er nærmere beskrevet nedenfor.

4.2 Histologisk evaluering av hud, skjell og mukus

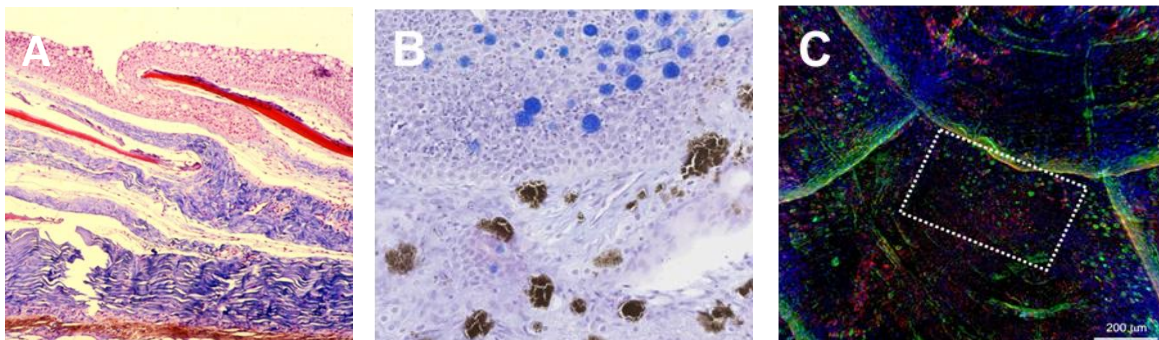
Det eksisterer et utall av fargeteknikker og metoder for å evaluere morfologien i hud-preparater. De aller fleste baserer seg på generelle fargeteknikker som alcian blue og hematoxylin/eosin (HE) farging for å evaluere vevets struktur, eller mer spesifikke farger for f.eks. periodic acid schiff (PAS) for å farge mukus eller elastinfarge for å synliggjøre bindevev.

PAS og haematoxylin kan brukes til å markere mukuscellene i huden. Den intracellulære nøytrale mukusen vil farges sterkt rød og cellenes kjerner vil farges mørke blå. Dette vil gjøre det mulig å skille epitelceller og mukusceller, og histologiske evalueringer kan gjennomføres. Mukusceller farges av PAS-haematoxylin fordi fargen binder til sidekjedene av suktermolekyler på glykoproteinene (Wright & Mackie, 1977). Alcian blue derimot kan brukes til å farge surt mukus som ikke vil la seg farge med PAS. Celler som ikke detekteres av verken PAS eller Alcian blue er også identifisert, og opptrer gjerne i patologiske tilfeller (Adams & Dilly, 1989). For eksempel er det mer sulfateringer i mukus sekretert i forbindelse med inflammasjon og metaplasia; gobletcellene i øyets slimhinne produserer nøytrale muciner i tillegg til sure muciner under ulike situasjoner (Wright & Mackie, 1977). Forandringer i den kjemiske sammensetningen til mukus vil ha stor betydning for hvordan den lar seg farge. Ulikheter i farging kan derfor indikere forandret mukusproduksjon, ergo ulike tilstander i vevet (Adams & Dilly, 1989).

Problemet videre, uavhengig fargeteknikk, er hvordan analysene skal utføres for best mulig kvantitative evalueringer. Å telle antall mukusceller, måle størrelse og tetthet eller kvantifisere innholdet i sekretet er tidkrevende og vanskelig. Både størrelse og antall av disse celler varierer fra område til område på fiskekroppen. Den vanligste metoden for prøvetaking av hud til histologi innebærer å kutte ut en liten bit av huden (ca. 0,5 x 0,5cm) som fikseres, støpes inn og snittes i tynne (~0,5µm) tverrsnitt for å gi den lagdelte visningen av huden som beskrevet tidligere (figur 2A). Dette vil gi en klar oversikt over strukturene i det valgte hudområde, men relativt få mukusceller å

analysere per snitt. Ofte forsvinner det ytterste epitellaget ved denne prosedyren, og mye informasjon vil dermed gå tapt. Det har derfor i den senere tid blitt behov for metoder der man kan se på større områder av hudens overflate. En metode utviklet av Pittman med kollegaer (Pittman et al., 2013; Pittman et al., 2011) baserer seg på at man istedenfor å snitte hudprøvene på tvers heller snitter fra overflaten og nedover i vevet slik at man får visualisert mukuscellene på overflaten av epitellaget (figur 2B). Det er også mulig å farge hele vevsbiter og på den måten unngå snitting (figur 2C; Takle og kollegaer, upublisert). Biten blir deretter mikroskopisk evaluert fra oversiden slik at man får et bilde av mukus og epitellaget fra utsiden.

Ved å bruke en kombinasjon av ulike fargemetoder og teknikker kan man synliggjøre ulike komponenter og få en bedre oversikt over hva som foregår i huden.



Figur 2 Ulike metoder for å evaluere mukusceller og hud histologisk: A) Tverrsnitt av hud farget med HE farging viser de ulike lagene i fiskehuden (foto: Trygve Poppe, NMBU), B) Horisontalt snitt av laksehud som viser mukuscellene (blå, øverst), epitelceller (lilla) og melanin flekker (svart, nederst). Snittet viser flere lag av huden da disse ikke er parallell til snittflaten. Denne metoden kalt «Mucosal mapping», er ikke avhengig av å treffe bestemte strukturer for å kvantifisere størrelse og tetthet av slimceller i laksens hud (foto: Aurora Campo/Quantidoc). C) Farging av hel vevsbit der antall mukusceller telles ved hjelp av fluorescensen i et spesifikt område, illustrert med en stiplet boks i figuren (foto: Jacob Torgersen, Nofima).

4.3 Molekylære metoder for å evaluere hud, skjell og mukus

Metoder der man kan kvantitere proteiner og gener i huden har de siste årene blitt ansett å være blant de beste og mest detaljerte teknikkene. Dette er teknikker som har vært mye brukt i tarmstudier for å kartlegge ytre påvirkninger, mikromiljø, cellestatus og vevsintegritet, stresssituasjoner og spesifikke celleaktiviteter. Det har derimot vært få studier til nå som har vist molekulære forandringer i hud hos fisk - spesielt få studier med mål om å avdekke komponenter som er viktig for hudkvaliteten eller studier med fokus på å utvikle spesifikke markører for diagnostisering. Arbeidet med å avdekke fysiologiske og molekulære mekanismer i hud hos fisk har bare så vidt begynt.

For å kvantifisere og karakterisere molekulære mekanismer og for å identifisere potensielle biomarkører må man ta i bruk tilgjengelig bioinformatikk for å kunne etablere RNA- (f.eks. qPCR, in situ hybridisering) og protein- (f.eks. western blot, 2D-gel og immunohistokjemi) baserte assays. Ved å bruke molekulære tilnæringsmetoder for hudanalyser kan man identifisere spesifikke komponenter involvert i bl.a. utviklingstrinn og patologiske tilstander. Molekulære komponenter er stort sett bundet sammen i kompliserte signalveier, som kofaktorer, transportveier, nedstrøms regulatoriske mekanismer osv. Avanserte «high-throughput» metoder, som f. eks. chromatin immunoprecipitation (ChIP)-sekvensering, rRNA basert mikromatrise, denaturerende gradient gel

elektroforese (DGGE) og mikromatriser for transkripsjons analyser, er derfor nødvendig for å beskrive det helhetlige bildet. Ved å kombinere disse teknikkene med komparativ, avansert proteomikk som f.eks. liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) og high-performance liquid chromatography (HPLC) basert profilering med isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ) og isobaric peptide termini labeling (IPTL) teknologi, kan man identifisere og kvantifisere proteinnivåer og dermed tolke cellulære hendelser og reaksjoner. De fleste studier av skjell derimot, har vært basert på morfologiske analyser (Le Guellec et al., 2004; Sire et al., 1997) og den molekylære forståelsen av de underliggende cellulære aktivitetene har stort sett blitt begrenset til enkeltgen-studier. For eksempel har ko-ekspressjon av østrogen-reseptor 2a (*esr2a*), apolipoprotein Eb (*apoeb*) og sonic hedgehog (*shh*) blitt forbundet med proliferasjon, differensiering og metabolske aktiviteter i epidermis og skjell hos zebrafisk (Monnot et al., 1999; Sire & Akimenko, 2004; Tingaud-Sequeira et al., 2006). Reseptoren ectodysplasin-A (*EDAR*) kreves for initiering av skjelldannelse i medaka (*Oryzias latipes*) (Tingaud-Sequeira et al., 2006). Videre er metalloproteinase MMP-2 og MMP-9 viktige for regenerering av skjell i zebrafisk (Kondo et al., 2001). Fjerning av skjell ødelegger nøkkelkomponenter i det medfødte immunsystemet og skaper en proinflammatorisk respons, samtidig som det aktiverer helings- og regenereringssystemet (de Vrieze et al., 2011; Fast et al., 2002; Vieira et al., 2011) brukte oligo-array for å kartlegge de underliggende cellulære prosessene i epidermis og skjellregenerering i sea bream (*Sparus aurata*) under sulting. Gener involvert i regulering av cellyklus, prolifering, adhesjon, immunrespons og antioksidant-aktiviteter var særlig påvirket. Liu og kollegaer (2013) brukte RNA sekvensering i sine studier for å finne ut hvordan sulting påvirket hudkvaliteten hos fisk. Et arsenal av gener involvert i immunregulering ble identifisert, sammen med gener involvert i energimetabolisme, cellyklus og prolifering. Det publiserte arbeidet til Liu og kollegaer (2013) og Vieira og kollegaer. (2011) gir en god oversikt over genaktiviteten i hud under de gitte betingelsene og legger et grunnlag for fremtidige analyser med mer spesifikke teknikker på enkeltgener.

Glykokonjugater i mukus hos malle (*Arius tenuispinis*) har blitt analysert ved hjelp av histokjemiske analyser; tradisjonelle kjemiske karbohydratanalyser i tillegg til fluorescensmerkede lektiner (Al-Banaw et al., 2010). I dette studiet ble bl.a. mannosebindende lektiner (Con A, LCA og PSA), galaktosebindende lektiner (PNA og RCA), N-acetylgalaktosamin-bindende lektiner (DBA, SBA, SJA og GSL I), N-acetylglykosamin-bindende lektiner (WGA og WGAs), fukosebindende lektiner (UEA) og lektiner med andre karbohydratkonfigurasjoner (PHA E, PHA L) undersøkt. Resultatene viste at mukuscellene (gobletcellene) hos malle inneholder en betraktelig mengde glykokonjugater over alt der de er plassert i huden. Klubb-cellene derimot inneholdt ikke disse konjugatene. Mukus produsert fra gobletcellene hos malle var særlig rike i enheter med mannose, N-acetylgalaktosamin og N-acetylglykosamin (Al-Banaw et al., 2010). Slike omfattende studier av karbohydrater i mukusinnholdet har ikke foreløpig vært utført i andre arter.

Det er også mulig å bestemme mer spesifikt hvilke celletyper som er involvert i ulike responsmekanismer. Ved å bruke enzyme-linked immuno spot (ELISPOT) assay ble det også funnet antistoffsekreterende celler (ASCs, LPs-induserende B-celler og plasmaceller) i huden til maller (Zhao et al., 2008). Det ble også funnet et økt antall, 20 ganger flere, av disse cellene etter parasittangrep med *Ichthyophthirius multifilii*. Det høye antallet ble opprettholdt lenge etter at parasitten hadde forsvunnet. Dataene fra forsøket tyder på at antall ASC i huden er dynamisk, responderer på infeksjoner og at responsen øker. Hvordan dette virker i andre fiskearter er per dags dato ikke studert.

Ulike skanningsteknikker, som f.eks. EM, SEM og TEM kan også brukes for å oppnå detaljerte bilder av hudprøver, f.eks. for å se på intracellulære komponenter, overflatestrukturer i bindevev, adhesjonsmolekyler eller mikromiljø. Slike analyser er avanserte verktøy som gir detaljerte bilder av hva som foregår i vevet. Gostin og kollegaer (2011) brukte for eksempel SEM for å se på bakteriesamfunn i huden til *Cyprinus carpio* og *Salmo trutta fario* (Gostin et al., 2011). Allerede i 1970 viste Brown og Wellings oppbygging av dermis og epidermis og hvordan mukuscellene frigjør innhold på hudoverflaten hos *Hippoglossoides elassodon* (flyndre) ved hjelp av EM. Skjell (Brown and Wellings, 1969) og larvehud (Wellings & Brown, 1969) hos flyndre har også blitt undersøkt og beskrevet med EM. MikroCT og røntgen kan også brukes, f.eks. for å identifisere mineraliserte komponenter i skjell. I den senere tid er også teknikker basert på infrarødt lys introdusert for å kunne beskrive mer i detalj hva som skjer i bindevevet til fisk, metodene inkluderer bl.a. FTIR og NIR teknologi. Utvikling av skanningssystemer som kan brukes på merd-kanten og utvikling av metoder som raskt kan detektere og diagnostisere av hud og skjellkvalitet vil kunne bidra til å sikre god kvalitet hos oppdrettsfisk.

4.4 In vitro studier av hud

In vitro kulturer med skjell har vært publisert på zebrafisk (de Vrieze et al., 2011) og lignende kulturer har vært testet i pilotforsøk med suksess på laks (Ytteborg og Takle, upublisert). Rakers og kollegaer (2011) viste at ved å introdusere skjell fra regnbueørret i en kultur med celler fra hud, så vil begge vevene proliferere, differensiere og kommunisere. Dette er beskrevet som det første forsøket med «kunstig hud» fra fisk og starten på å lage 3D-kulturer for dette organet, noe som åpner for mulighetene for å utføre avanserte laboratorieforsøk på fiskehud. Karlson og kollegaer (2012) dyrket også epitelceller fra fisk i kultur og viste at de bevegelige keratocytene fra laks hadde tilsvarende *in vitro* egenskaper som kultiverte keratocytter fra andre fiskearter (Keren et al., 2008). Cellekulturer har mange fordeler i forhold til å arbeide *in vivo*, blant annet er det lettere å manipulere og studere på molekylærnivå. Fremtidige *in vitro* studier, både cellekulturer og organkulturer på hud og skjell vil kunne gi biologisk svar relatert til praktiske problem i oppdrettsnæringen i tillegg til å redusere antall forsøksdyr som brukes i akvakultursammenheng.

5 Effekt av oppdrettsmiljøet på hudkvalitet hos laksefisk

Oppdrettsmiljøet skal ikke påføre fisken unødig stress som svekker dens velferd og motstandskraft mot sykdom. En gjennomgang av litteraturen i dette kapittelet viser at faktorer som stresser fisken er negativt for hudkvaliteten. Forebyggende hudhelsearbeid handler derfor i stor grad om å optimalisere enkeltfaktorer slik at de ikke påfører fisken stress og dermed svekker hudkvaliteten. I rapporten "Fisk i forskning – miljøkrav og velferdsindikatorer hos fisk 2009" fra Norges forskningsråd ble det listet opp åtte prosedyrer/rutiner som er forbundet med stress hos fisk i oppdrettssituasjoner:

- Raske endringer i miljøforhold, f.eks. temperatur, salinitet, oksygen, trykk, osv.
- Dårlig vannkvalitet
- Sult
- Begrensning av bevegelse - for lite plass
- Sosialt stress - for mange individer på for liten plass eller feil strømforhold i karet
- Naturlig atferd umulig, f. eks. gyteklare hunner som ikke kan/får gyte
- Fisken føler seg truet - ingen skjul, trangt, predator like ved osv.
- Håndtering - i forbindelse med transport, medikamentell behandling og bedøvelse
- Annen menneskelig påvirkning

Sammen med huden og slimlaget fungerer skjellene som en fysisk barriere som beskytter fisken. Skader, skraper og småsår grunnet miljøet oppstår som regel av håndtering, skarpe kanter i kar og merder, og aggresjon som et resultat av blant annet høy tetthet. Skader på den ytre hudbarrieren kan øke mottageligheten for infeksjoner samt at det fører til ubalanse i osmoreguleringen. Fisk med skader og svekkelser kan også dø av bakterielle infeksjoner som har angrepet fisken via skader i huden (Rottmann et al., 1992). For en frittlevende fisk er det mulig å svømme bort fra eventuelt stressende komponenter, men for oppdrettsfisk er dette en umulighet. Langvarig kronisk stress kan være svært skadelig og redusere fiskens evne til vekst, reproduksjon og overlevelse (Barton & Iwama, 1991). I tillegg til den mekaniske belastningen er det en større påkjenning for hud og slimlag å bli eksponert for luft for eksempel i forbindelse med sortering og vaksinerings. I forsøkssammenheng forventer man større belastninger på hud, slimlag og skjellkledning på grunn av hyppigere håndtering og berøring enn det som er normalt i en oppdrettssituasjon. Det er derfor viktig at man reduserer faktorer som kan påføre oppdrettsfisk og forsøksfisk stress samtidig som det legges til rette for naturlig og god velferd. Å forstå effekten av oppdrettsmiljøet på laksens hudkvalitet i lukkede anlegg er spesielt viktig siden man kan drive aktiv miljøstyring av de fleste enkeltfaktorer i disse anleggene i motsetning til åpne merder i sjøen. Det viktigste tegnet på at det er mye å hente på optimalisering av miljøfaktorer i settefiskfasen er knyttet til de store sårproblemene smolten har i tiden rett etter sjøutsett. Størstedelen av fisk som dør på grunn av sår dør i løpet av de første månedene etter sjøutsett. Hudkvaliteten i senere livsstadier vet vi mindre om, men noen studier har vært inne på temaet i forbindelse med lakselus-påslag og moritella-infeksjoner, men god og grunnleggende

dokumentasjon for hudens betydning mangler. I de påfølgende avsnittene er faktorer som kan ha en effekt på hudens kvalitet diskutert. Der det er lite dokumentert informasjon er dette poengtert for å belyse kunnskapshull.

5.1 Temperatur

Det er utført få studier som viser hvilken effekt temperatur har på hudkvalitet. De få studiene som er publisert er i all hovedsak rettet mot temperaturbruk under smoltifiseringsprosessen. I forbindelse med smoltifiseringsprosessene brukes temperatur aktivt for å akselerere veksten før sjøutsett. Økning i temperatur under smoltifiseringen fører derimot også til en raskere desmoltifisering slik at smoltifiseringsvinduet kortes ned (Clarke et al., 1977; Clarke et al., 1978; Clarke et al., 1981; Donaldson & Brannon, 1975; Soivio et al., 1989; Soivio et al., 1988; Zaugg & McLain, 1976). Hos laks vil utvandringen fra elver normalt finne sted ved rundt 10 °C. To typer smoltifisering er i dag vanlig: kaldtvannssmoltifisering og varmtvannssmoltifisering. De største forskjellene finner man i kaldtvannsguppen, der det er størst sannsynlighet for at en større andel av fisken utvikles til taperfisk med høy risiko for sårdannelse. Dette antar man skjer fordi gruppen er mindre homogen enn varmtvannsguppen. Man antar at temperatur spiller en stor rolle i de biokjemiske prosessene som forandrer osmoreguleringen i huden, men den biologiske sammenhengen er ikke direkte studert hos laks. Hos flyndre har det vært vist at sesongvariasjoner påvirker mukusinnholdet i huden og at dette trolig skyldes forandringer i temperatur (Jung et al., 2012). I Jungs studie fant man også at antistoffer i mukus, hemagglutinin og proteaseaktivitet hang sammen med sesongvariasjonene. I ferskvannsfasen og under den tidlige utviklingen av laks vet man fra flere store forskningsprosjekter at økte temperaturer er svært skadelig for skjellettutvikling, og er den faktoren som oftest og raskest fører til skjellettdeformiteter (Baeverfjord et al., 1998; Wargelius et al., 2005; Ytteborg et al., 2010a). Det er derimot ikke undersøkt i hvilken grad kalsifisering og bendannelse i skjell, eller ben og bruskdannelse i finner påvirkes av økte temperaturer.

Fiskens metabolisme er avhengig av vanntemperatur, noe som får påfølgende konsekvenser i forbindelse med oral medikamentell behandling og lavere periodisk vekst. Det ble nylig publisert et studie på hvordan temperaturene 4, 10 og 16 °C påvirket hudkvaliteten hos postsmolt (Jensen et al., 2014). I dette studiet ble hudprøver fra de ulike temperaturene i frisk fisk sammenlignet, og forfatterne fant at tykkelsen på epidermis minket med økt temperatur, samtidig som det ble registrert en oppregulering av en rekke gener involvert i stressrespons. Den optimale temperaturen for oppdrett av postsmolt er satt til 14 °C (Handeland et al., 2008). Ved 16 °C reduseres vekstraten sammenlignet med 10 °C (Grini et al., 2011). Ved lave temperaturer derimot har det vist seg at fisken er mer mottagelig for sår og hudskader, blant annet er vintersår assosiert med *Moritella*-infeksjoner hos laks (Benediktsdottir et al., 1998; Løvoll et al., 2009) og røde merker (cold-water strawberry disease) hos ørret (Metselaar et al., 2010; Verner-Jeffreys et al., 2008). Huden til fisk oppdrettet ved 16 °C har et høyere innhold av protein og fett sammenlignet med fisk fra 4 og 10 °C (Jensen et al., 2014). Høyere proteininnhold sammenfalt med et høyere innhold av hydroxyprolin, noe som forfatterne selv konkluderte med at kunne bety økt kollagendeponering i huden ved høyere temperaturer (Sato et al., 1978). Temperatur vil trolig få en større betydning og mer fokus i fremtidige sjøanlegg. Industrien utvider sine områder, blant annet til å omfatte oppdrettsmiljøer stadig lengre nord, og dermed inkludere områder der laksefisk av ulike arter ikke har sine naturlige habitat. I tillegg har flere publikasjoner ytret sin bekymring for hvordan klimaforandringene, og da særlig den globale oppvarmingen, vil påvirke laksefisk (Dempson et al., 2001; Jonsson & Jonsson,

2009). De siste årene har Sør-Norge hatt unormalt høye sjøvannstemperaturer med temperaturer over 18 °C. Sjøvannstemperaturene øker også i andre land med lakseoppdrett, blant annet i Chile, Irland, Tasmania og USA (Hevrøy et al., 2012). Klimamodeller predikerer en gjennomsnittlig temperaturøkning på 0,5 – 3,5 °C på den Sørlege halvkule og 0,5 – 7,5 °C økning på den Nordlige halvkule i løpet av de neste 80 årene (Solomon et al., 2007). Det vil også være viktig å få mer kunnskap om temperaturens betydning for sårheling, og hvordan ulike temperaturer påvirker hudhelse og mikrobiell diversitet i lukkede anlegg.

5.2 Tetthet

Tetthet kan angis som kg fisk pr m³ vann, men dette er en omtrentlig og ikke alltid dekkende beskrivelse av hvordan fisken vil oppfatte sitt miljø. Dette avhenger av flere faktorer og samspillet mellom disse; blant annet fiskens alder og størrelse, vannets temperatur og salinitet, tilgjengelighet av fôr i tid og i rom. I store enheter vil fisken også danne stimer der det kan oppstå svært høye tettheter, mens resten av volumet blir dårligere utnyttet (Oppedal et al., 2011). Teoretisk kan tetthet påvirke fiskens levevilkår på to måter; via endret vannkvalitet eller via endret adferd. I merder i sjø er det stilt et krav om maksimal teoretisk tetthet på 25 kg fisk pr m³ vann. I settefiskanlegg er det vanlig med langt høyere tettheter.

Få dokumenterte studier eksisterer på hvilken effekt tetthet har på hudkvalitet. Men det er nevnt i «Frisk fisk» rapporten til Forskningsrådet fra 2009 hevdes det at økende tetthet vil gi økt risiko for stress situasjoner, uten at dette er dokumentert videre. Upubliserte resultat fra Nofima på sosiale nettverk hos laks viser at høy tetthet gir økt finneslitasje. Det også gjort flere interessante studier av hvordan ulik tetthet kombinert med variasjon i fôringsregime kan gi ulike utslag på adferd, vekst og finneskader (Jones et al., 2010; Jones et al., 2012). En svakhet med disse studiene er at de er gjort i svært små grupper, og hvordan slike sosiale nettverk fungerer i store fiskegrupper har vi lite kunnskap om. Et par studier har vært publisert der enzymatiske reaksjoner i forbindelse med stress hos laks er publisert. Disse viste økt protease-, lysozym-, alkalisk fosfatase- og katepsinaktivitet etter langtids eller høy stresspåkjenning, men ikke ved lave stressnivåer (Easy & Ross, 2010; Ross et al., 2000). Stress i disse forsøkene ble påført ved å utsette fisken for luft eller lus, men de viser hvordan stress påvirker biokjemiske prosesser i huden. I prosjektet «Optimal postsmolt produksjon» (NFR prosjekt: 217502/E40) viser foreløpig upubliserte resultater at ved tettheter på 100 kg/m³ eller høyere har postsmolt økt mucin-produksjon i huden (Takle og kollegaer upublisert). I tillegg økte genaktiviteten til ulike kladiner, gener som lager proteiner for å holde cellen sterkere sammen, når tettheten ble holdt på over 100 kg/m³ over lengre tid. Katepsiner og MMPer økte også, noe som tyder på økt proteaseaktivitet og remodulering i huden. Erfaringer fra dette forsøket tilsier at man bør holde tettheten i lukkede smoltanlegg på under 100 kg/m³ for ikke å få dårlig hudkvalitet. Det er for tiden et stort Norges Forskningsråd prosjekt (SalmoFutura, prosjekt nummer: 233870 / E40) der blant annet påvirkningene tetthet har på hudkvalitet skal studeres mer i detalj. Prosjektet og videre forskning på dette området vil ha betydning for anbefalinger og regulering av fremtidig oppdrett både i ferskvannsfasen og i sjø, særlig i forbindelse med innføring av postsmolt produksjon i RAS eller lukkede sjøanlegg.

5.3 Vannforbruk

Det er få publiserte studier med fokus på vannforbruk i forbindelse med hudkvalitet. Vannforbruk vil kunne påvirke fiskens miljø via endringer i vannkvalitet og via mulige endringer strømningsbilde og dermed mulige endringer i svømmeadferd. I et prosjekt utført av Fiskeriforskning på 2000-tallet fant man at lavt spesifikt vannforbruk, høy tetthet og brakkvann (20 ‰) førte til tynnere epitel-lag, færre slimceller og påfølgende redusert slimproduksjon hos smolt (Toften upublisert). Nylig ble det også utført et forsøk der man så på effekt av spesifikt vannforbruk hos postsmolt over en periode på 8 uker (Takle og kollegaer upublisert). Forsøket ble utført med en fisketetthet på 75 kg/m³ og følgende spesifikt vannforbruk: 0,2; 0,3; 0,4 og 0,5 l/kg/min. Fisken i forsøket vokste godt og det var ingen synlige hud lesjoner ved avslutning av forsøket. Derimot ved å kombinere histologiske undersøkelser med genekspressions-studier ble det funnet klare negative effekter av for lavt spesifikt vannforbruk på hudkvaliteten. Forsøket viste at det ble produsert mer slim når det spesifikke vannforbruket var 0,3 l/kg/min eller lavere. I tillegg fant man en oppregulering av genmarkører for stressrespons og sårheling, samt en signifikant oppregulering av lysozym. Basert på disse resultatene anbefales det et spesifikt vannforbruk på minst 0,4 l/kg/min ved produksjon av postsmolt ved tettheter rundt 75 kg/m³.

5.4 Salinitet

Laks i sjøvann vil hele tiden tape vann til omgivelsene sine, spesielt via gjellene som er svært permeable for vann og salter. Laksen står i fare for å tørke ut; for å erstatte væsketapet må laksen konstant drikke sjøvann. Sjøvannet inneholder store mengder løste stoffer som fisken må kvitte seg med hovedsakelig over gjellene som er besatt med spesialiserte celler som ved aktiv transport skiller ut overskudd av ioner. Denne transporten er energikrevende og spesielt utfordrende for fisken ved lave sjøtemperaturer. Hud spiller også en stor rolle i denne prosessen. Det er derfor flere studier som går på selve osmoreguleringen, men få studier er utført der fokus er hudkvalitet. Brakkvann (20 ‰) ble funnet å påvirke huden til smoltifiserende laks ved at det ble produsert mindre slim og forskerne spekulerer i at dette kan skape en god inngangsport for bakterier og gjøre smoltifiseringen til en svært sårbar periode (Toften et al. upublisert). Sammenlignet med pre-smolt som ble oppdrettet i rent ferskvann i smoltifiseringsperioden, hadde fisken som fikk 20 ‰ sjøvannsinnblanding tre til fire ganger høyere dødelighet i en smittetest med vintersårbakterien *Moritella viscosa*. Denne bakterien kan infisere og lage sår og hindrer keratocytene i å lege såret (Karlsen et al., 2012). Kombinert med økt intensitet, dvs. lavere spesifikt vannforbruk, økte mottakeligheten for vintersårbakterien både i sjøvann- og ferskvannsfasen. Toften og kolleger fant også nedsatt appetitt og vekst, økt innslag av finneskader, færre slimceller i huden og endringer i mukos og en rekke blodverdier i de mest intensive sjøvannsgruppene. Dette kan ha bidratt til den økte mottageligheten for vintersår i disse gruppene (Segner et al., 2012).

I et nylig avsluttet prosjekt (Optimal postsmolt produksjon; NFR: 217502/E40) ble postsmolt eksponert for saliniteter på henholdsvis 12, 22, og 32 ‰ fra 70 gram til avslutning ved 800g i et forsøk gjennomført i resirkuleringsanlegget til Nofima på Sunndalsøra. Dette studiet viste at postsmolt holdt ved 32 ‰ salt hadde en signifikant dårligere overlevelse (71 %) enn postsmolt holdt ved 12 og 22 ‰ salt (henholdsvis 99 og 97 % overlevelse). Histologiske hudanalyser viste at cellemorfologien var dårligere hos postsmolt holdt 32 ‰ enn hos fisk holdt ved lavere salinitet og dette var spesielt knyttet til at epitelcellene på overflaten av huden ikke satt like tett i sammen som ved lavere salinitet (Ytrestøyl og kollegaer upublisert). Den negative effekten av økt salinitet på

postsmolt i resirkuleringsanlegg ble underbygget ved at stressmarkøren iNOS var signifikant oppregulert på gentranskripsjonsnivå både ved 22 og 32 ‰ salt sammenliknet med postsmolt holdt ved 12 ‰ salt.

Salinitetsstudiene med smolt og postsmolt gir en sterk indikasjon på at hudkvaliteten blir negativt påvirket av høy salinitet. Konsekvensene for smolt som blir satt på sjø for tidlig eller sent i forhold til når den er i «smoltvinduet» vil ha betydelige negative følger for dens evne til å opprettholde ionebalanse og unngå for stor uttørking av huden. Det kan spekuleres i at uttørking og redusert slimproduksjon og dårligere barrierefunksjon kan være en viktig årsak til sårproblematikk de første månedene i sjø. Inntak av sjøvann i settefisk og postsmolt produksjon vil også endre vannets mikrobielle flora, og de bakteriene som er isolert i forbindelse med det vi kaller vintersår er avhengige av høy salinitet (se kap. 6).

5.5 Strømhastighet

Strømhastighet i oppdrettskar og merder har betydning for helsen til laksefisk siden det påvirker fiskens aktivitetsnivå. Treningsforsøk har vist at økt aktivitetsnivå i ferskvannsfasen gir smolt med bedre hjertekapasitet og økt sykdomsmotstand (Castro et al., 2011; Castro et al., 2013). Effekten av strømhastighet på hudkvalitet er derimot uviss. I et ferskvannsforsøk i RAS ble det funnet at smolt holdt ved relativt høy strømhastighet som stimulerte til en estimert svømmeaktivitet på ca. 1,5 kroppslengde i sekundet fra ca. 30 grams størrelse og frem til sjøutsett hadde skade i epidermis og økt mucin produksjon sammenliknet med smolt holdt ved en lav svømmehastighet (Takle og kollegaer upublisert). *Moritella viscosa* badsmitte resulterte i signifikant dødelighet hos smolten som hadde vært eksponert for høy strømhastighet. Dette tyder på at stor strømhastighet kan ha negativ effekt på laksens hudkvalitet og barrierefunksjon mot patogene mikrober. Det kan tenkes at stor strømhastighet kan føre til at mukus lettere blir vasket av huden til fisken, samtidig vil økt strømhastighet medføre at fôrpelletene og andre partikler i vannet treffer fisken i større hastighet noe som muligens kan gi mindre skader i epidermis. Sammenhengen mellom strømhastighet og hudhelse er svært relevant med tanke på smolt som blir satt ut på svært strømmsterke lokaliteter og i lukka anlegg hvor strømhastigheten vil være høy for å få tilstrekkelig vannutskifting. Det er også viktig å finne ut hvordan strømhastighet påvirker fisken i samspill med andre miljøfaktorer og ved ulike livsstadier.

5.6 Tungmetaller

Det har ikke vært et stort fokus på hvordan tungmetaller påvirker hudkvalitet hos laksefisk, men anadrom laksefisk er spesielt utsatt for forurensninger fordi smoltstadiet er svært ømfintlig for osmoregulatoriske forstyrrelser. Eksponering til f. eks. surt vann, aluminium, kobber, sink, kadmium og kvikksølv og ulike pesticider vil føre til inhibering av Na-K-ATPasene i gjellene, tap av sjøvannstoleranse og/eller forsinket smoltifisering (Folmar et al., 1982; Lorz & McPerson, 1976 ; Staurnes et al., 1989) Smolt er dessuten generelt mer utsatt for stress enn fisk på tidligere eller senere stadier fordi den fysiologiske stressresponsen er sterkere under smoltifiseringsprosessen (Barton et al., 1985; Schreck, 1982; Wendt & Saunders, 1973). I oppdrettssammenheng vil derfor dårlige oppdrettsbetingelser forsinke og forringe smoltifiseringen og forårsake dårligere immunitet. Hvordan dette påvirker hudkvaliteten i tidligere og/eller senere stadier i fiskens utvikling er lite studert. I et studium ble stillehavslaks (Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*) utsatt for bly (Pb)

og/eller kadmium (Cd) i vannet (150 ppb) (Varanasi & Markey, 1978). Man fant at denne fisken hadde økte konsentrasjoner av både bly og kadmium i skjellene, med mer bly enn kadmium. I tillegg førte både bly og kadmium til økt mukusproduksjon. I mukusen som ble skilt ut fant man også store mengder av begge tungmetallene. Hvilke konsekvenser dette hadde videre var ikke i fokus for studiet, men det viser at tungmetallene frigjøres i mukus, noe som først og fremst betyr at mukus blir påvirket, men det indikerer også at mukus kan brukes som en indikator på tilstedeværelse av tungmetaller i vannet.

5.7 Lysstyring

Hormonendringene i fisken som fører til de karakteristiske forandringene i adferd, utseende, vekst, metabolisme og vann- og saltbalanseregulering under smoltifiseringen er underlagt endogene rytmer, som døgn- (cirkadiske), års- (cirkannuale) og måne/tidevannsrytmer (lunare) (Farner, 1985; Gwinner, 1986). Hos laksefisk, og spesielt laksefisk i oppdrettssammenheng, er det generelt års-syklusene i daglengde, fotoperioden, som er den aller viktigste. Den fotoperiodiske synkroniseringen skjer ved formidling av informasjon om lysnivå fra perifere fotosensitive strukturer (netthinnen i øyet og pinealorganet/epifysen) til hjernens hypothalamus gjennom mørkestimulert/ lysinhibert frigivelse av hormonet melatonin. Disse induserer via hypofysen de fysiologiske reaksjonene på lysforandringen (Ball, 1981; Underwood & Goldman, 1987). Basis for målingene av daglengden i forbindelse med smoltifisering hos laksefisk er trolig en endogen døgnrytme for fotosensitivitet (Duston & Bromage, 1986; Thorarensen & Clarke, 1989). Ved å manipulere fotoperioden, f.eks. ved å eksponere parr for forsinket, akselerert eller forskjøvet fotoperiode om vinteren/våren kan tidspunktet for smoltifisering påvirkes hos oppdrettsfisk. Ved slike manipuleringer er en periode med korte dager, «vinterperioden», før daglengden øker nødvendig for å få en synkronisering av de ulike prosessene.

Andre cirkadiske rytmer er også undersøkt, der månefasene ser ut til å ha en betydning på hormonet tyroksin i plasma hos Stillehavslaksen; hormonet øker ved fullmåne (Grau et al., 1981 ; Grau et al., 1985; Grau et al., 1982; Nishioka et al., 1985; Okumoto et al., 1989.; Yamauchi et al., 1985; Yamauchi et al., 1984). Tilsvarende har ikke vært vist hos laks. Hos de aller fleste organismer har lysstyrke og intensitet en betydning for hudkvalitet og biokjemisk sammensetning, men i hvilken grad dette er tilfelle hos laks er ikke videre undersøkt. Man vet derimot fra feltstudier at laks kan bli solbrent. Dette kan være et problem i elver dersom det er lite vann i elvene og fisken ikke får gått dypt nok for å skjule seg for solen. Solskader kan sees som hvite partier i fiskehuden, og områder med totalt manglende hud kan etter hvert oppstå som følge av fysisk slitasje av solbrente felt. Er områdene store kan de medføre død. Øynene på fisken kan også få solskader.

5.8 Sulting

Korttids-sulting av fisk er mye brukt i akvakulturnæringen i forbindelse med transport, sykdomsutbrudd og før utslakting. Dette blir brukt fordi fisk med full mage og tarm vil føre til mye faeces og dårlig vannkvalitet, og fordi det er en utbredt oppfatning at sulting øker fisken evne til å håndtere stress. Til tross for det har vi lite konkret kunnskap om hvilke positive og negative effekter sulting har på fisken, og hvilke kriterier vi skal stille for å bestemme standarder for minimumstid og maksimumstid for sulting av fisk ved ulike aldre/størrelser og temperaturer.

Sulting har stor betydning for en organisme og under perioder med lite eller begrenset tilgang på mat vil vitale organer prioriteres. Sulting har vist seg å kunne forandre hud, skjell og mukuslag hos fisk, men i hvilken grad sulting påvirker mukusproduksjon og generell hudstatus er ikke undersøkt vitenskapelig hos laksefisk. Liu og kollegaer (2013) viste at hos Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) vil sulting forårsake forandringer i immunstatusen til hudens mukuslag. Vieira et al (2011) fant at en uke med sulting hadde store påvirkninger på hudens status hos sea bream, og inkluderte forandringer i helings-prosesser og skjellregenerering. Studier av hudens metabolisme har påvist store transkripsjonelle forandringer under perioder med begrenset tilgang til mat (Liu et al., 2013; Vieira et al., 2011). Under sulting har det vært vist at energinivåene opprettholdes over et begrenset tidsrom ved at fisken omorganiserer energireserver (Navarro & Gutiérrez, 1995; Polakof et al., 2006; Sangiao-Alvarellos et al., 2005; Sheridan & Mommsen, 1991). Dette kan man se på histologiske preparater av hud, der tykkelsen på fettlagene minker etter hvert som sulting pågår. Man vet også at skjell er viktige reserver for fisken når det gjelder mineraler. Under sulting blir det brukt av disse lagene, noe som kan svekke skjellenes styrke over tid. Om det i tillegg er spesifikke komponenter som er avgjørende for opprettholdelse av hudens integritet ved sulting er heller ikke analysert. Effektene av sulting er bedre studert i tarm. Det er vist en mukusreduksjon på 20-50 % hos laks allerede etter to dager med sulting (Krogdahl & Bakke-McKellep, 2005) og etter syv dager er det vist forandringer i bakteriesamfunnet i tarmens mukuslag (Landeira-Dabarca et al., 2013).

5.9 Transport og håndtering

Trenging, håving, pumping og transport av laksefisk kan forårsake alvorlige fysiologiske stressresponser, både i form av håndteringspåvirkning og ved at fisken utsettes for brå endringer i sine fysiske omgivelser (Barton & Iwama, 1991; Barton et al., 1980; Specker & Schreck, 1980). Primære og sekundære fysiologiske stressresponser som skjer under påvirkning av ulike påkjenninger fører blant annet til en økning i plasmakortisol-konsentrasjonen som ser ut til igjen å initiere en kaskade av hendelser som medfører dårligere sykdomsmotstand (Maule et al., 1989), sjøvanntoleranse (Redding & Schreck, 1983) og gjenfangst (Specker & Schreck, 1980). De fysiologiske stressreaksjonene innebærer videre skjelltap og kan medføre høy dødelighet.

Økningen i nivået av plasma kortisol gir mulighet til å skille mellom grad av stress av de ulike behandlingene (Barton & Iwama, 1991). NINA viste i en rapport (Finstad & Iversen, 1996) at håving fra oppbevaringskar til transporttank medfører en kraftig økning i plasma kortisol uten en videre økning etter transport. Disse resultatene samsvarer med andre undersøkelser hvor det ble vist at håving og behandling før transport var de mest traumatiske hendelsene for fisk, mens transporten i seg selv kun medførte moderat stress (Robertson et al., 1987; Specker & Schreck, 1980). Selv 48 timer etter transport hadde fiskens plasmakortisol nivå ikke returnert til hvilenivå. Hos kongelaks (*Oncorhynchus tshawytscha*) parr fant man at plasma kortisol nådde en topp etter 3,5 timer etter håving for deretter å returnere til normalverdier ca. 12 timer etter transport (Robertson et al., 1987). Andre forsøk har vist lengere eller kortere restitusjonstid (Carmichael, 1984). I tillegg til økningen i plasmakortisol-konsentrasjonen skjer det også store endringer i osmoregulatorisk evne etter transport. Under alvorlig stress har man tidligere vist at fisk får osmoregulatoriske problemer i både fersk- og sjøvann (Eddy, 1981 ; Redding & Schreck, 1983).

Under smoltifiseringsprosessen sitter skjellene løsere fast i huden (Hoar, 1976; Iversen & Eliassen, 2011) og fisken er derfor spesielt sårbar for uaktsom håndtering i forbindelse med transport og sjøutsett. Både håving og transport har vært vist å forårsake store skjelltap hos laksefisk (Espmark et

al., 2012). Pumpesystemer som benyttes i forbindelse med frakt av fisk, overføring fra merd til brønnbåt, håndtering ved vaksinerings, avlusing osv. kan medføre store hud- og finneskader hos fisken. Skjellskadet smolt tåler dårlig overgangen til sjøvann. Skjellavskrapning under transport til utsettingsstedet er vanlig. Bouck & Smith (1979) viste eksperimentelt at fisk som hadde 10 % skjellavskrapning på kroppen hadde 50 % dødelighet innen en periode på 10 dager. Når fisken settes ut i elv tar det ikke mer enn 5 dager før den er restituert igjen, men smolt med skjellavskrapning satt ut nær elvemunningen vil sky saltvann og dermed bli lengre i estuariet enn normalt (Bouck & Smith, 1979; Rosseland et al., 1982; Wedemeyer et al., 1980). Skånsom behandling av fisken i anlegg og ved transport er derfor særdeles viktig for et godt resultat av smoltutsett.

5.10 Luseangrep og avlusningsmetoder

Lus beiter på hud og slim noe som kan gi store skinnskader. Forskjeller i immunrespons hos ulike salmonide arter er trolig en medvirkende årsak til at noen arter er mer utsatt for luseangrep enn andre. Stillehavslaksen er sett på som den mest resistente arten, mens atlantehavslaks er mer mottakelig for luseangrep. Det er vist flere vertsspesifikke forskjeller i immunrespons hos stillehavslaks og atlantehavslaks som produksjon av interleukiner, t-cellerrespons, enzymaktivitet og antall og størrelsen på mukusceller (Braden et al., 2015; Fast et al., 2002; Sutherland et al., 2014).

Den siste tiden har det blitt stadig mer fokus på muligheten for å skade fisk ved behandling mot lakselus. Både fordi det kan bli mange behandlinger per lokalitet og fordi metodene og legemidlene som brukes kan ha skadelig effekt på fiskens hud. Her gjøres det en del testing av metoder (Randi Grøntvedt, pers.med.), men feltet er stort og det er behov for mye kunnskap.

5.11 Andre vannkvalitetsparametere

Vannkvalitet kan trolig påvirke fiskens hudhelse gjennom flere faktorer. I lukkede eller lukkede anlegg er det særlig viktig å ha kontroll med faktorer som pH, gassbalanse, innhold av nitrogenforbindelser og partikkelinnhold. Det er mange studier av disse faktorene og hvilken betydning de har for overlevelse og vekst, men vi behøver mer kunnskap om hvordan disse faktorene påvirker fiskens hud.

6 Effekt av fôr på hudkvalitet hos laksefisk

Huden hos fisk er et levende vev som inneholder de samme næringsstoffene som resten av fisken. Sammensetningen av næringsstoff som aminosyrer, proteiner, fettsyrer, karbohydrat, mineraler og vitaminer har trolig en stor betydning for hudens struktur, immunkompetanse og motstandsevne mot mikrober og parasitter. Det begynner å komme dokumentasjon på at ytre faktorer som for eksempel temperatur endrer sammensetningen av næringsstoff i huden hos fisk (Jensen et al., 2014). Kunnskap om samspillseffekter mellom ernæring og miljø vil derfor være av avgjørende betydning for å kunne komponere fôr som er optimaliserte for ulike livsstadier og produksjonsmiljø. Primærmålet er å tilby fisken en ernærings sammensetning som best mulig ivaretar hudens rolle som semi-permeabel barriere mot omgivelsene og som førstelinjeforsvar mot patogener. I den senere tid er det også fokus på funksjonelle ingredienser som kan redusere de økte problemene med vintersår og lakselus hos laks.

6.1 Helsefôr og funksjonelle ingredienser

Det finnes flere helsefôr på markedet der ulike komponenter er tilsatt, f.eks. immunostimulanter (IS) og andre funksjonelle ingredienser som kan styrke laksens immunrespons. Ved å styrke laksens immunrespons kan man blant annet oppnå en reduksjon i påslag av og vekst av lus. En styrket immunrespons har også effekt mot nye angrep av lus etter behandling. Macrogard er et høyraffinert β -1,3/1,6 glukane fra gjær som har en kjent immunostimulerende effekt (Robertsen et al., 1990). Fisk fôret med helsefôr tilsatt makrogard og solsikke har vist redusert påslag av lus og mindre sårdannelse (Refstie, 2009). Schmidt og kollegaer (2013) fant at β -glukaner fra Macrogard ikke hadde noen innvirkning på sårheling i ørret, men at det stimulerte sårheling hos karpe. Nukleotider er nødvendige byggesteiner for nukleinsyrene RNA og DNA og må være tilstede i alle former for celledeling og som templat for proteinsyntesen. Nukleotider renses fra gjærsopp etter en spesiell industriell teknologi har i en bestemt sammensetning vist seg å redusere infeksjon med virus og bakterier og også påslag av lus (Burrells et al., 2001a; Burrells et al., 2001b). Denne reduksjonen var også tydelig ved nye påslag av lus etter badebehandling (Burrells et al., 2001b; Wadsworth & Lygren, 2009). MOS er et gjærprodukt som har vist å påvirke mikroflora og slimlag i tarm (Ravnøy et al., 2009; Wallace et al., 2009). Fisk fôret med helsefôr tilsatt MOS har vist forbedret tarmfunksjon og bedre opptak av emamektin, og påslag av lus har vært noe redusert. Dietter har mye å si for stimulering av gener, og oppregulering av interleukin 1B (IL1B) har den senere tid blitt ansett som positivt blant annet på grunn av at det stimulerer mucin produksjon (Lindenstrøm et al., 2006; Poley et al., 2013). Styrking av mukusproduksjonen kan trolig oppnås ved å tilføre essensielle komponenter nødvendige for mucin produksjon, og det finnes i dag kommersielle fôr som benytter blant annet høy inklusjon av mannan-oligosakkarid i kombinasjon med vitamin C for å oppnå dette.

6.2 Fettsyrer, proteiner og karbohydrater

Sensitiviteten til mukuslaget under ulike forandringer i næringsgrunnlaget har vært lite studert, men interessen er økende (Landeira-Dabarca et al., 2013; Liu et al., 2013; Vieira et al., 2011). RNA sekvensering av hud under sulteperioder har vist at gener involvert i fettmetabolisme blir påvirket, for eksempel apolipoproteiner som er involvert i transport av lipider, og FABPs, fettbindende proteiner. Begge genfamiliene tar del i hudens strukturelle kvalitet, mukusproduksjon og immunreaksjoner. Liu og kollegaer (2013) fant også at gener involvert i proteinmetabolisme var

påvirket, bl.a. PePT1. En stabil og balansert proteinmetabolisme er en forutsetning for god vevskvalitet og for sårheling og regenerering. Forandringer i cellesyklus er også en følge av redusert matinntak og kan medføre forstyrrelser i modning og utvikling av celler, samt forstyrre mukusproduksjonen (Liu et al., 2013). Under sulting har det vært vist at energinivåene kan opprettholdes over et begrenset tidsrom ved å mobilisere energireserver som f.eks. lipider og glykogen og ved å redusere bruken av glukose (Navarro & Gutiérrez, 1995; Polakof et al., 2006; Sangiao-Alvarellos et al., 2005; Sheridan & Mommsen, 1991). Essensielle fettsyrer og aminosyrer er svært interessante siden disse kan utgjøre en begrensende faktor for optimal funksjonalitet i huden. Et eksempel er EPA og DHA som blant annet har en positiv effekt på bendannelse (Lall & Lewis-McCrea, 2007; Ytteborg et al., 2009), og derfor trolig på skjelldannelse, uten at dette har vært studert. Mukusproduksjon innebærer stort forbruk av aminosyrer og det kan tenkes at økt tilsetning av essensielle aminosyrer som inngår i mucin-proteinene vil ha en gunstig effekt på fiskens evne til å produsere mukus. Tilsvarende er aminosyrer som tryptofan og arginin viktige bestanddeler i antimikrobielle peptid. Karbohydrater er trolig viktige i forbindelse med funksjonaliteten til mucin-proteiner, som er svært glykosylerte glykoproteiner, og i forbindelse med blant annet glykosylerte lektiner som er viktige substanser i immunforsvaret til fisk. Per i dag har vi svært begrenset kunnskap om karbohydratstrukturen til glykosylerte proteiner hos fisk og i hvilken grad deres sammensetning og funksjonalitet kan endres gjennom fôret.

6.3 Mineraler og vitaminer

Ulike mineraler har betydning i større eller mindre grad på hudkvaliteten. Overskudd av jern (Fe) i fôr er for eksempel forbundet med vintersår (Salte et al., 1994). Det er i midlertidig ikke utført noen videre studier på dosering av jern og patologisk utvikling. Skader og sår på huden til fisken forekommer ofte i intensive oppdrettsanlegg. Sink er nødvendig for normal sårheling, men også ekstra tilskudd av sink kan ha en positiv effekt på sårheling. Sink er for eksempel viktig for enzymaktivitet i forbindelse med produksjon av kollagen og alkalisk fosfatase (ALP). Sink inngår dermed i prosesser som mineralisering og feste av skjell, og har stor betydning for skjellenes styrke og kvalitet. Sink inngår også i produksjon av kalcitonin, et hormon som hemmer nedbrytning av mineraliserte strukturer. Økt inntak av karbohydrater, jern og selen har vist å gi økt mukusproduksjon i tarmen til pattedyr, mens for lite magnesium i dietten kan gi økt mukusproduksjon i lungene. Andre næringsstoffer som for eksempel kalsium og vitamin D, har vist seg å ha stor betydning for mucin-produksjonen (Paz et al., 2003; Schmidt & Mangelsdorf, 2008), noe som betyr at mukusproduksjonen kan forandres dersom dietten forandres, særlig med tanke på mineralinnhold i diettene. Det er også kjent at skjellene til fisken vil bli brukt som mineralkilde dersom mineralinnholdet i fôret er lavt (Persson et al., 1998; Persson et al., 1997). Det kan tenkes at mineralmangel vil ha en direkte effekt på vintersår ved å redusere skjellstyrken og dermed gjøre huden mer sårbart for infiltrasjon av bakterier. Vitamin C er en viktig faktor i kollagendannelse og muligens kan tilskudd bidra til at skjellene sitter fastere bundet i huden slik at risikoen for skjelltap er mindre i forbindelse med transport og håndtering.

7 Sårproblematikk og infeksjose mikrober

7.1 Innledning

Flere infeksjose sykdommer hos oppdrettsfisk kan gi hudforandringer som en del av sykdomsutviklingen. Dette gjelder særlig vintersår, men også bakterieinfeksjoner som f.eks. vibriose med *Vibrio anguillarum* og typisk og atypisk furunkulose forårsaket av *Aeromonas salmonicida* kan gi sår som en del av sykdomsbildet. Ved vintersår er det utvikling av hudsår som dominerer det kliniske og patologiske bildet. I siste halvdel av 1980-tallet ble det etter hvert et problem at laks i oppdrett utviklet sår i vintermånedene, såkalte «vintersår». Ved bakteriologisk undersøkelse av slike sår, var det særlig to typer bakterier som dominerte (Lunder, 1992). Disse ble beskrevet som to nye bakteriearter og gitt navnene *Vibrio viscosus* (Lunder et al., 2000), senere omdøpt til *M. viscosa* (Benediktsdóttir et al., 2000), og *Vibrio wodanis*, senere omdøpt til *Aliivibrio wodanis* (Urbanczyk et al., 2007). Smitte- og vaksinasjonsforsøk viste at kun *M. viscosa* av de to påviste bakteriene forårsaket sykdom og det er denne bakterien som brukes i vaksine. Multivaksiner med *M. viscosa*-komponent gir allikevel ikke full beskyttelse mot vintersår. Det viser seg at det også er en tredje type bakterier som er involvert i utviklingen av vintersår, *Tenacibaculum*, observert ved histopatologi allerede på slutten av 1980-tallet, men som har vært vanskelig å dyrke (Olsen et al., 2011). Det er vist at det er et samspill mellom *M. viscosa* og *A. wodanis* der *A. wodanis* demper alvorlighetsgraden i sykdomsutviklingen (Karlsen et al., 2014b). Vintersår kan forekomme med et akutt bilde, men ofte er forløpet under naturlige utbrudd mer kronisk og laks kan gå i ukesvis med sår uten at de dør. Hudsår forårsaket av *Aeromonas salmonicida* forebygges effektivt med vaksine som har vært i bruk i 20 år. Kunnskapen om hudsår forårsaket av bakterier, spesielt hos laks, har økt de siste årene. Det ser ut til å være et mer komplekst samspill mellom bakterier enn opprinnelig antatt og det er viktig å vite mer om dette for å kunne forebygge vintersår effektivt hos oppdrettsfisk.

7.2 Historisk oversikt

Vintersår ble først registrert hos oppdrettsfisk i Norge på 1980-tallet. Sykdommen ble beskrevet som et problem hos laks, men også til en viss grad hos regnbueørret (Lunder, 1992), en situasjon som fortsatt gjelder. I de senere år er både sår og sårbakterier tidvis identifisert hos andre fiskearter som er introdusert som nye oppdrettsarter. Sår hos oppdrettsfisk er betraktet som et alvorlig problem, selv om det er en viss grad av beskyttelse fra vaksiner som i praksis benyttes til all oppdrettsfisk i dag. På tross av dette er det anslått at 10 til 20 % av all oppdrettslaks i Norge blir borte fra sjøsetting til slaktning (FHF-900779, 2013) og at sårisk utgjør den viktigste delen av dette tapet (Aunsmo et al., 2008). Som alle infeksjose sykdommer er vintersår et resultat av spillet mellom verten, infeksjose agens og miljøet (som også i dette tilfellet dekker produksjonsrelaterte faktorer). Selv om vintersår til dels kan skyldes eller forverres av fysiske skader ved for eksempel håndtering, er det vist at visse bakteriearter under kontrollerte forhold kan gi sårutvikling. De etterfølgende avsnittene omtaler bakteriearter som det eksisterer sterke indikasjoner/bevis for at har en rolle i utvikling av vintersår, av klassiske eller mindre klassiske utbruddstyper det vil si *Moritella viscosa* og *Tenacibaculum* spp. Selv om Koch's postulater (bevis for å være direkte årsak til sykdom) gjentatte ganger ikke har blitt oppfylt for *Aliivibrio wodanis* i smitteforsøk, er denne bakterien også omtalt og har trolig en rolle i sår-dannelsen. Bakterien har blitt isolert over mange år fra fisk med vintersår, samtidig med *Moritella viscosa*, men også ofte i tilsynelatende renkultur.

Det skal nevnes at en rekke bakterielle fiskepatogener produserer hudsår som en del av patogenesen. Dette gjelder blant annet atypisk og typisk furunkulose forårsaket av *Aeromonas salmonicida*, vibriose forårsaket av *Vibrio anguillarum*, bakteriell nyresjuka (BKD) forårsaket av *Renibacterium salmoninarum*, granulomer forårsaket av mykobakterier og i tillegg bør nevnes piscirickettsiose forårsaket av *Piscirickettsia salmonis*. Flere av disse infeksjonene er enten under kontroll med dagens vaksiner eller forekommer så sjeldent i Norge at de er utelatt fra den videre gjennomgangen knyttet til infeksjøs hudsår hos oppdrettslaks.

7.3 Taksonomi og nomenklatur

I forbindelse med en større patologisk og bakteriologisk undersøkelse omkring vintersår i Norge i 1988-1991 (Lunder, 1992) ble to bakterietyper identifisert. En gruppe av svært homogene norske isolater ble etter hvert kalt *Vibrio viscosus*, mens en gruppe mindre homogene stammer fikk navnet *Vibrio wodanis* (Lunder et al., 2000). Samtidig ble det publisert en studie av de samme to bakterietypene som plasserte *Vibrio viscosus* i et nyopprettet genus *Moritella* under navnet *Moritella viscosa* (Benediktsdóttir et al., 2000). Den aller første beskrivelsen av *Moritella viscosa* fra laks med sår er fra Skottland (Cox et al., 1986) og bakterien ble den gang kalt '*Aeromonas* sp.' (Birkbeck et al., 2000). I 2007 ble *Vibrio wodanis* sammen med den nært beslektede og fiskepatogene *Vibrio salmonicida* flyttet til et nyopprettet genus *Aliivibrio* som *A. wodanis* (Urbanczyk et al., 2007).

7.4 *Moritella viscosa*

7.4.1 Diversitet, vertsspekter og -spesifisitet

Moritella er et bakteriegenus i slekt med andre sjøvannsbakterier som *Shewanella*, *Pseudoalteromonas* og *Alteromonas*, og består av bare 7 beskrevne arter, *M. marina*, *M. abyssi*, *M. dasanensis*, *M. japonica*, *M. profunda*, *M. yayanosii* og *M. viscosa*, de fleste isolert fra dypvann. Bakterien har et forholdsvis stort genom (Colquhoun, upublisert) med en gen-sammensetning som tillater allsidig overlevelse i det marine miljø. *M. viscosa* er eneste art i genuset som er beskrevet som sykdomsfremkallende. Koch's postulater relatert til vintersår ble oppfylt for *M. viscosa* i atlantisk laks (Bruno et al., 1998; Lunder et al., 1995b) og i fra regnbueørret (Karlsen et al., 2014a). Bakterien er også blitt isolert fra rødspette (Lunder et al., 2000), torsk (Colquhoun et al. 2004), rognkjeks (Benediktsdóttir et al., 2000), kveite (Johansen, red) 2013) og leppefisk (Colquhoun upublisert) uten at isoleringene kunne settes i sammenheng med utbredt sykdom i de affiserte populasjoner. Den sykdomsfremkallende evnen har blitt testet i torsk, kveite (Gudmundsdóttir et al., 2006) og piggvar (Bjornsdóttir et al., 2004). Bakterien er beskrevet som virulent etter innsprøyting i bukhulen eller muskulatur, men i og med at dette er unaturlige smitteveier er det vanskelig å trekke konklusjoner angående den naturlige virulensen.

M. viscosa ble opprinnelig beskrevet som en homogen art (Lunder et al., 2000) ut ifra en studie basert utelukkende på norske stammer. Bakterien har også blitt identifisert i forbindelse med sårisk på Island (Benediktsdóttir et al., 1998), Færøyene (upublisert), Skottland (Bruno et al., 1998) og Canada (Whitman et al., 2001). En studie publisert samtidig som Lunder og kollegaer (2000) påviste genetiske og fenotypiske forskjeller mellom isolater fra Norge og Island (Benediktsdóttir et al., 2000). Det ble foreslått at forskjellen mellom stammer av ulikt geografisk opphav kunne forklares nettopp på grunn av geografi. Senere, publiserte Grove og kollegaer i 2010 en genetisk og fenotypisk

sammenligning av *M. viscosa* stammer av forskjellig geografisk opprinnelse (Norge, Island, Færøyene, og Skottland) og fra forskjellige fiskearter (laks, regnbueørret, rognkjeks og torsk). Forfatterne avdekket to genotypiske klynger som evolusjonsmessig står ganske langt fra hverandre. En genotype, som viste svært lav diversitet, utelukkende forbundet med sykdom i laks i Norge, Skottland og på Færøyene ble betegnet som «typisk». Den andre genetiske klyngen, som viste en vesentlig grad av diversitet, ble betegnet som «atypisk». Den atypiske gruppen var isolert fra både laks, regnbueørret og rognkjeks på Island men hovedsakelig fra regnbueørret og torsk i Norge. Bare unntaksvis blir atypiske isolater dyrket fra laks med vintersår i Norge. Siden både Benediktsdottir og kollegaer (2000), Lunder og kollegaer (2000) og Grove og kollegaer (2010) studerte flere felles stammer kan det konkluderes med at den genotypiske grupperingen identifisert av Benediktsdottir og kollegaer (2000) ikke kan forklares basert på geografi alene, men virker avhengig av både geografi og vertsspesifisitet til minst en genotype pr. fiskeart (dvs. typisk *M. viscosa* og atlantisk laks). Dette ble senere bekreftet i en studie (Karlsen et al., 2014a) som sammenlignet dødelighet i laks og regnbueørret smittet med typisk og atypisk *M. viscosa* og vice versa. Høy mortalitet ble kun påvist i laks smittet med typisk *M. viscosa*. En ennå upublisert studie (Sørngaard et al.) nylig utført ved Veterinærinstituttet har brukt MLVA analyse (multi-locus variable number of tandem repeat analysis) for å studere 106 *M. viscosa* isolater fra forskjellige verter, geografiske opprinnelser og isoleringstidspunkter. Resultatene støtter tidligere studier, men gir et enda tydeligere bilde av populasjonsstrukturen blant kliniske *M. viscosa* isolater. Analysen bekrefter at den tidligere omtalte “typiske” gruppe utgjør et nært beslektet og klonalt kompleks som viser høy spesifisitet for laks og som inkluderer det vi har grunn til å tro er de isolater som er brukt i vaksineproduksjon. Den mer diverse “atypiske” gruppen består av tre genetiske linjer eller greiner hvorpå det finnes tydelige indikasjoner på forekomst av 3 forskjellige klonale komplekser, ett som viser en noe divers vertsspesifisitet, ett som viser vertsspesifisitet for regnbueørret, og ett som viser vertsspesifisitet for laks. Sistnevnte kompleks består, interessant nok, av stammer isolert utelukkende fra laks fra Rogaland i sør til Troms i nord, med tidligste isolering i 2003. Det kan spekuleres i om framveksten og spredningen av dette klonale *M. viscosa* - kompleks delvis kan være forårsaket eller indirekte framprovosert av den brede vaksinerings mot *M. viscosa* i det homogene lakse-spesifikke fylogenetiske komplekset.

7.4.2 Antigenisk diversitet

Lipo-oligosakkarider (LOS) og ca. 17-19 eller 20-22 kDa (avhengig av type elektroforese) yttermembran-antigener som de dominerende antigentyper er beskrevet fra en samling av 13 *M. viscosa* fra forskjellige fiskearter og geografisk opprinnelse (Heidarsdottir et al., 2008). Disse inkluderte både stammer senere identifisert som typisk og atypisk (Grove et al., 2011). Størrelsen av yttermembran-antigenet varierte mellom stammene, også innad blant noen av de fire serogrupper/typer identifisert med polyklonale kanin-antisera. Resultatene antyder at det eksisterer en langt høyere grad av antigenisk diversitet enn det som kunne påvises med de 4 antisera som ble benyttet. De samme forfatterne fant at hovedantigentypene fungerte som immunantigener i fisk og relaterte denne antigenisitet til beskyttelsesnivå og konkluderte med at disse antigener representerer de viktigste beskyttende antigener i *M. viscosa*. Det beskyttende hovedantigenet hos *M. viscosa* ble senere karakterisert som yttermembranproteinet MvOmp1 og har homologi til *E. coli* OmpA og *Neisseria* protein A (Björnsson et al., 2011). Det ble også identifisert variasjon i DNA sekvensen for genet for antigenet i *M. viscosa* isolater av forskjellige serotyper/fenotyper. Variasjoner som dette medfører i proteinet er foreslått som årsaken til antigenene variasjoner mellom isolater av *M. viscosa* og en av grunnene til at det forekommer mangelfull beskyttelse av vaksinert

fisk selv om det er en kryssbeskyttelse mellom isolater fra Island og Norge (Greger & Goodrich, 1999). *M. viscosa* induserer interleukin 1 β (IL-1 β) som er viktig i kaskaden av immun- og inflammatoriske responser der den regulerer andre cytokiner og makrofagaktivering, og IL-8 som trigger nøytrofile til å trekkes til infeksjons eller skadestedet (Bjornsdottir et al., 2009a). *M. viscosa* induserer IL-1 β i cellelinjer, men i laks skjer ikke denne responsen før etter 7 dager (Løvoll et al., 2009) og kan indikere at *M. viscosa* nyttiggjør seg av mekanismer som hindrer trigging av vertens immunsystem. Varmeinaktivert *M. viscosa* eller ekstracellulære produkter trigger ikke IL-1 β , dette er i motsetning til IL-8 som blir det (Bjornsdottir et al., 2009a). Den sekreerte faktoren som stimulerer IL-1 β og IL-8 er ukjent. Kommersiell vaksiner mot *M. viscosa* beregnet på laks har videre mangelfull eller ingen indusering av antistoffrespons eller beskyttelse mot *M. viscosa* hos andre fiskearter som piggvar selv om en anti-*M. viscosa* antistoff respons kan måles i smittet fisk (Bjornsdottir et al., 2004).

7.4.3 Virulensegenskaper

Som kjent må en bakterie som forårsaker systemisk sykdom både tilhefte seg og invadere verten og multiplisere før den kan forårsake sykdom. Det finnes en forholdsvis beskjeden mengde litteratur rettet mot virulensegenskapene hos *M. viscosa*. Tunsjø og kollegaer (2009) demonstrerte, men identifiserte ikke mekanismen bak temperaturavhengig tilhefting av *M. viscosa* til lakseceller. Karlson og kollegaer (2012) konkluderte med at sårutvikling sannsynligvis er et resultat av den direkte koloniseringen av hudoverflaten og at dette skjer parallelt med invasjon via gjellene som beskrevet av Løvoll og kollegaer (2009). *M. viscosa* har nylig blitt beskrevet som en produsent av den vanligste og mest studerte sialinsyre (N-acetylneuraminic syre; Neu5Ac) som er kjent i naturen (Berg et al., 2015). Molekylet er funnet både på overflaten av celler hos mange vertebrate verter og som del av LPS eller kapsulære polysakkarider på overflaten av bakterier. Patogene bakterier bruker disse molekylerne som kamuflasje mot vertens immunforsvar. Det er foreløpig ikke kjent om molekylet brukes i denne sammenheng av *M. viscosa*. Strukturen til 'O-antigen-delen' av LPS tilhørende *M. viscosa* er beskrevet (Hoffman et al., 2012), men ikke studert i sykdomssammenheng.

Flere stammer av *M. viscosa* er blitt hel-genom sekvensert, men ikke alle sekvensene er ennå offentlig tilgjengelige. Den komplette genomsekvensen til *M. viscosa* 06/09/139 er tilgjengelig på NCBI GenBank (accession nr. LN554852). Det finnes flere publiseringer som er basert på draft genomer. Det er klart at detaljerte bioinformatiske studier av disse sekvensene vil kunne belyse mulige virulensdeterminanter/-prosesser i *M. viscosa*. Bjornsdottir og kollegaer (2009b) karakteriserte en ekstracellulær peptidase (Mvp1) til å være en 38 kDa metallopeptidase produsert i sen eksponensiell vekstfase. Denne viste høy sekvenslikhet med vibriolysiner kjent fra *Pseudoalteromonas* arter, og hadde aktivitet over et bredt temperaturspekter. Proteinet viste evne til å degradere kasein, gelatin og kollagen, degraderte delvis IgM, men var anhemolytisk. Ren MvP1 var ikke sterkt toksisk for *in vitro* cellelinjer og forårsaket ikke dødelighet i laks etter intramuskulær eller intraperitoneal injeksjon, men ga betydelig nekrose og blødninger ved injeksjonsstedet (Bjornsdottir et al., 2009b). Injeksjon med hel-ECP ga dødelighet. Forfatterne spekulerer i at MvP1 bidrar til virulens via dets vevsødeleggende egenskaper. Virulensrelaterte egenskaper knyttet til de ekstracellulære produktene fra 22 *M. viscosa* isolater *in vitro* (cellekultur) og *in vivo* intraperitonealt injisert laks er også studert (Bjornsdottir et al., 2011). Tre lav-virulente isolater produserte ekstracellulære produkter (ECP) som ikke drepte laks etter intraperitoneal injeksjon i motsetning til de høyvirulente isolatene, noe som indikerer en rolle for deler av ECP i virulens. Det kunne da ikke påvises en direkte sammenheng mellom letalitet i laks og cytotoxisk eller hemolytisk produksjon. Isolater fra laks produserte mindre hemolytisk og cytotoxisk effekt enn isolater fra andre fiskearter,

resultater som er forenlig med den økte hemolysen som ble observert blant «atypiske» *M. viscosa* isolater av Grove og kollegaer (2010). Alle isolater produserte esteraser, en metallopeptidase og sideroforer, men variasjon i produksjon av disse forskjellige faktorer kunne heller ikke forklare forskjeller i virulens. Bjornsdottir og kollegaer (2011) konkluderte med at ECP fra virulente isolater inneholder en så langt ikke identifisert letal faktor som kunne reflektere vertstilpasning fra bakteriens side.

Både laboratorieforsøk og smittestudier har vist at *M. viscosa* uttrykker en lang rekke virulensfaktorer inkludert en rekke hemolysiner og vevsnedbrytende enzymer. Sekvestrering av jern er en viktig egenskap for patogene bakterier. I *M. viscosa* er det et omvendt forhold mellom temperatur og produksjon av siderofor det vil si høyere produksjon ved lavere temperatur (Mikkelsen & Colquhoun, 2006). Dette kan bety at *M. viscosa* har en økt evne til å ta jern fra laksen i kaldt vann.

Genomsekvensering har gjort det mulig å få en oversikt over genene for virulensfaktorene. Genomsekvenser viser at *M. viscosa* har et bredt utvalg av gener for potensielle virulensfaktorer (Tabell 1). Sammenlignet med andre patogene bakterier har *M. viscosa* et rikt utvalg virulensfaktorer som potensielt kan brukes i vintersår-patogenesen. Et type-VI-sekresjonssystem etter studiet av genomsekvensen ble identifisert i *M. viscosa* NVI 06/09/139 (Björnsson et al., 2011). Slike systemer er kjent både fra patogene og ikke-patogen bakterier. Karlsen og kollegaer (2014a) brukte draftgenomet til *M. viscosa* NCIMB 13584T som basis for en sammenligning av tilstedeværelse av putative gener for virulenshomologer i diverse *M. viscosa* isolater fra begge hovedgenotyper identifisert av Grove og kollegaer (2010). Fra 34 *M. viscosa* isolater ble det påvist (mulig virulensrelaterte) sekvenser som indikerer bred tilstedeværelse av blant annet Type-IV-sekresjonssystemer, bakterioferritiner, fosfolipaser, aerolysin, lektiner, invasiner og cytotoksisk nekrotiserende faktor. Genene for et mulig insektsdrepende toksinkompleks, *mitABC*, ble identifisert kun i isolater tilhørende den «typiske» genotypen funnet hos laks. Gener som koder for det såkalte insekticid-komplekset har homologi med tilsvarende gener hos blant annet bakterien *Photobacterium luminescens*. Toksin-komplekset antas å bryte ned aktin hos vertscellene ved at den etablerer en transportkanal som så translokerer toksinkomponenten gjennom cellemembranen og inn til aktin-skjelettet i vertscellene. Trolig er det den samme effekten det «insektsdrepende» toksin-komplekset som potensielt *M. viscosa* produserer gjør med fiskeceller i kultur (Tunsjø et al., 2009). Det er også påvist ved hjelp av transmisjonselektronmikroskopi at både typiske og atypiske isolater produserte adhesjons- og motilitetsstrukturer som pili og flageller på overflaten (Karlsen et al., 2014a).

Tabell 1 Putative virulensfaktorer i *M. viscosa* (modifisert fra Karlsen og kollegaer 2014a).

<i>M. viscosa</i> NCIMB 13584 ^T	Homologi til karakteriserte sekvenser i andre arter*		
Putativt gen	% identitet / likhet	Bakterie med homolog lokus	Funksjonalitet
Bakterioferritin A, <i>bfrA</i>	60/72	<i>Pseudomonas putida</i>	Opprettholder jernbalansen og beskytter mot oksidativt stress
Bakterioferritin B, <i>bfrB</i>	56/74		
Cytotoksisk nekrotiserende faktor, <i>cnf</i>	61/78	<i>Escherichia coli</i>	Endrer aktinfilamenter i eukaryote celler
Aerolysin, <i>aer</i>	30/48	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Poredannende toksin
Hemagglutinin, <i>hemG</i>	50/65	<i>Myxococcus xanthus</i>	Lektin som agglutinerer erythrocytter
Invasin, <i>inv</i>	34/51	<i>Escherichia coli</i>	Adhesjon
Phosfolipase D, <i>pld</i>	52/68	<i>Yersinia pestis</i>	Nødvendig for <i>Y. pestis</i> sin overlevelse og infeksjon
Multifuksjonelt toksin, <i>martxA</i>	71/83	<i>Vibrio vulnificus</i>	Multifuksjonelt toksin
T6SS VasG chaperon, <i>clpV</i>	100/100	<i>Moritella viscosa</i>	Type 6 sekresjon er viktig for virulensen til flere bakterier
T6SS Hemolysin kco-regulerende protein, <i>hcp</i>	100/100	<i>Moritella viscosa</i>	
Insekticidtoksin-komponent A, <i>mitA</i>	48/64	<i>Photobacterium luminescens</i>	Inseksrelatert toksinkompleks med cytotoksisk aktivitet mot mammalske celler
komponent B, <i>mitB</i>	39/43		
komponent C, <i>mitC</i>	46/62		
Type IV prepilin, <i>tapA</i>	33/69	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Adhesjon og invasjon
Fimbriprotein, <i>pilA</i>	35/54	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Fimbriprotein, <i>fimA</i>	32/47	<i>Dichelobacter nodosus</i>	
Flagellin A, <i>flaA</i>	45/63	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Motilitet og virulens
Flagellin B, <i>flaB</i>	45/63		
Flagellin C, <i>flaC</i>	44/65		
Flagellin G, <i>flaG</i>	24/55		
Lateral flagellin, <i>lafA</i>	42/55		

*for ID/accession nr. til sekvensene og referanser se Karlsen og kollegaer 2014a

M. viscosa har så langt vist seg umulig å transformere eller konjugere med eksternt DNA. Det har gjort at det ennå ikke har vært mulig å konstruere knock-out mutasjoner i *M. viscosa*. Slike studier er nyttige for å studere effekten av hver enkelt virulensfaktor. Det er ønskelig å etablere slik teknologi tross manglende suksess så langt.

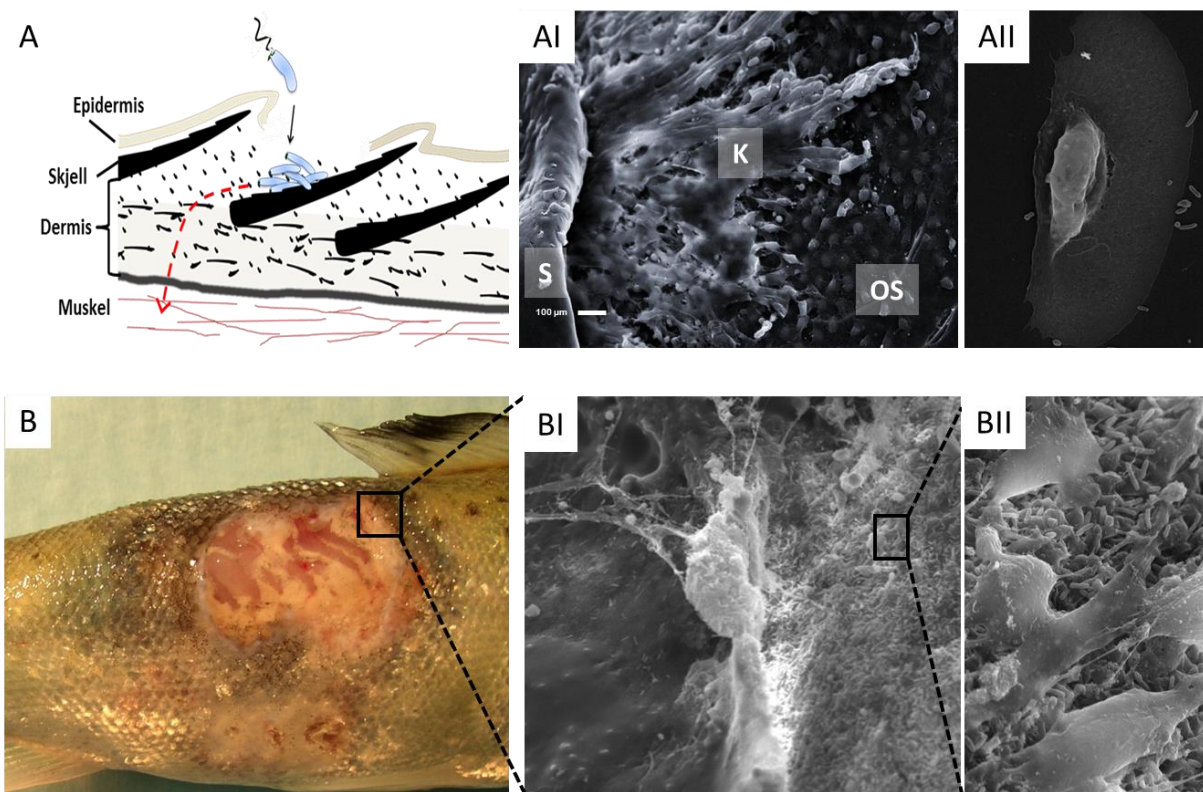
7.4.4 Smitteforsøk i cellelinjer og i fisk

Cellekulturstudier der en har smittet fiskecellelinjer med både hele celler av *M. viscosa* og supernatant fra flytende kultur viser at *M. viscosa* skiller ut ekstracellulære produkter som har en degraderende effekt på aktinskjelettet i eukaryote fiskeceller (Tunsjø et al., 2009). Lysis av cellene skjer svært fort og skjer fra 4 -22 °C, i temperaturintervallet som har blitt testet. Dette viser at toksinproduksjonen eller aktiviteten opprettholdes utover temperaturer som vanligvis utbrudd av vintersår observeres ved. *M. viscosa* invaderer ikke celler, men adherer eller fester seg til celler bedre ved 4 °C sammenlignet med høyere temperaturer. Dette kan favorisere *M. viscosa* infeksjoner ved lave sjøvannstemperaturer.

Typiske vintersår-utbrudd har en tendens til å ha en langvarig karakter med relativt lav daglig dødelighet. Smitte med *M. viscosa* under kontrollerte forhold gir en langt mer dramatisk utvikling med høy dødelighet. Ved å justere smittedosen ned betydelig og ved å heve temperaturen kan

imidlertid dødeligheten holdes på et lavere nivå under smitteforsøk. Smitteforsøk der fiskens ytre utsettes for lokalisert kontaktsmitte har vist at *M. viscosa* kan smitte direkte fra vannet gjennom huden å lage sår lokalt (Karlsen et al., 2012). I tillegg ser bakterien ut til å smitte via gjellene (Løvoll et al., 2009) og kunne lage sår i huden etter å ha vært transportert via blodåresystemet (Karlsen et al., 2012).

Smitte med *M. viscosa* på hudoverflaten hos laks viser en tydelig hemning av keratocyttenes evne til å fagocyttere *M. viscosa*-celler. Noe som kan skyldes den viskøse naturen til *M. viscosa*. Denne effekten skapes ikke av smitte med *A. wodanis* eller *Aliivibrio salmonicida* (Karlsen et al., 2012). *Vibrio anguillarum* har en lignende effekt på keratocytterne hos regnbueørret (Lindell et al., 2012). Keratocytter fagocytterer partikulært materiale som blir liggende på huden, inklusiv uorganisk materiale som mineralpartikler og organisk materiale som bakterieceller. Når cellene er fulle av slikt «søppel» sprekker de eller slipper taket slik at «forurensningen» havner i vannmassene. Keratocytterne kan med ekstrem rask mobilitet lukke overflatesår i huden med et nytt beskyttende celledag innen timer etter skadeforløp i påvente av en full reparasjonsprosess som tar lenger tid. Re-epitelialisering av slike overflatesår hos laks tar lengre tid ved lave temperaturer. Overflatesår utsatt for *M. viscosa* eksponering lukkes heller ikke av keratocytterne. Dette kan indikere at skarifiserte overflater på fisken gjør den mere utsatt for kolonisering av *M. viscosa* og dermed mer mottakelig for infeksjon ved lave temperaturer (figur 3).



Figur 3 Skjelltap eller overflatesår fører til at førstelinjeforsvaret mot f.eks. bakterier svekkes. Dette gjør at bakterier lettere kan kolonisere overflaten på fisken og fisken blir mer mottakelig for en infeksjon (A). Hos fisk re-epiteliseres det ytterste hudlaget svært raskt. Keratocytter kommer fra dypere hudlag ved behov og migrerer over eksponerte overflater for beskyttelse mot miljøet og må regnes som en viktig del av det uspesifikke immunforsvaret hos fisk. AI) er et scanning-elektronmikroskopibilde som viser keratocytter (K) som kommer opp og dekker til et overflatesår (OS) forårsaket av skjelltap. Til venstre i bilde vises tuppen av framliggende skjell (S). AII) er et scanning-elektronmikroskopibilde av en enkeltcelle av disse keratocyttene. I front har den en lamellipod som løfter opp partikler og bakterier fra overflaten slik at når cellen beveger seg tas dette opp i cellen. I figur B har smoltens immunsystem ikke kunnet hindre utvikling av sår etter smitte med *M. viscosa*. Et åpent sår under slike forhold er kolonisert av *M. viscosa*. BI) viser et scanning-elektronmikroskopibilde med sårkant i midten av bilde der høyresiden er eksponert vev (sår) som er kolonisert av *M. viscosa*. BII) viser en høyere forstørrelse der bakteriene tydelig kan observeres i såret og det som trolig er keratocytter fra epidermis. Figuren er modifisert fra Karlsen og kollegaer 2012.

7.4.5 Diagnostiske kriterier

M. viscosa er en Gram-negativ marin bakterie som har behov for ekstra saltinnhold i dyrkingsmedia. Selv om *M. viscosa* kan vokse på medietyper som ikke inneholder blod, for eksempel marineagar, er det lettere å gjenkjenne typisk kolonifarge, morfologi og hemolysemønster på blodagar tilsatt 1,5 % NaCl. Ved 2 dagers inkubasjon i 12-15 °C vokser bakterien med runde, lavt konvekse, glinsende, grå kolonier med diameter på ca 2-3 mm. En betahemolytisk sone av noe variabel størrelse kan observeres. Den mest gjenkjennelige egenskapen hos *M. viscosa* er koloniviskositeten. Ved å løfte materiale fra koloniene med podenål følger «tråder» av bakteriell vekst med. Ved dyrking fra sår forekommer bakterien ofte i blandingskultur og kan da være noe vanskeligere å påvise. Identiteten til *M. viscosa* bekreftes ved en serie av fenotypiske undersøkelser som inkluderer Gram-farging,

motilitet, oksydaseproduksjon, gelatinaseproduksjon, evne til å produsere syre fra glukose under anaerobe forhold og evne til å produsere syre fra en rekke sukkerarter under aerobe forhold (Lunder et al. 2000). Bakteriene karakteriseres også på bakgrunn av sin evne til å forbruke aminosyrene arginin, lysin og ornithin (ALO-test).

M. viscosa som art kan deles i to genetisk forskjellige varianter (Grove et al. 2010) som i utgangspunktet ikke er så lette å skille fenotypisk. En genotype er i all hovedsak patogen for laks, mens den andre genotypen er hovedsakelig isolert fra regnbueørret og marine fiskearter.

7.5 *Tenacibaculum* spp.

7.5.1 Diversitet, vertsspekter og -spesifisitet

Bakterieslekten *Tenacibaculum* tilhører familien *Flavobacteriaceae*, hvor vi finner ferskvannarten *Flavobacterium psychrophilum*, omtalt et annet sted i denne rapporten. *Tenacibaculum*-artene er knyttet til det marine miljø. Det er beskrevet 21 arter av *Tenacibaculum* og mange av disse er kommet til de siste årene. Bakteriene ble tidligere kalt for *Flexibacter*. Bakteriene blir påvist verden over og er isolert fra både organiske miljø som fiskehud, maneter, reker, makroalger og svamp og uorganiske substrater som sedimenter. Flere arter er også påvist i vann. *Tenacibaculum* «rydder opp» i sjømiljøet ved at de har evnen til å dekomponere organisk materiale. De degraderer store karbonmolekyler som for eksempel cellulose og kitin.

Den mest kjente av *Tenacibaculum*-artene som er patogen for fisk er *T. maritimum*. Bakteriene gir stor dødelighet og medfører store tap for flere marine oppdrettsarter verden over. Fisken får sår og ulcerasjoner i huden. *T. maritimum* kan også gi systemisk sykdom, spesielt hos yngel/ung fisk. Andre arter isolert fra sår hos marine fiskearter i oppdrett er *T. gallaicum* (piggvar, *Psetta maxima*), *T. soleae* (flere typer flatfisk) og *T. dicentrarchi* (havabbor, *Dicentrarchus labrax*). Betydningen av disse er usikker. Fra Norge er tidligere beskrevet *T. ovolyticum* som patogen for kveiteegg og larver (Hansen et al., 1992).

Det har de siste årene blitt mer og mer oppmerksomhet omkring bakterieslekten *Tenacibaculum* i forbindelse med utvikling av sår hos fisk i oppdrett i sjø i Norge. Slike bakterier har imidlertid vært observert i sår ved histopatologisk undersøkelse (mikroskopi av preparert vev) hos laks og regnbueørret i oppdrett i Norge allerede på slutten av 1980-tallet (Olsen et al., 2011). I en undersøkelse av fisk med vintersår fra 1995-6 ble slike bakterier påvist i sår hos fisk i alle de 18 undersøkte anleggene og i 70 % av sårene. I 2004-5 ble det gjort sekvensielle uttak i to anlegg med vintersår og denne gangen ble *Tenacibaculum* påvist i 62,5 % av sårene (Olsen et al., 2011). Forekomsten av disse bakteriene i vintersårproblematikken i Norge har antakelig vært undervurdert fordi bakteriene ikke er lette å dyrke. I de samme studiene ble *Tenacibaculum* isolert i henholdsvis 3 % og 36 % av de undersøkte sårene ved dyrking på marineagar. Under norske forhold er ikke infeksjoner med *Tenacibaculum* hos laks og regnbueørret systemiske. Bakteriene blir bare sjeldent isolert fra nyre.

Det ser ut til å være en viss variasjon innen *Tenacibaculum*-bakteriene som blir isolert fra sår under norske forhold. I en studie der 18 norske *Tenacibaculum*-isolater ble undersøkt genetisk og sammenlignet med *Tenacibaculum maritimum* og 18 andre *Tenacibaculum*-arter i en såkalt multilokus sekvensanalyse (MLSA), grupperte de norske stammene seg sammen med eller nært

Tenacibaculum dicentrarchi (Habib et al., 2014), som er beskrevet fra havabbor i Spania. I en begrenset genetisk studie av et større utvalg av norske stammer er det prelimenært antydnet at bakteriene deler seg i tre til fire grupper og at en del av isolatene, særlig fra leppefisk, antakelig er en *T. dicentrarchi*-variant og at de andre er nært beslektet (Olsen, 2013).

Sår hos oppdrettslaksen i sjøen manifesterer seg som ulcerasjoner i hoderegionen og på kroppssider. Også finner kan være inndratt og da spesielt halefinner. I en undersøkelse fra midten av 90-tallet hadde 70 % av sårfisken bare ett sår. For 13 % av fisken ble det observert munnråte. Det kan se ut til at dette bildet endret seg rundt 2010. På denne tiden ble det mer oppmerksomhet rundt sårproblemer i de nordlige oppdrettsområdene og forekomsten av munnråte ble trolig mer vanlig. Det er kanskje særlig ved munn-/kjeveulcerasjoner at *Tenacibaculum*-bakterier har vært eneste eller dominerende bakteriefunn, men de kan også være massivt til stede i sår på kroppssidene og på finner.

Det er usikkert i hvilken grad *Tenacibaculum*-bakteriene som blir isolert fra sår hos fisken er primærpatogener, det vil si at de har egenskaper som gjør at de for eksempel kan trenge gjennom intakt hud. Det er grunn til å tro at mange av *Tenacibaculum*-bakteriene som blir isolert fra sår, er til stede etter at fiskens hud først er skadet av annen årsak. Suboptimal smoltifisering medfører at skjell sitter «løse» og slik fisk har ofte «rist-tap» som ikke trenger å være særlig synlig med det blotte øyet. Fiskens skjell er dekket av et epitellag. Det betyr at tap av skjell fører til en åpning i huden slik at underliggende vev blir eksponert. Fisken kan også være påført hudskade av andre årsaker for eksempel ved håndtering, skader fra nota osv. Hvis dette skjer ved lave sjøtemperaturer, vil både fiskens immunapparat og sårhelingssevne være nedsatt og bakterier i sjømiljøet vil lettere «få tak».

Åpning inn til underliggende vev kan også være forårsaket av andre sårbakterier. *Tenacibaculum* blir ofte påvist sammen med både *M. viscosa* og *A. wodanis*. At *Tenacibaculum* kan invadere massivt i sår som allerede er etablert pga. infeksjon med *M. viscosa* er observert ved laboratorieundersøkelser av feltmateriale ved Veterinærinstituttet siden slutten av 1980-tallet, og er også reprodusert under eksperimentelle forhold (Olsen et al., 2011). Det er imidlertid også vist at badesmitte med en type av disse bakteriene kan gi hudsår uten at man har laget rifter i huden på forhånd. Fisken utviklet også skade i hornhinna i øyet (Olsen et al., 2011). Både underhud og hornhinna hos fisken inneholder mye collagen, som det ser ut til at bakteriene har høy affinitet til.

7.5.2 Virulensegenskaper

Det er gjort noe arbeid på *T. maritimum* for å avdekke hvilke egenskaper denne bakterien har for å kunne framkalle sykdom, men det er fortsatt store kunnskapshull. Det er angitt at bakterien har evne til adhesjon på fiskehud både ved hjelp av uspesifikke og mer spesifikke mekanismer og at dette varierer med vekstforhold og tilgang på næring. En har også funnet at *T. maritimum* har evne til å motstå den bakteriedrepende effekten av mukus, i hvert fall når det gjelder noen fiskearter. *T. maritimum* har evne til å agglutinere røde blodlegemer, som også kan være en virulensegenskap. En har funnet at ekstracellulærprodukter (ECP) hos *T. maritimum* har høy proteolytisk aktivitet og det er vist cytotoxisk aktivitet i forskjellige cellelinjer. Ellers har man påvist jernopptaksmekanismer, slik at bakterien kan konkurrere med vertens jernbindende proteiner og dermed sikre tilgangen på jern. *T. maritimums* evne til å danne biofilm på fiskevev regnes også som del av patogenesen ved slike infeksjoner (Avendaño-Herrera et al., 2006).

En kjenner ikke til eventuelle virulensegenskaper hos norske stammer av *Tenacibaculum* spp. isolert fra sår. Analyse av den globale populasjonsstrukturen for *T. maritimum* tilsier at dette er bakterier som finnes i det marine miljø og gir lokale epidemier når forholdene ligger til rette for det. Det vil si at det ikke er en bakterieart eller spesielt patogene varianter som har blitt spredt verden rundt ved handel og transport av fisk. Dette er også støttet av at den samme varianten av *T. maritimum* ikke har spesialisert seg på å infisere én fiskeart, men gjerne infiserer forskjellige fiskearter i det samme geografiske området. Dette samsvarer med at man erfaringsmessig observerer at det er miljøforhold og fiskens helse som er av størst betydning for sykdomsutbrudd med denne bakterien. Det er grunn til å tro at dette også gjelder for de norske *T. dicentrarchi*-lignende bakteriene. De viktigste tiltak under norske forhold for å ta kontroll over disse infeksjonene må derfor være å avdekke predisponerende risikofaktorer og å unngå disse.

7.5.3 Diagnostiske kriterier

Tenacibaculum er en bakterieslekt som består av lange, trådformete, Gram-negative stavbakterier. Bakteriene vokser ikke under anaerobe forhold. For dyrking har de behov for salter i dyrkingsmedia som etterligner sjøvann, samtidig som mediet må være næringsfattig. Et vanlig medium brukt til dyrking av *Tenacibaculum* spp. er marineagar (Olsen et al., 2011). Ved direkte fasekontrastmikroskopi av skrap fra såroverflaten kan man ofte se typiske *Tenacibaculum*-lignende celler. De fleste *Tenacibaculum* spp. vokser på marineagar, men ikke på blodagar med ekstra salt. Bakteriene kan best dyrkes fra kanten av sårområder og blir bare unntaksvis isolert fra nyre. Inkubasjonstemperatur er 15-22 °C og bakteriene vokser med gule kolonier. Gulfargen er noe stammeavhengig. Ved fasekontrastmikroskopi av typiske kolonier kan det observeres lange, trådformete celler. Bakteriene er naturlig resistente mot oxolinsyre. Siden mange varianter av *Tenacibaculum* eksisterer i miljøet og i tillegg er veldig lite reaktive under biokjemisk testing, må man som regel sekvensere 16S genen til å bekrefte identiteten. Om man finner vekst av gule kolonier på marineagar, men ikke på blodagar med ekstra salt og typisk cellemorfologi, kan man være rimelig sikker på at det dreier seg om *Tenacibaculum*. Bakteriene vokser oftest i blandingsflora. Mengden bakterier som vokser ved dyrking representerer ofte ikke mengden bakterier i såret. Derfor vil en histopatologisk undersøkelse av sår i tillegg til dyrking kunne gi et mer fullstendig bilde av forekomst og betydning.

7.6 *Aliivibrio wodanis*

Bakterien *Aliivibrio wodanis* har vært isolert fra laks med vintersår sammen med *M. viscosa* eller alene siden midt på 1980-tallet (Lunder, 1992). *A. wodanis* kan forekomme både fra sår og nyre hos fisk med vintersår. I en studie der laks med vintersår fra åtte oppdrettsanlegg i Norge ble studert hadde laks med vintersår vekst av *A. wodanis* alene fra nyrene (34 %), mens bare 13 % av laks med vintersår hadde vekst av kun *M. viscosa* fra nyre (Lunder et al. 1995). Begge bakteriene ble funnet sammen fra nyrene hos 28 % av laks med vintersår. Fra sårene var fordelingen mellom veksten av de to bakteriene annerledes der det ble vist at begge bakteriene ble isolert samtidig i flertallet av syk laks (59 %), mens *M. viscosa* ble funnet alene fra kun 7 % av sårene. *A. wodanis* ble derimot funnet alene fra 33 % av sårene. I Bay of Fundy, New Brunswick, Canada har *A. wodanis* vært isolert som den eneste bakterien fra nyre hos laks med vintersår (Whitman et al., 2001). Bakterien ble podet intramuskulært på laks uten å gi sykdom (Lunder et al., 1995a). På Island har *A. wodanis* vært brukt alene i vaksiner for å beskytte mot vintersår. Da effekten ikke var tilfredsstillende ble *M. viscosa* inkludert i vaksinen og beskyttelsen mot vintersår ble forbedret. Etter få år ble *A. wodanis* tatt ut av

vaksinen uten at det tilsynelatende reduserte beskyttelsen (R. Thorarinsson, pers. med.). Det ser ikke ut til at *A. wodanis* har vært brukt i kommersielle vaksiner etter dette. *A. wodanis* har vært antatt til ikke å fremkalle sykdom men isoleres som et tilfeldig funn.

Imidlertid har studier de siste årene vist at *A. wodanis* kan hemme vekst og virulens hos *M. viscosa* slik at symptomene blir mer langvarige i en smittemodell. Når *A. wodanis* fikk mulighet til å kolonisere fisken noen timer før *M. viscosa* ble den hemmende effekten forsterket (Karlsen et al., 2014b). Dette samsvarer med observasjoner av naturlige utbrudd av vintersår i felt der laks kan gå i ukevis med sår med forekomst av både *M. viscosa* og *A. wodanis* uten at de dør og ved økning i vanntemperaturen om våren kan sårene avhele og de syke individene restituere med tilhørende dannelse av arrvev. I den samme studien ble det for første gang vist at *A. wodanis* i badsmitte alene kan gi en lav mortalitet som opptrer senere i forsøket enn mortaliteten *M. viscosa* forårsaker. Mortaliteten var under fem prosent totalt og de døde laksesmolt viste finneråte med karakteristiske nedsenkede nekrotiske forandringer spesielt rundt ryggfinner (Karlsen et al., 2014b) Av gjenlevende fisk ved terminering av studien hadde > 20 % utviklet skader eller sår på finner og finnebasen (finneråte) som alle var kolonisert av *A. wodanis*.

A. wodanis gir cytopatogen effekt i fiskecellelinjer, men ikke så kraftig som *M. viscosa* (Karlsen et al., 2014b). Den cytopatogene effekten kommer fra sekrede produkter som blant annet skader cytoskjelettet ved nedbrytning av aktinfilamenter. Cellekulturmodeller viser også at *A. wodanis* kan feste seg til, men ikke infisere cellene. Tilsammen indikerer disse observasjonene at *A. wodanis* utskiller toksiner til det ekstracellulære miljøet.

7.6.1 Diagnostiske kriterier

A. wodanis er en Gram-negativ bevegelig stavbakterie som hører til *Vibrio* familien. Dette er en bakteriegruppe som består hovedsakelig av alminnelige sjøvannsbakterier, men også inkluderer noen viktige patogener. *A. wodanis* er i nær slekt med *A. (Vibrio) salmonicida*. *A. wodanis* isoleres ofte fra både indre organer og sår hos fisk med sår (dvs. systemisk infeksjon) i renkultur, tilnærmet renkultur eller i blandingsflora sammen med andre bakterier. Det har ikke vært mulig å demonstrere «Koch's postulater» det vil si å gjenske sykdom i smitteforsøk med denne bakterien. *A. wodanis* isoleres ofte som blandingsinfeksjon sammen med *M. viscosa* og det har blitt forsket rundt et mulig «synergistisk» forhold mellom disse to bakterietypene (Karlsen et al. 2014) uten at man har funnet ut hvordan *A. wodanis* bidrar til utvikling av sår. *A. wodanis* vokser godt på de fleste agartyper med høyt saltinnhold. I diagnostisk sammenheng er blodagar tilsatt 1.5 % NaCl antakelig optimalt med tanke på vekst og utvikling av lett gjenkjennelig kolonimorfologi. *A. wodanis* vokser etter 2 dagers inkubasjon ved 15 °C med gule/oransje kolonier på blodagar tilsatt 1.5 % NaCl. De aller fleste isolater produserer en betahemolytisk sone. Det brukes en lignende fremgangsmåte (Lunder et al. 2000) for identifisering av *A. wodanis* som for *M. viscosa*, og bakterien er forholdsvis lett å diagnostisere.

7.7 *Flavobacterium psychrophilum*

Flavobacterium psychrophilum tilhører bakterieslekten *Flavobacterium*, et genus som består av lange, tynne, nesten trådformete, strikt aerobe, Gram-negative bakterier. Infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* kalles bacterial cold water disease (BCWD) hos stor fisk og yngeldødelighetssyndrom (YDS) eller rainbow trout fry syndrome (RTFS) hos regnbueørret yngel og parr. Sykdommen var bare rapportert hos salmonider i Nord-Amerika fram til midten av 1980-tallet. I

slutten av 1980-årene ble den påvist hos regnbueørret i Tyskland, Frankrike og Japan. Siden den gang er sykdommen blitt rapportert fra alle områder i verden som har oppdrett av laksefisk. Bakterien er påvist hos flere fiskearter (Barnes & Brown 2011).

F. psychrophilum har i Norge først og fremst vært et helseproblem hos regnbueørret, med sepsis og dødelighet hos yngel og parr. Hos større og mer motstandskraftig fisk, utvikles det sår og byller i tillegg til sepsis. Hos regnbueørret er det beskrevet interfamiljære forskjeller i mottakelighet for sykdommen og det er identifisert områder i arvematerialet knyttet til motstandsdyktighet mot sykdommen (Wiens et al. 2013). Bakterien blir påvist mer sporadisk fra utbrudd med sår og finneråte hos laks og brunørret, og disse fiskeslagene regnes som mindre mottakelige for sykdommen. I enkelte tilfelle har imidlertid utbrudd hos laks blitt alvorlige med bakteriespredning og dødelighet (Nilsen et al. 2011). Muskelnekrose, nevrologiske symptomer og deformiteter har blitt beskrevet. Sykdommen spres horisontalt og man antar at vertikal spredning forekommer (Brown et al. 1997)

F. psychrophilum har forholdsvis dårlig toleranse for saltvann og med unntak av en brakkvannsfjord på Vestlandet er bakteriene hovedsakelig isolert fra fisk i ferskvann. Historisk har utbrudd vært knyttet til lave temperaturer, men i de senere årene har det vært vanlig med utbrudd ved sommertemperaturer. Sykdommen håndteres med hygienetiltak og ved alvorlige utbrudd antibiotika. I biofilm har bakterien mindre følsomhet for antibakterielle midler (Sundell & Wiklund 2011). For yngel og liten fisk er det ikke tilgjengelige kommersielle vaksiner på markedet. Det finnes stikkvaksiner for større regnbueørret (Fredriksen et al. 2013).

7.7.1 Diversitet

Det er beskrevet forskjellige varianter av bakterien med hensyn på egenskaper(biotyper), overflatestrukturer (serotyper) og sammensetning av arvematerialet (genotyper). Bakteriens evne til å produsere proteolytiske enzymer er antatt å ha betydning for sykdomsforløpet (Duchaud et al. 2007). Det er store forskjeller i virulens mellom forskjellige varianter av bakterien, men sikre virulensmarkører er ikke påvist (Madsen & Dalsgaard 2000). Karakterisering av isolater har vist at en og samme gruppe av nært beslektete genotyper er knyttet til sykdomsutbrudd hos regnbueørret i flere land. Hos brunørret og laks er det andre genotyper med større innbyrdes variasjon som påvises i forbindelse med sykdom (Nilsen et al. 2014, Nicolas et al. 2008).

7.7.2 Diagnostiske kriterier

Diagnostikk av sykdommen er basert på kliniske observasjoner, obduksjon, histopatologi, dyrkning og identifisering av bakterien, eventuelt også immunhistokjemi. Syk fisk er bleke, har væske i buken og forstørret utflytende milt. Hos yngel kan milten ofte ses gjennom bukveggen. På større fisk i ferskvann har sees sår som går ned i muskulaturen, mens det hos sjøsatt stor regnbueørret har vært pussfylte byller i underhuden. Granskning av vevssnitt kan vise funn av lange slanke bakterier i sårkant og funn av betennesceller til tilstøtende muskulatur. Milten er nekrotisk og miltkapselen kan være omdannet til en hyalin brem med tilstøtende betennelsesvev. Av og til kan lange slanke bakterier sees i det nekrotiske vevet (<http://www.vetinst.no/Publikasjoner/Fiskehelserapporten>).

F. psychrophilum krever spesielle vekstmedier (Anacker & Ordal 1959), vokser ikke på blodagar og vokser seint under laboratorieforhold, 3-6 dager, med gulpigmenterte kolonier. Den har optimal vekst temperatur ved 15 °C, vokser ved 4 °C og vokser ikke ved 30 °C. Bakterien er i likhet med *Tenacibaculum* spp. lite reaktiv ved biokjemisk testing. Den forgjærer ikke karbohydrater men

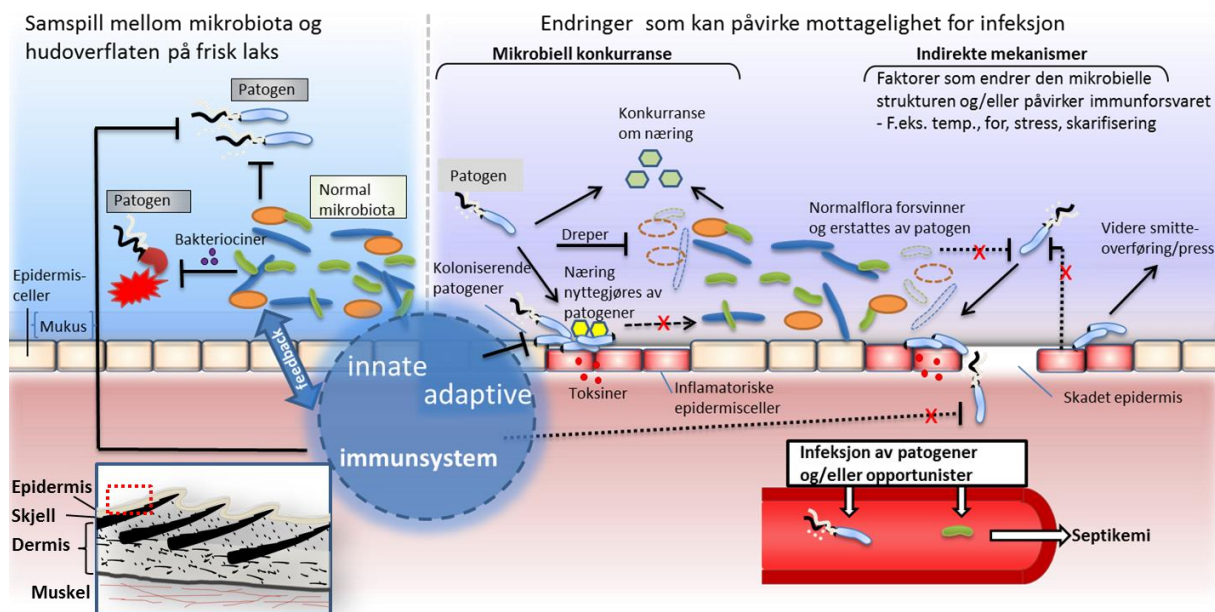
produserer en del enzymer som kan brukes til presumtiv identifisering (Bernardet & Grimont 1989, Holt et al. 1993). Sekvensering av genmaterialet hos bakterien er anbefalt for sikker identifikasjon (pers. med. J.F. Bernardet).

7.8 Andre sårassosierte bakterier

Vibrio splendidus og *Vibrio (Aliivibrio) logei* er andre bakterier som kan assosieres med sår. Bakteriene blir isolert fra blandingskulturer fra syk laks og fra hudskader, men også ved tilfeldig screening av frisk laks (Benediktsdottir et al. 1998). Disse observasjonene indikerer at bakteriene er en del av den normale mikrobiotaen på fisken og i sjøvann. Påvisningen av disse bakteriene er også mer fremtredende fra sår hos laks ved relativt høye temperaturer. Betydningen av disse *V. splendidus*-lignende isolatene er ukjent, men det ser ut til at disse ikke kan betraktes som opportunistiske patogener. Dette underbygges videre av smittforsøk gjort med *V. splendidus* isolert fra syk leppefisk (Jensen et al., 2003). Injeksjoner av dette isolatet i atlantisk laks førte ikke til dødelighet (Bergh & Samuelsen, 2007).

7.9 Laksens hudmikrobiota i immunitet og sykdom

Den varierte bakterielle mikrobiota som er tilstede i det akvatiske miljøet bidrar til at et bredt spekter av bakterier også blir isolert fra sår, både patogener og tilfeldige opportuniste (figur 4).



Figur 4 Det er sannsynlig at det mikrobielle samfunnet som finnes på hudoverflaten og i mucus hos atlantisk laks vil ha stor diversitet. Diversiteten endres gjennom livsstadier og har sesongvariasjoner. Dette «mikrobiotakomplekset» utgjør en antigen-diversitet som sannsynligvis både påvirker og former utviklingen, funksjonen og responser til hud/mucus-immunsystemet hos atlantisk laks. Utfallet av en infeksjon avhenger både av vertens immunrespons, men også av at betingelsene for kolonisering er tilstede. En patogen bakterie må kunne nyttiggjøre seg av næring eller utkonkurrere andre bakterier for å kolonisere. Hemming av immunresponser eller direkte bortfall av immunbarrierer som ved f.eks. skjelltap der førstelinjeforsvaret forsvinner gjør fisken mer mottakelig for infeksjon. Nederst i venstre hjørne er hudoverflaten til laksen illustrert og den røde firkanten viser hvor de første interaksjonene mellom bakterier, bakterier og hudoverflaten, og førstelinjeforsvaret hos laksen starter som resten av figuren illustrerer.

Det er nærliggende å tro at mye av det multi-mikrobielle samfunnet av forskjellige bakterietyper som finnes i vannet, og som kanskje særlig anrikes i merdene også kan nyttiggjøre seg eller kolonisere mukus og hudoverflaten til laksen. Denne bakteriefloraen har et potensiale til både å styrke laksens immunforsvar, men også potensielt forårsake sykdom. En normalflora fremmer adaptiv og medfødt immunitet mot patogener (Kamada et al., 2013) samtidig som den kan beskytte mot patogene bakterier. Mikrobielle samfunn på fiskehuden vil sannsynligvis samhandle eller interagere med hverandre på tvers av bakteriearter på samme måte som mikrobielle samfunn i slimhinnene i magen (Kamada et al., 2013). Interaksjoner kan være nyttige for bakteriene (f.eks. biofilm) eller et resultat av sterk konkurranse for å utnytte plass eller ressurser på bekostning av en annen. En slik konkurranse kan også føre til at konkurrerende bakterier dreper hverandre ved å skille ut antimikrobielle forbindelser (f.eks. bakteriociner). *M. viscosa* sin vekst hemmes i nærvær av *A. wodanis*. Nyere resultater indikerer også at atlantisk laks som er disponert for *A. wodanis* før *M. viscosa* smitte får en redusert dødelighet sammenlignet med mono-infeksjon av *M. viscosa* (Karlsen et al., 2014b). Dette kan innebære at den mikrobielle sammensetningen til stede på overflaten av en laks kan påvirke patogenesen til hudsykdommer som vintersår sterkt. I den samme studien ble det også funnet at når både *M. viscosa* og *A. wodanis* forekom samtidig i vannet etablerte begge bakteriene seg i laksesmolten slik at de forekom i sår og nyre i et forhold som også registreres under utbrudd i felt. Hvilken bakterie som dominerte i den enkelte fisk av *M. viscosa* og *A. wodanis* så imidlertid ut til å være tilfeldig. Ko-kultiveringsstudier har vist at *M. viscosa* og *A. wodanis* har en effekt på hverandres vekst og i tillegg uttrykk av virulensfaktorer som hemolysiner (Karlsen et al., 2009). Det observeres en synergistisk ko-hemolytisk (CAMP) reaksjon mellom *M. viscosa* og *A. wodanis*. Aktiviteten ligner den synergistiske hemolysen observert når *Staphylococcus aureus* Sfingomyelinase C interagerer i kombinasjon med en ko-hemolytisk faktor (CAMP) produsert av gruppe B streptokokker. Imidlertid påvirkes veksten av *M. viscosa* negativt i nærvær av *A. wodanis*. Kontakten mellom de to bakteriene vil derfor hemme virulensuttrykket hos *M. viscosa*, men reduserer også hemolysinproduksjon i *A. wodanis* (Karlsen et al., 2009). Mekanismene og genene for dette er ukjent.

Et mer komplekst bilde av sårproblematikken støttes også i studien til Olsen og kollegaer (2011). Her viser smitteforsøk at et par typer av *Tenacibaculum*-bakterier ikke kan etablere sår på egen hånd uten kunstig sår dannelse (skarifisering) på forhånd ved kort tids eksponering. Forlenges eksponeringen dannet en av de to *Tenacibaculum*-stammene sår hos laksen på egenhånd. Laks som på forhånd er smittet med *M. viscosa* vil få en etablering av en av de to *Tenacibaculum*-bakteriene i sår hos laksen. Dette samspillet kan se ut til å være vanlig forekommende i oppdrettsnæringen der sår utvikles på tross av vaksinasjon med *M. viscosa* (A. Østvik pers. med.). Det er ikke utenkelig at det kan være et viktig samspill mellom disse to bakteriene, kanskje i en interaksjon med verten, som bidrar til at vintersår oppstår også hos laks som er vaksinert med *M. viscosa*.

Den sykdomsfremkallende (patogene) bakterien må kunne overvinne de medfødte immunbarrierene i huden hos laks. Disse omfatter en rekke mekanismer som aktivt beskytter laksen for faktorer fra det ytre miljø. Patogenen må bli "akseptert" av andre bakterier i mikrobiotaen, eller ha en strategi der den metabolsk utkonkurrerer eller aktivt hemmer andre typer bakterier slik at den kan komme i kontakt og kolonisere verten. En miljøendring, f.eks. i temperaturen kan endre de adaptive immunresponsene hos atlantisk laks, eller optimalisere vekstbetingelsene for en patogen som begunstiger sykdomsutvikling. En lavere temperatur fører til en *M. viscosa* som er mer bevegelig, som adherer seg sterkere til celler, gir høyere veksttetthet og fører til en mer robust bakterie (Tunsjø et al., 2007). Dette er faktorer som kan øke infeksjonspotensialet. En miljøendring kan også endre

det mikrobielle samfunnet til å bli ettergivende overfor patogener og dermed øker risikoen for en infeksjon. Bakterietypene som nå betraktes som 'opportunistiske/tilfeldige bidragsyttere' inkluderer blant annet *Vibrio logei*, *Vibrio splendidus* og *Vibrio iliopiscarius* (Benediktsdottir et al., 1998). Om ubalanse i det mikrobielle samfunnet på overflaten av fisken påvirker mottakelighet for infeksjon må undersøkes ytterligere. Men det er et behov for å etablere kjennskap til hvilke bakterietyper som koloniserer huden under oppdrett. Ved å karakterisere det mikrobielle samfunnet under sesongvariasjoner, og hvilke endringer som skjer som respons på ytre faktorer (for eksempel temperatur), kan man også identifisere faktorer som disponerer og tillater en patogen å fremkalle sårutvikling. Å få en dypere forståelse av relasjoner mellom vert og vertsflora, og hudens immunsystem vil være avgjørende for å kunne utvikle vaksiner som genererer en langvarig immunrespons på hudoverflaten hos laks, slik det er kjent fra pattedyr (Fukuyama et al., 2012).

8 Sårstatus i norsk lakseoppdrett

8.1 Sår, diagnostikk og definisjoner

Dette kapittelet gir en samlet status om omfanget av sårproblemer innen oppdrettsnæringen i Norge, når oppstår sårene, under hvilke forhold, hva er årsaken til sårproblemene og hva gjør næringen for å forebygge og behandle sår. Det gis en praktisk definisjon av hva sår er, det beskrives diagnostikk av sår og omfanget av sårdiagnostikk hos Veterinærinstituttet. I dette kapittelet er det samlet informasjon om vaksiner og legemidler og vi refererer resultatet av tre spørreundersøkelser vedrørende sår på laksefisk.

Laksefiskenes hud, som består av epidermis, basalmembran og dermis med skjell og skjell-lommer, er en samlet og tett barriere som beskytter fiskens indre mot det «ytre miljø». Huden dekker hele fiskens ytre, slik at både snute og hodeskader, øyeskader, finneskader og andre sår fører til samme risiko for fisken; eksponering av fiskens indre mot det ytre miljø. For en grundig gjennomgang av hudens oppbygning og funksjon, se kapittel 2.

Hvis vi tar med hele fiskens ytre, finner inkludert, er det grunnlag for å hevde at all fisk i norsk lakseoppdrett får problemer med sår i løpet av livet. Disse sårene sees imidlertid hovedsakelig som mindre forandringer på finner og i huden, og i de fleste tilfellene vil små sår gro slik at en ny barriere blir opprettet. De fleste fiskene med mindre sårproblemer overlever og blir til førsteklasses mat, men sår består likevel som et velferdsproblem. Antallet fisk som får så store sårskader at de dør eller blir nedklasset ved slakt er betydelige og et forsiktig anslag er at det gjennomsnittlige svinnet ligger på mellom 1,1 og 2,5 %. Sår er et økonomisk og etisk problem for oppdretteren og et velferdsproblem for fisken. For de fleste lidelsene, sår inkludert, er dødelighet ikke nødvendigvis et sikkert mål for problemets omfang. Fisk kan leve lenge med sår og dermed ha redusert velferd i lang tid, uten at den dør av det.

Sår kan ha mange ulike årsaker, og ofte er det sammensatte årsaker til et sårproblem. Sår kan oppstå som resultat av ytre påvirkning (skade) eller som resultat av systemiske lidelser (infeksjoner eller fysiologisk svikt) og etter hvert i kombinasjon med en sekundær bakteriell sårinfeksjon (figur 5). Ofte blir sårutvikling knyttet til konkrete hendelser som kan ha gitt skader i huden, for eksempel håndtering, akutte panikkepisoder, vær, strømforhold og predatorer, men også finneskader utviklet over lengre tid kan disponere for utvikling av større sårproblemer. Lav vanntemperatur gjør fisken mer utsatt for å få sår og fører til at sår gror langsommere. Sårutvikling i sjø er et typisk vinterproblem, som kan vedvare langt utover våren. Hvis det først har begynt å utvikle seg sår i en oppdrettsbestand kan en stor andel av fisken etter hvert bli affisert.



Figur 5 Ulike sårproblemer kan gi ulike forandringer. (Foto: øverst: Veterinærinstituttet, ned t.v.: Marin Helse AS, ned t.h: Tone Ingebriksen, Labora AS).

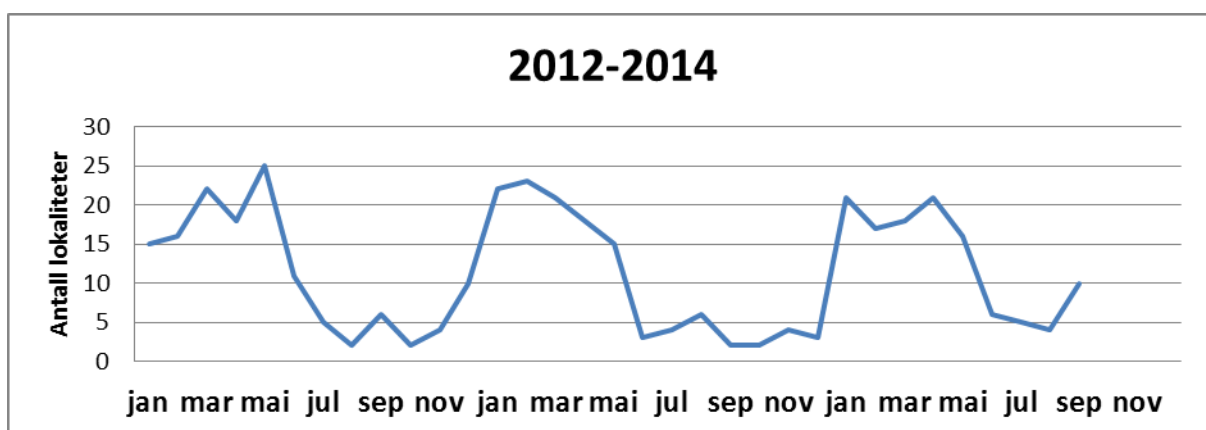
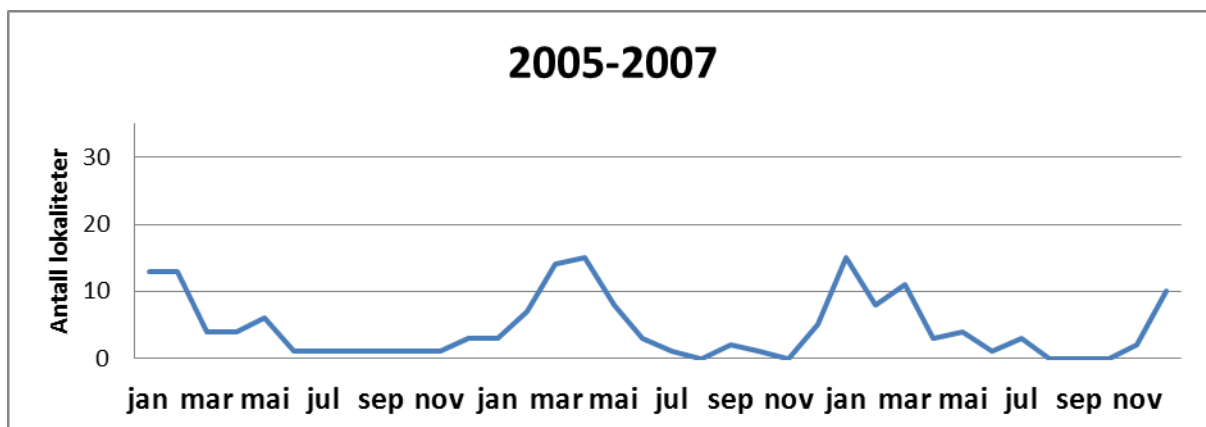
Veterinærinstituttet mottar diagnostisk materiale i form av bakteriekulturer, vev på formalin for histopatologisk undersøkelse, vev fiksert for PCR-analyser eller hel fisk. Vanlige sykdomsutredninger er oftest basert på obduksjon og helsekontroll ute i anleggene, utført av de lokale fiskehelsetjenestene. Innsending av prøver blir gjort for verifisering av diagnose, for å utelukke mer alvorlige differensialdiagnoser eller for å avdekke andre, samtidige diagnoser. I noen tilfeller blir det tatt ut mer omfattende materiale for kartlegging av en sykdomssituasjon. Der det er hovedmistanke om sår vil de kliniske funnene være tydelige. Dyrking fra sår gir ofte blandingskulturer, og dyrking for å isolere agens er ikke alltid prioritert. Det Veterinærinstituttet får inn av materiale vil derfor bare være fra en mindre del av de kliniske tilfellene med sår som oppstår i løpet av året. Infeksjon med *M. viscosa*, *Tenacibaculum* spp. eller andre bakterier assosiert med sår er ikke meldepliktig og må derfor ikke bekreftes av Veterinærinstituttet. Nytt fra 2014 er at systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* hos regnbueørret skal meldes til Mattilsynet.

Ved alt diagnostisk arbeid av fisk er sykdomsdiagnoser basert på en samlet vurdering av en rekke forskjellige undersøkelser, som klinikk, patologiske undersøkelser og påvisning av agens. Ved sårproblemer blir diagnosen bekreftet ved dyrking og identifisering av bakterier, funn av typiske mikroskopiske vevsendringer (histopatologi) og ofte påvisning av bakterier i vev ved hjelp av immunologisk metodikk (immunhistokjemi). De fleste (hvis ikke alle) sårbakterier er medlemmer av den «vanlige» vannfloraen, og opptrer som opportunistiske patogener. Dyrking av «sårbakterier» uten å sammenholde med typiske patologiske forandringer, er en *påvisning* og bør ikke forveksles med en «sår»-diagnose.

De bakteriene som i første rekke påvises ved sårproblemer i sjø er *M. viscosa*, *Tenacibaculum spp.* og *Aliivibrio wodanis*. I ferskvann er det særlig *F. psychrophilum* som er aktuell. <http://www.vetinst.no/nor/Faktabank/|Alle-faktaark/Flavobacterium-psychrophilum>. I tillegg kan det i ferskvann oppstå sårproblemer med primær eller sekundær infeksjon med sopp, oftest *Saprolegnia sp.* En grundig omtale av disse bakteriene er gitt i kapittel 6, med beskrivelse av kriterier for påvisning. For beskrivelse av metodikk for prøvetaking, se http://www.vetinst.no/Proevetaking-og-diagnostikk/Proevetaking-fisk-krepsdyr-skjell#Provetaking_fisk.

8.2 Forekomst av sår i Veterinærinstituttets materiale, 2005-2014

Innsendingsfrekvens til VI varierer avhengig av flere forhold; type helseproblem, fiskehelsetjenestens rutiner for utredning, om man tror det kan finnes medikamentelle tiltak, om det er viktig å utelukke andre og mer alvorlige sykdommer osv. <http://www.vetinst.no/Publikasjoner/Fiskehelse rapporten>. Sår er ikke en listeført sykdom, og antakelig sendes det ofte ikke inn prøver hvis det er avklart at det dreier seg kun om et sårproblem. Hvis det sendes inn prøver for å undersøke for underliggende / andre sykdommer lar man ofte være å sende inn prøver fra sårene. Siden sår kan være del av en systemisk sykdom er det viktig at diagnostikk av fisk med sår også omfatter prøvetaking av både sårene og av indre organer. Figur 6 viser fordeling i løpet av året av saker til Veterinærinstituttet med sårbakterier, fordelt i periodene 2005 – 2007 og 2012 - 2014. Tabell 2 viser andel matfisklokaliteter med sår registrert ved VI, fordelt på region og periodene 2005 – 2007 og 2012 – 2014. Det vil si antall lokaliteter med sår i Vis materiale som andel av det totale antall matfisklokaliteter i drift i periodene per region.



Figur 6 Fordeling i løpet av året av saker til Veterinærinstituttet med sår bakterier i periodene 2005-2007 og 2012-2014.

Tabell 2 Lokaliteter med sår i Veterinærinstituttets materiale som andel av det totale antall matfisklokaliteter i drift per region i periodene.

	2005-2007	2012-2014
Vestlandet	Ca. 5 %	Ca. 9 %
Møre og Romsdal og Trøndelag	Ca. 5 %	Ca. 9 %
Nord-Norge	Ca 7 %	Ca. 16 %

8.2.1 2005-2006

Fra felt ble det for 2005 - 2006 rapportert om flest problemer med vintersår fra Møre og nordover. I enkelte områder ble problemene betegnet som stigende. Vintersår ble særlig påvist i sjø hos laks og regnbueørret i perioden oktober til april. Sårutvikling og infeksjon med *M. viscosa* ble også sett som problem i settefiskanlegg som tok inn sjøvann. Det ble kommentert i 2006 at en nyutviklet vaksine mot *M. viscosa*-infeksjon var tatt i bruk, men at effekten i felt så ut til å være variabel. I alvorlige tilfeller ble fisken behandlet med antibakterielle medikamenter.

8.2.2 2007

Vintersår var fortsatt et problem i noen områder. I enkelte områder ble vintersår oppfattet som et større problem på regnbueørret enn hos laks, og sykdommen førte til store tap i enkelte anlegg med regnbueørret de senere år. I tillegg til direkte tap som følge av dødelighet, fører også vintersår til en ikke ubetydelig nedklassifisering ved slakting. Eventuelle stammeforskjeller av *M. viscosa* fra forskjellige geografiske områder og fra ulike typer fisk blir undersøkt.

8.2.3 2008

I ett tilfelle ble det i 2008 rapportert om et tap på 20 millioner kroner pga. nedklassifisering på ett eneste oppdrettsanlegg. Selv om *M. viscosa* ble påvist på dette anlegget, var det ikke mulig å fastslå om bakterien var årsaken til de betydelige nedklassifiseringene. Også på anlegg i andre deler av landet ble det rapportert om lav dødelighet pga. vintersår, men at sykdommen likevel ga betydelige tap som følge av nedklassifisering. *M. viscosa* ble påvist i prøver fra 44 lokaliteter med laks og 7 med regnbueørret. Fra fiskehelsetjenestene rundt i landet ble det meldt om at problemer med vintersår så ut til å være mindre enn i de foregående årene. *F. psychrophilum* forårsaket store tap hos settefiskoppdrettere med regnbueørret i 2008.

8.2.4 2009

Veterinærinstituttet fant *M. viscosa* fra totalt 36 lokaliteter i 2009. Med unntak av to isoleringer fra regnbueørret, var alle fra laks. Basert på innhentede opplysninger fra fiskehelsetjenestene får man inntrykk av at tapene pga. vintersår også i 2009 var mindre enn tidligere. Det er fortsatt ikke klart om den utviklingen skyldes vaksinerings, andre forebyggende tiltak eller naturlig variasjon i for eksempel temperatur. Det er brukt antibiotika mot vintersår på noen få anlegg i 2009, og effekten av slik behandling er omdiskutert. I 2009 var det påvisninger av *F. psychrophilum* hos regnbueørret både i settefiskanlegg og i sjøanlegg. Sjøanleggene var lokalisert i en fjord med lav salinitet (4–14 ‰) i øvre vannlag (1 meter).

8.2.5 2010

Veterinærinstituttet fant *M. viscosa* på totalt 55 lokaliteter, 47 fra laks og åtte fra regnbueørret. Dette var en økning i antall lokaliteter med påvisninger av *M. viscosa* hos laks, sammenlignet med 2009 (34 lokaliteter). Det ble også registrert en merkbar oppgang i antall påvisninger på lokaliteter med regnbueørret, sammenlignet med året før.

Tross økningen i affiserte lokaliteter registrert av Veterinærinstituttet ga fiskehelsetjenestene noe blandede tilbakemeldinger angående vintersår. Mange, særlig i mer sørlige områder, oppfattet ikke situasjonen i 2010 som verre, heller noe forbedret i forhold til tidligere år, mens sykdommen fortsatt virket som om den slo mer problematisk ut i noen områder på Nord-Vestlandet og i de to nordligste fylkene.

Det ble ikke klarlagt om denne utviklingen skyldtes vaksinerings, andre forebyggende tiltak eller naturlig variasjon i for eksempel temperatur. Det ble brukt antibiotika mot vintersår på noen få anlegg også i 2010.

Totalt registrerte Veterinærinstituttet *Tenacibaculum spp.* fra 19 sjølokaliteter med laks og fire sjølokaliteter med regnbueørret i 2010. Ikke alle isolater var forbundet med betydelig dødelighet

og/eller sårutvikling. Beslektede *Tenacibaculum spp.* ble også i løpet av 2010 påvist fra kveite, torsk og leppefisk med sår, og i blandingsinfeksjoner med *Moritella viscosa* fra klassiske "vintersår", hos regnbueørret på Vestlandet. Utbruddene ble registrert på vårparten og utover sommeren.

På stor regnbueørret (1,5–2 kg) ble det i 2010 påvist systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* på en brakkvannslokalitet i den samme fjorden hvor det tidligere hadde vært påvisninger. Obduksjonen avdekket byller i muskulatur og stor, utflytende milt. Hos noen fisker var funnene mer typiske for "vintersår", med åpne sår ned i muskulaturen. Det ble gjort tilleggsfunn av *M. viscosa* på ett individ.

Infeksjon med *F. psychrophilum* ble påvist hos laks i tre kommersielle settefiskanlegg. I to av disse var infeksjonen systemisk og knyttet til økt dødelighet. Ett av disse hadde hatt langvarige problemer med utbrudd med *Yersinia ruckeri* O1. Hos laks, ørret og røye er bakterien funnet i forbindelse med sår og finneråte eller som tilleggsfunn til annen sykdom.

8.2.6 2011

I 2011 ble det påvist *M. viscosa* fra 62 lokaliteter med laks og 7 med regnbueørret. Tross økningen i affiserte lokaliteter registrert ved Veterinærinstituttet ga fiskehelsetjenestene noe blandede tilbakemeldinger angående vintersår. Mange oppfattet ikke situasjonen i 2011 som verre, heller noe forbedret, i forhold til tidligere år. Også tapene på grunn av vintersår var i de fleste områder stabile eller lavere i 2011 enn tidligere år.

Til tross for at Veterinærinstituttet isolerte *Tenacibaculum spp.* fra flere fisk med sår, hovedsakelig laks men også regnbueørret, i løpet av 2011 enn i tidligere år, må dette ses i sammenheng med et økt fokus på *Tenacibaculum spp.* og en økt bruk av spesielle egnet vekstmedium for dyrkning av disse bakteriene (marineagar). *Tenacibaculum* -påvisningene var for det meste begrenset til vårparten (februar, mars og april med noen få i mai og juni) med få eller ingen påvisninger i høsten, og affiserte hovedsakelig forholdsvis nylig sjøsatt fisk.

I 2011 var det få påvisninger av *F. psychrophilum* i forbindelse med sykdom i norsk fiskeoppdrett. Bakterien ble påvist hos stor regnbueørret i brakkvann i det samme fjordsystemet som har hatt påvisninger årlig i perioder.

en 2008-2010. Fisk som sjøsettes i dette fjordsystemet vaksineres mot infeksjonen med en autogen vaksine. I tillegg ble sykdommen diagnostisert på en lokalitet med regnbueørret i ytterkant av dette brakkvannsbassenget. Infeksjonen ble påvist både på fisk sjøsatt vår 2011 og høst 2011. Klinik og symptomtilbilde i 2011 tilsvarte det som er sett tidligere. Utbruddene har vært påvist samtidig, evt. i for- eller etterkant av PD og/eller bakteriesykdommer, som infeksjon med *Vibrio (Listonella) anguillarum* (vibriose) og sårinfeksjon med *Tenacibaculum spp.* og *M. viscosa*. Utbrudd av systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* ble også påvist hos mindre regnbueørret i et innlandsanlegg som tidligere har hatt problemer med denne sykdommen. Bakterien ble påvist hos laks som også hadde soppinfeksjon dette året.

8.2.7 2012

I 2012 ser det ut til at det er særlig fra Midt-Norge og nordover at det har vært problemer med sårutvikling. For enkelte oppdrettsselskap har sår vært ett av deres største problemer. Sår er i all hovedsak et problem i sjøen, og også i 2012 ble det påvist sår med både *M. viscosa* og *Tenacibaculum*

sp. på smolt på land i kar med sjøvannstilsetning. Det er særlig laks som blir angrepet, men også i 2012 ble det observert tilfeller på regnbueørret. *Tenacibaculum spp.* blir ofte påvist fra sårinfeksjoner hos laks og regnbueørret og kan forekomme sammen med *M. viscosa* eller som tilnærmet eneste funn ved laboratorieundersøkelser.

I 2012 ble *F. psychrophilum* påvist hos stor regnbueørret i brakkvann med sår og byller. *F. psychrophilum* ble også påvist hos laks i flere kommersielle settefiskanlegg i 2012 i forbindelse med sårproblematikk. På en av lokalitetene utviklet det seg sår i området ved ryggfinnene. Sykdommen spredte seg til å omfatte mange kar hvor alvorlighetsgraden varierte. I løpet av utbruddet, der det ble gjennomført medikamentell behandling, døde ca. 50 % av fisken.

8.2.8 2013

Bakterien *M. viscosa* ble i 2013 påvist i tilknytning til sårutvikling og dødelighet hos oppdrettslaks langs hele kysten. Bakterien er også som i tidligere år blitt registrert hos regnbueørret. *Tenacibaculum spp.* blir også ofte påvist fra sårinfeksjoner hos laks og regnbueørret og kan forekomme sammen med *M. viscosa* eller som tilnærmet eneste funn ved laboratorieundersøkelser. I 2013 har det vært tilfeller i den nordlige delen av landet hvor hele merder måtte destrueres pga. *Tenacibaculum*-infeksjon hos fisken. I andre områder har det vært mindre sårproblemer enn enkelte tidligere år.

F. psychrophilum ble påvist hos laks i 2 kommersielle settefiskanlegg, men betydningen av infeksjonen er noe uklart. En av påvisningene var knyttet til økt dødelighet og sviming, med få ytre lesjoner på fisken. Fiskegruppen hadde imidlertid andre diagnoser som nefrokalsinose og etterhvert bakteriell gjellebetennelse, sår dannelse og IPN. Dette er funn som kan tyde på at miljøforholdene ikke har vært optimale. I flere utbrudd i settefiskanlegg har det vært gjort indirekte påvisninger ved hjelp av immunhistokjemi. Dette har medført mistanke om sykdommen selv om ikke bakterien har blitt dyrket.

F. psychrophilum ble påvist hos stor regnbueørret på 3 lokaliteter i brakkvann i det samme fjordsystemet hvor det har vært påvisninger i perioden 2008-2012. Klinik og symptom-bilde har vært noe annerledes enn tidligere, med færre rapporter om pussfylte abscesser og med mer sår, et symptom-bilde som kan være overlappende med andre bakterielle sykdommer. På en lokalitet ble det påvist vibriose med infeksjon med *Vibrio anguillarum* O1 hos flere fisk på samme tidspunkt.

8.3 Sår og vaksine - forebygging

All laks som skal ut i sjø i Norge skal vaksineres mot de viktigste bakterielle sykdommene. Vaksiner mot *M. viscosa* ble tatt i bruk på midten av 2000-tallet, og denne antigen-komponenten er nå en del av nesten alle de oljebaserte vaksinene som brukes på laks. Til regnbueørret er det vanlig med vaksiner uten vintersårkomponent, men det blir brukt en god del vaksine mot bare furunkulose og vibriose.

Valg av vaksine og vaksinestrategi er en viktig beslutning for alle oppdrettsselskap. Vaksinefirma og oppdrettere har ofte lange og detaljerte forhandlinger om levering av produkter. Sammenligning av effekt og kvalitet mellom ulike produkter kan være krevende, og pris og tilleggstenester har også vært viktige faktorer. Å ta inn en ny bakterie- eller viruskomponent i en vaksine og så få en

markedsføringstillatelse fra Statens legemiddelverk tar tid, det gir et dyrere sluttprodukt og vil i regelen også føre til økt risiko for bivirkninger i fisken. Med bivirkninger menes de betennelsesreaksjonene vaksine/adjuvans gir i fiskens bukhule, skader som vises som dannelse av arrvev på bukhinne/organer og som avleiring av immunceller med melanin-pigment i bukhinne/organer/muskulatur (Gudding 2014). Dersom slike skader kommer over et visst nivå inne i fisken vil de føre til tap i form av redusert tilvekst eller nedklassing av fisk ved slakting. At tilnærmet all laks nå vaksineres mot vintersår kan tyde på at den generelle oppfatningen i næringen mener at gevinsten ved slik vaksinerings er større enn de eventuelle produksjonsmessige eller økonomiske ulempene. Men den utstrakte bruken av vaksiner med vintersårskomponent kan selvfølgelig også skyldes begrensninger i reelle valgmuligheter.

Det ble foretatt en spørreundersøkelse hos de leverandørene som har, eller jobber med å få, fiskevaksiner tilgjengelig på det norske markedet. Spørreundersøkelsen bestod av 5 spørsmål og svarene er gjengitt i sammendrag nedenfor:

1. Hvilke vaksiner har dere tilgjengelig mot vintersår, og hvor stor bruk er det av disse i dag?

Oversikt over tilgjengelige vaksiner i Norge september 2014 er satt opp i Tabell 3. Tre firma leverer til sammen 6 ulike flerkomponentvaksiner der vintersårkomponent er inkludert. Isolatene av *M. viscosa* som er brukt har i stor grad vært uendret siden vaksinene ble utviklet på midten av 2000-tallet. Framgangsmåten for framstilling av bakterievaksiner er i hovedsak enkel: bakterier dyrkes fram i reinkultur, drepes/inaktiveres og en bestemt mengde bakterier tilsettes til vaksineløsninga som til slutt emulgeres i en oljebasert adjuvans. Adjuvansen skal sikre god stabilitet av antigenene og at vaksinen lagres lenge nok i bukhula til fisken til at effekten blir tilstrekkelig sterk og langvarig. I dag blir omtrent all laks vaksinert mot vintersår, mens de fleste oppdrettere av regnbueørret ser ut til å prioritere kun beskyttelse mot furunkulose og vibriose.

2. Hvordan vurderer dere den effekten dere ser i forsøk/godkjenningprosedyrer mot det som kan observeres i felt?

Effekt av en vaksine mot vintersår kan måles på ulike måter, og det er stor forskjell på hvilke resultater man da kan få ut. For det første må det skilles mellom forekomst av sår på den ene siden og dødelighet på den andre. Begge deler er viktige, men for vintersår kan det i felt ofte være større utfordringer med sår, svimere og eventuell nedklassing enn med akutt dødelighet. Men noen tilfeller med akutt og høy dødelighet forekommer også, slik at en beskrivelse av vaksineeffekt bør ha med begge faktorene. For det andre er det flere måter å smitte fisken på, og det har betydning for hvordan forløpet i forsøket blir. I rutinemessig testing av vaksinebatcher sprøytes bakterier inn i bukhula (intraperitonealt) for å få en rask effektvurdering. Men skal man måle vaksinens beskyttelse ute i en merd bør modeller med vannoverført smitte være en standardisert del av dokumentasjonen, fordi dette er den måten smitte spres på ute i anleggene.

3. Hvilke betingelser kreves for å sikre en god nok effekt av vaksinerings mot *Moritella viscosa*? Hvilken betydning har selve produksjonen av vaksinen, (dyrkingsmetode, produksjonsteknikk) for effekt av vaksinen?

I utgangspunktet bør en infeksjøs sykdom innfri de grunnleggende krav som ble stilt av anatomen Robert Koch (senere revidert og nyansert av Alfred Evans) (Porta, 1983). Koch stilte følgende fire krav som må være oppfylt for at man skal kunne fastslå at en mikroorganisme er årsak til en gitt sykdom. (1) Det kreves at mikroorganismen skal kunne isoleres og fremstilles i renkultur i alle

sykdomstilfeller. (2) Mikroorganismen må ikke forekomme ved andre sykdommer. (3) Den isolerte mikroorganismen må være i stand til å fremkalle sykdommen hos forsøksdyr, og (4) mikroorganismen må kunne gjenfinnes hos disse. Dette er selvsagt viktig for valg av bakterier eller virus som skal inkluderes i en vaksine.

For *M. viscosa* mener man denne sammenhengen er forholdsvis godt etablert selv om sår og ytre skader naturligvis også kan ha flere andre årsaker og betydningen av saminfeksjon med flere bakterier kan være viktig ved sårutvikling. For *Tenacibaculum* spp. Behøves det fortsatt mer kunnskap.

Flere produsenter peker på betydningen av vaksinens tekniske kvalitet; (1) god antigen produksjon / presentasjon i vaksinen og (2) emulgeringsmetode. I tillegg kommer naturligvis de erfaringer ved utvikling og bruk av vaksiner som er nedfelt i produktspesifikasjonene til vaksinene, standarder som er av generell karakter mht fiskens fysiologiske og immunologiske utvikling. Som blant annet krav til fiskens minstestørrelse, tidspunkt av vaksinerings i forhold til eksponering av smitte fra miljøet og temperaturregime før og etter vaksinerings. At vaksiner oppbevares og håndteres på en korrekt måte fra produksjon og fram til bruk bør også være en selvfølge i alle manualer for SOP for et settefiskanlegg som vaksinerer fisk.

4. Hvilket inntrykk har dere av omfang av sårproblemer i settefisk- og matfiskproduksjonen de siste sesongene?

Det er store variasjoner mellom anlegg, men det kan se ut til at en del anlegg eller områder har gjentakende problemer over tid. På settefiskanlegg har noen hatt problemer med *Flavobacterium*, for laks i form av sår og finneråte (For regnbueørret har større dødelighet og systemisk infeksjon vært et stigende problem, vår anm.).

Det kommer lite klager på vintersårkomponenten, og produsentene har et generelt inntrykk av at oppdretterne synes effekten er innenfor rammene av det de forventer.

5. Har dere flere sårbakterier til vurdering for bruk i framtidens vaksiner?

Tenacibaculum spp. blir oppgitt som en aktuell kandidat for vaksineutvikling av flere firma, men de har pr dato ingen konkrete opplysninger de kan gi om hvordan de arbeider med dette eller hvor langt de har kommet.

Tabell 3 Fiskevaksiner på det norske markedet september 2014. Produsent, vaksinenavn, dosering og type antigener. Vaksiner med uthevet skrift inneholder *M. viscosa* (vintersår). Forklaring: ASS: Furunkulose, VA: Vibriose, VS: Kaldtvannsvibriose, IPN: Infeksiøs Pankreas Nekrose, PDV: Pankreas Disease Virus, MV: *M. viscosa* (vintersår) (www.europharma.no, www.veso.no)

Produsent	Vaksine	Beskrivelse og dosering	Mot
Elanco (Novartis)	<u>Pentium Forte Plus vet (MT)</u>	Fem-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA, VS, IPN og MV
	<u>Lipogen Duo vet (MT)</u>	To-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA
MSD Animal Health	<u>Norvax Minova 6 vet (MT)</u>	Seks-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA, VS, IPN og MV
	<u>Norvax Compact PD vet (MT)</u>	Én-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	PDV
	<u>Norvax Minova vet 4WD (MT)</u>	Fem-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA, VS, IPN og MV
	<u>Aquavac Relera vet (MT)</u>	To-komponent dypp-/stikkvaksine (0,1 ml)	YR
	<u>Aquavac ERM Oral (MT)</u>	Én-komponent oralvaksine	YR
Pharmaq	<u>Alpha Ject micro 6 (MT)</u>	Seks-komponent stikkvaksine (0,05 ml)	ASS, VA, VS, IPN og MV
	<u>Alpha Ject 5-3 (MT)</u>	Fem-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA, VS, IPN og MV
	<u>Alpha Ject 6-2 (MT)</u>	Seks-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA, VS, IPN og MV
	<u>Alpha Ject 3000 (MT)</u>	Tre-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA
	<u>Alpha Ject 4000 (MT)</u>	Fire-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	ASS, VA, VS
	<u>Alpha Marine Vibject (MT)</u>	Tre-komponent stikkvaksine (0,1 ml)	VA
	<u>Alpha Marine Vibrio (MT)</u>	Tre-komponent dyppvaksine	VA

8.4 Bruk av legemidler ved sår – behandling

Bruk av antibiotika mot bakterielle sykdommer har vært et viktig tema for kritikk mot norsk fiskeoppdrett, men den diskusjonen eller historikken skal vi ikke ta i detalj i denne sammenhengen. Kort fortalt skjedde det i løpet av 1990-tallet en kraftig endring i omfang og mønster for bruk av antibiotika til norsk oppdrettsfisk (Lillehaug et al., 2003). Antall utstedte resepter var i 1991 og 1992 på 1573 og 2633 pr år, med 86 til 93 % av behandlingene brukt mot bakteriesykdommen furunkulose. For perioden 1994 til 2000 ble bare 2,8 % av behandlingene brukt mot furunkulose, de andre diagnosene økte naturligvis sin andel av det totale forbruket. Kaldtvannsvibriose utgjorde også

en viktig andel av behandlingene fram til 1996, men forekom bare sporadisk i årene etter det. Årsaken til at disse to sykdommene forsvant fra veterinærenes reseptblokker var innføringen av nye og effektive stikkvaksiner. Diagnosene vintersår og finneråte økte noe i antall i perioden, fra sporadiske behandlinger i 1991 – 92 til 49 behandlinger (begge diagnosene) i 2000, noe som utgjorde 80 % av alle behandlinger det året. I årene etter dette har furunkulosen vært godt kontrollert med vaksine, mens kaldtvannsvibriose har hatt noen oppblussinger, først og fremst i Nord-Norge. Hovedmengden av antibakterielle behandlinger brukes nå ved episoder med sår eller finneråte

Tallene for forbruk av legemidler som offentliggjøres av Folkehelseinstituttet (www.fhi.no) viser at det i perioden fra 2004 til 2013 ble brukt lite antibakterielle midler. Salget av antibakterielle midler til bruk på oppdrettsfisk i Norge varierte i perioden 2004-2013 (tabell 4), men fordi salget er svært lavt kan små variasjoner i antall sykdomsutbrudd gi tydelige utslag i statistikken. Folkehelseinstituttet skriver på sine nettsider at sett i forhold til biomasse oppdrettsfisk som produseres ser de på endringene i salget av antibakterielle midler til behandling av oppdrettsfisk som marginale og at salget er svært lavt. Mengden antibakterielle midler som har blitt solgt de siste årene tilsvarer at anslagsvis 0,5-1 prosent av fisken ble behandlet med en antibiotikakur.

Det er gjort noen studier av effekt av antibiotikabehandling mot vintersår. I to studier gjort av Havforskningsinstituttet, en for oksolinsyre (Coyne et al., 2004) og en for florfenikol (Coyne et al., 2006) fulgte de helsetilstand til fisk ved utbrudd av vintersår, før under og etter medikamentell behandling. Deres konklusjoner var ganske like for begge studiene:

- Fisk som dør av vintersår er først og fremst den minste fisken som har dårligst generell helsetilstand og dårligst matlyst.
- Ved obduksjon og dyrking fra frisk fisk, syk fisk og død fisk påvises lite *M. viscosa* fra frisk fisk, men fra en stor andel av syk og død fisk.
- Ved behandling finner man terapeutiske konsentrasjoner av legemiddel i muskel og lever hos frisk fisk, men i svært liten grad hos syk eller død fisk.
- Behandling ser ikke ut til å ha noen effekt på dødelighetsmønsteret i merd.

Konklusjon: medikamentell behandling mot vintersår forårsaket av *M. viscosa* ser ikke ut til å gi en kostnadseffektiv reduksjon av de totale sykdomstapene.

Når det gjelder miljøeffekt ved bruk av antibiotikafôr er det sikkert mulig å finne forskjellige resultater og å trekke ulike konklusjoner. I én norsk studie fant Havforskningsinstituttet høye verdier av oksolinsyre i vill fauna (Samuelsen et al., 1992). Dette så de i både makrell og sei, og de fant medisinerester i både muskel og lever. De fant også at det i tarm hos villfisk og oppdrettslaks på lokaliteten kunne være både oksolinsyre og furunkulosebakterier tilstede samtidig, noe de mente kunne gi mulighet for utvikling av resistente bakterier. I ett tilfelle fant de også høyere andel resistente bakterier i blåskjell, men dette var et mer usikkert funn. I artikkelen argumenteres for at fisk kan slippe mer legemiddel umetabolisert ut i fæces enn mennesker og landdyr, og at dette sammen med fôrspill kan føre til et en vesentlig del av en medisinkur kan ende opp i aktiv form i miljøet. I en fransk studie (Giraud et al., 2006) fant de mer oksolinsyreresistente bakterier i fiskenes tarm etter behandling i et karforsøk, men det ble ikke funnet effekt i mikrobiell fauna i muslinger og sediment i forsøkskarene.

Tabell 4 Antibakterielle midler (kg aktiv substans) brukt i fiskeoppdrett i perioden 2004 – 2013. Tallene er basert på salg fra legemiddelgrossister og fôrfirmaer. (<http://www.fhi.no>).

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Florfenikol	111	202	302	139	166	303	287 ¹	331 ¹	191	300
Flumekin	4	28	7	18	1	1	0	0	0	0
Lincomycin/ Spectinomycin (1:2)			50	66	70	43	57	0 ²	0	0
Oksolinsyre	1035	977	1119	406	681	926	308	212	1399	672
Oksytetracyklin	5	8	0	19	23	40	10	1	1	0
Totalt	1159	1215	1478	648	941	1313	662	544	1591	972

¹⁾Tallet for florfenikol er korrigert for 2010 og 2011.

²⁾ Tallet for lincomycin/spectinomycin er korrigert for 2011.

8.4.1 Opplysninger fra fôrselskap

Fra fôrselskapet Skretting, som er de eneste som markedsfører antibiotikaholdig legemiddelfôr til fisk i Norge, har vi fått følgende opplysninger om forbruk og forbruksmønster (Margunn Sandstad, pers. med.):

1. Valg av preparat

Det er i dag to aktuelle preparater for behandling av fisk mot sår (tabell 5). For florfenikol er de nærmest beslektede preparatene, som brukes til pattedyr og humant, varinater av kloramfenikol. Disse midlene brukes i hovedsak til lokal sårbehandling eller som øyepreparater. For kinoloner er situasjonen mer alvorlig, siden kinoloner og fluorokinoloner er en gruppe bredspektrede legemidler som brukes til systemiske og alvorlige infeksjoner hos menneske; hjernehinnebetennelse, infeksjoner i urinveier (som gonorrhè) og i luftveier. Preparatene brukes også mot penicillinresistente bakterier. Dette er også årsaken til at WHO ønsker at slike midler fases helt ut fra husdyrproduksjonen. Anlegg som skal sertifiseres etter ny ASC-standard vil ikke ha mulighet til å bruke oksolinsyre i sin produksjon.

Fiskehelsebiologer/veterinærer angir dosering etter standardene som er gitt i produktspesifikasjonene (Skretting, 2014). Skretting hadde ikke noen opplysninger om eventuelle tilfeller av over- eller feildosering. Skretting kommenterer også at Floraqpharma vet. har definert bakteriene *Vibrio Salmonicida* og *Aeromonas Salmonicida* som indikasjoner i sin merking. Å bruke dette preparatet for annen indikasjon er «off-label» som etter regelverket gir en tilbakeholdelse på min. 500 døgngader (Se tabell 5).

Tabell 5 Antibiotika til bruk mot sårinfeksjoner hos oppdrettsfisk i Norge 2014 (www.felleskatalogen.no, Skretting preparatomtaler floraquapharma og oxolinsyre, 2009).

Legemiddel	Virkestoff (Stoffgruppe)	Virkemåte	Dosering	Brukes mot	Tilbakeholdstid
Floraquapharma vet. 2g/kg	Florfenikol (Amfenikol)	Bredspektret middel. Bakeriostatisk ved å hemme proteinsyntese	10 mg/kg i 10 dager	Furunkulose Vibriose Kaldtvannsvibriose Ikke Yersinia	150 døgngader Ved sår: 500 døgngader
Oxolinsyre vet. 5g/kg	Oksolinsyre (Kinolon)	Bredspektret middel. Bakeriostatisk ved å hemme DNA-syntese	25 mg/kg i 6 dager (fordelt på 10 dager)	Gram negative bakterier, som: Furunkulose Vibriose Moritella Yersinia	Ca 500 døgngader

2. Kriterier for bruk av medisinfôr mot sår:

På reseptene utskrevet til bruk ved sårproblemer de siste årene er det under indikasjon kun spesifisert «sår», «bakterielle sår» eller «Moritella». En grunn til at det ikke er mer utfyllt i resept kan være at svar fra laboratorium ikke foreligger ved bestilling av medisinfôr. For 90 % av antibiotikareseptene står det b.i. (bakteriell infeksjon) noe som gjør det umulig å si hvilke bakterier som har ført til hvilken medisinkur.

Generelle anbefalinger fra Skretting ved bruk av antibiotika er at man kommer i gang før utbruddet blir for ille. De anbefaler fullføring med medisinfôr, noe de har inntrykk av at de fleste kundene får til. Dette skal gi en mer optimal flokkbehandling ved at enkeltfisk får mindre mulighet til å «velge» bort medisinfôret.

3. Hvilke effektdata ser dere mot sårbakterier, *in vitro*, i forsøk, evt. felldata?

Dette er dokumentasjon som ble utført på 90-tallet og begynnelsen av 2000-tallet og dessverre ikke godt systematisert. Øyvind Berg og Ole Samuelsen har publisert flere artikler ved bruk av antibiotika på torsk. MSD, som har markedsføringstillatelsen på premiks av Floraquapharma vet., kan ha mer detaljert informasjon.

4. Hvilke miljøpåvirkninger kan oppstå ved bruk av medisinfôr?

For substansene oksolinsyre og florfenikol har dette de siste årene vært et lite diskutert tema, fordi forbruket i næringen har vært såpass liten. I 2013 var laks som ble behandlet i sjø i gjennomsnitt ca 300 gram, det vil si at medisinkurene også blir forholdsvis små i antall kg aktiv substans.

5. Rapporteres det om bivirkninger på fisk?

I 2004 ble det etter medisinerings av torsk med florfenikol rapportert forsøket dødelighet. Årsaken til dette var ikke mangler ved selve fôret, vi har ikke avdekket en helt sikker årsak til dette tilfellet. Hos laks har vi ikke registrert noe slikt.

6. Hvilket inntrykk har dere av sårproblemene i næringa de siste 5 årene: settefisk, matfisk, laks / ørret, økt produksjon av postsmolt (stor settefisk i sjøvann, landbasert eller i sjø?)

Vi ser at utfordring med *Tenacibaculum spp.* har ført til noen medisinbehandlinger på laks. Så langt er det få anlegg, med til dels store problemer med sår og dødelighet. Men i næringen sett under ett er dette til nå ikke noe stort problem. Ved produksjon av postsmolt kan behovet for medisinbruk muligens øke i en overgangsperiode fram til denne type produksjon er optimalisert.

7. Hva er volum forbruk av medisinfôr i 2012 og 2013, er det noen forskjeller mellom sesong/region? Kan man si noe om fordeling mellom arter?

Hovedvekten av resepter kommer i juli, august, september. Ingen klar trend på regioner annet enn at enkelte anlegg merker seg ut i antall bestillinger. I 2013 var forholdet regnbueørret: laks mht. antibiotika var ca. 1:2. Noe antibiotika går også til andre arter som rognkjeks, torsk og (kveite).

8.4.2 Oppsummering legemidler

Det er ikke dokumentert at antibiotika i fôr gir tilfredsstillende effekt mot vintersår forårsaket av *M. viscosa* (Coyne et al., 2004; Coyne et al., 2006). Blant annet fordi syke individer allerede har mistet matlysten. Medisinfôr gir terapeutiske konsentrasjoner i vev hos frisk fisk som spiser normalt og kan i behandlingsperioden beskytte disse mot reinfeksjon.

Det er sannsynlig at en god del av utdosert legemiddel kommer over i miljøet på lokaliteten i aktiv form og kan tas opp av vill fauna (Samuelsen et al., 1992).

Det er i flere studier vist at bruk av legemiddelfôr kan føre til økt forekomst av legemiddelresistente bakterier hos oppdrettslaks. Det er også mulig at dette kan skje i vill fauna og/eller i sediment (Hastings & McKay, 1987; Smith, 1986).

Kinoloner er en gruppe legemidler som har stor humanmedisinsk verdi, blant annet til bruk mot penicillinresistente bakterier (gram positive kokker) (www.felleskatalogen.no). Kinoloner brukes jevnlig mot sår/bakterieinfeksjoner på laksefisk.

På denne bakgrunn vil vi tilråde at fôr med antibiotika ikke skal brukes ved indikasjon sår, finneråte eller andre infeksjoner med *M. viscosa* eller *Tenacibaculum spp.*

8.5 Tap grunnet sår i settefiskanlegg, erfaringer og forebyggende tiltak

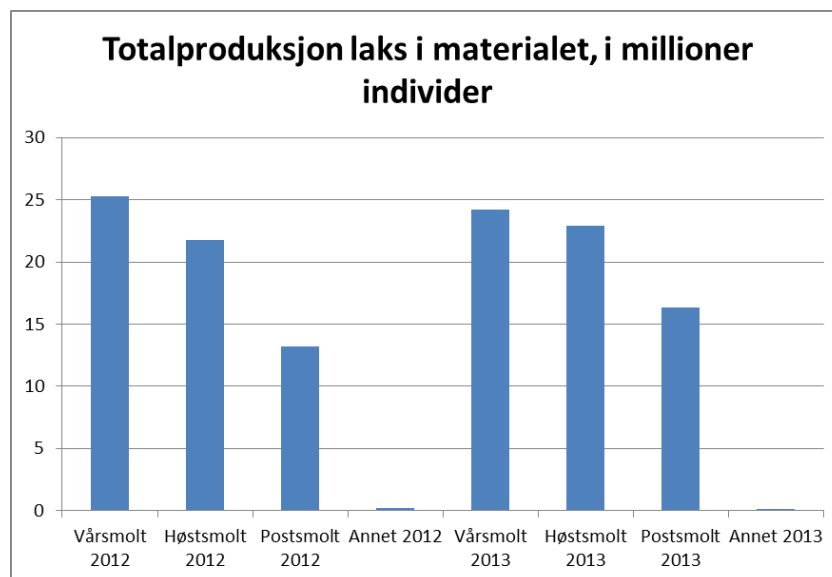
Det ble sendt ut spørreskjema til kontaktpersoner i fem store oppdrettsselskaper i Norge. Hver av disse kontaktpersonene kunne velge om de selv ville fylle ut skjemaene eller om de ville sende skjemaet til andre, f.eks. hver lokalitetsleder, for utfylling. Ett skjema skulle fylles ut for hvert settefiskanlegg. Spørreskjemaet (vedlegg 1) var delt i to hoveddeler. I første del skulle produksjonen og teknologien på anlegget beskrives, samt at det skulle angis om, og eventuelt i hvilken grad, det har

vært problemer med sår. Det ble fokusert på produksjonen i 2012 og 2013. I andre del av spørreskjemaet ble det bedt om utfyllende informasjon; om konkrete episoder med sårproblemer, om avsluttede eller pågående prosjekter på sårproblematikk og om suksesshistorier. I andre del av skjemaet var det også mulighet for gjennom fritekst å formulere hvordan selskapet vurderer årsaker til sårproblematikk og effekten av gjennomførte tiltak. Vi spurte også etter utfyllende informasjon som helse rapporter, laboratoriesvar, og foto.

8.5.1 Oppsummerte resultater fra spørreskjema til settefiskprodusenter

De fem utvalgte oppdrettsselskapene disponerer til sammen ca. 37 settefiskanlegg (Det er totalt ca. 200 settefisktillatelser for laks, regnbueørret og ørret i Norge). Det ble returnert utfylt spørreskjema fra 19 anlegg, som alle produserte bare laks i perioden 1.1.2012 til 31.12.2013. Disse 19 anleggene hadde en total produksjon på ca. 14 millioner yngel og ca. 60 millioner smolt i 2012 og ca. 14 millioner yngel og ca. 63 millioner smolt i 2013, fordelt som angitt i figur 7. Den totale norske produksjonen av laksesmolt var, i henhold til Fiskeridirektoratets statistikk, 285 millioner i 2012 og 297 millioner i 2013. En del av de innleverte spørreskjema var mangelfullt utfylt, og det ble levert svært få vedlegg til spørreskjemaene.

Gjennomstrømningsanlegg dominerer i antall i materialet, men fire anlegg angir at de har brukt resirkulering av vann (RAS) i deler av produksjonen. Syv anlegg hadde saltholdighet i vannet over 20 ‰ og 12 anlegg hadde saltholdighet i vannet under 20 ‰ den siste uken før levering av smolt.



Figur 7 Oppsummerte produksjonstall fra 2012 og 2013 for de anleggene som svarte på spørreundersøkelsen.

13 av 19 anlegg rapporterte at de sorterer dødfisk fra anlegget etter sannsynlig dødsårsak. 11 av disse 13 rapporterer at de registrerer disse data i produksjonsstyringsverktøyet. De øvrige 6 svarte enten at de ikke sorterer dødfisk etter sannsynlig dødsårsak, eller de svarte ikke på spørsmålet. Dermed skal det være mulig å innhente konkret informasjon om dødelighet av fisk med sår fra mange settefiskprodusenter. Viktig tilleggsinformasjon kan være utkast/vraking i forbindelse med sortering og vaksinerings.

Av de 19 anleggene rapporterte 5 anlegg at de i løpet av disse to årene hadde hatt en eller flere episoder med moderate (1-5 % akkumulert avgang) eller store (> 5 % akkumulert avgang) problemer med sår (se tabell 6). Ett anlegg hadde hatt moderate sårproblemer på fisk i yngelstadiet og fem anlegg hadde hatt det på fisk i smolt/postsmolt stadiet.

Alle de fem anleggene som rapporterer om episoder med moderate eller store sårproblemer i løpet av 2012 og/eller 2013 var gjennomstrømmingsanlegg. Av disse brukte fire av anleggene en relativt høy saltholdighet på fisken i uken før utsett. Det femte anlegget med rapporterte sårproblemer brukte lav saltholdighet (ca. 0,5 ‰) på fisken, men hadde svært lav temperatur i vannet i hele vintersesongen. I dette femte anlegget var sårproblemene noe mindre enn i de anleggene som brukte vann med høy saltholdighet.

Imidlertid er det ikke slik i materialet at alle gjennomstrømmingsanlegg som bruker høy saltholdighet før utsett har hatt vesentlige problemer med sår. I spørreskjemaet ble det bare spurt om saltholdigheten den siste uken før levering, og vi vet ikke hvor lang tid det ble brukt høy saltholdighet før utsett.

Åtte anlegg angir at de kjenner til at det har vært moderate eller store sårproblemer på fisk fra deres anlegg, fra de angitte årgangene, første måned etter utsett i sjø. Det er vanlig at settefiskprodusenter ikke har inngående kunnskap om hvordan det går med fisken etter sjøsetting. Likevel er det i materialet flere settefiskprodusenter som vet om sårproblemer på deres fisk etter sjøsetting, selv om de ikke hadde slike problemer mens fisken sto i settefiskanlegget. Fra vår erfaring vil all fisk som kommer fra et settefiskanlegg ha større eller mindre grad av finneskade. Noe vil være avhelet, mens noe vil være ferske skader når fisken settes i sjøen. Dette er også sår, men finneskader regnes som et normalt fenomen ved produksjon av settefisk og blir vanligvis ikke klassifisert som et sårproblem.

Tabell 6 Anlegg med og uten sårproblemer satt opp mot produksjonsteknologi (gjennomstrømming vs. resirkulering –RAS) og saltholdighet i vannet siste uke før utsett. Tabellen angir også antallet anlegg med kjente sårproblemer på fisken etter sjøsetting. Usikkerhet knyttet til saltholdighet siste uke før utsett (angitt i parentes) skyldes at enkelte hadde skrevet inn et intervall for saltholdigheten i skjema. Trolig fordi at saltholdigheten økes gradvis i perioden fram til utsett.

Antall:	Anlegg	Gjennomstrømming	RAS	Saltholdighet siste uke før utsett >20 ‰	Saltholdighet siste uke før utsett <20 ‰	Sårproblemer etter sjøsetting
Anlegg med moderate eller store sårproblemer	5	5	0	4	1	3
Anlegg uten sårproblemer	14	14	4	4 (±1)	10 (±1)	5
Total	19	19	4	8 (±1)	11 (±1)	8

8.5.2 Beskrivelse av sårepisoder hos settefiskprodusenter

I de returnerte spørreskjemaene var det beskrevet totalt 10 episoder med sårproblemer, hvorav bare fire var i henhold til intensjonen i forhold til omfang av problemet (moderate eller store

sårproblemer). I fire av de øvrige episodene var dødeligheten ikke beskrevet, eller ikke i tilstrekkelig grad. De beskrevne episodene er oppsummert i tabell 7 med merknader fra den som utfylte skjemaet.

Tabell 7 Episoder med sårproblemer i settefiskanlegg. Fiskestørrelse, type fisk (Y = yngel, V = vårmolt, H = høstmolt og P = postsmolt), årstid, avgang, temperatur og saltholdighet er angitt i tabellen. Utfyllende informasjon til hver enkelt episode er angitt under.

Nr.	Snittvekt	Type fisk	Når	Akkumulert avgang	Temp	Salt-holdighet
Se merknader under!		Y/V/H/P	Kvartal: 1, 2, 3, 4	L = < 1 % M = 1 – 5 % H = >5%	°C	%
1	51	V	2	?	5,8	34
2	15-40	Y	?	?	14-18	0
3	140	P	2	L	2,5	1
4	30	Y	3	M	12,5	1
5	98	HP	3	L	9,5	34
6	60	VP	2	H	5,5	32
7	7	Y	2	?	5,2	0
8	78	H	3	?	10	0
9	77	V	1 & 2	M	0,5	0,5
10	70	P	1 & 2	H	8-12	32-35

1. Typisk sårisk: Få, store og dype sår på sidene. Ingen utfyllende informasjon.
2. Typisk sårisk: Ett dypt sår på siden. Antatte årsaker er feil fordeling av fôr samt forandring i miljøfaktorer. Tiltak er Protec fôr med god effekt. Ca. 1 hendelse i året, med enkelte kar. Sårene heles ganske fort.
3. Typisk sårisk: Store og små, overflatiske sår på halen, sammen med risttap. Antatte årsaker er mekanisk skade under sortering eller vaksinerings. Trenger fisken for mye. Feil på slanger eller koblinger. Andre diagnoser: HSMB. Behandling med formalin og plukking. Protec fôr. Effekt av tiltak: ja.
4. Typisk sårisk: Få, store og små, dype sår på side og hale. Nitrogenovermetning og IPN. Formalinbehandling hjalp ikke, plukking av sårisk var vanskelig grunnet omfanget. Årsak til nitrogenovermetning er avdekket og skaden utbedret. Hendelsen var en enkelthendelse.
5. Typisk sårisk: Få, små og store, overflatiske sår på siden. Funn av *Vibrio splendidus* og *Photobacterium sp.* Andre diagnoser (tidligere): HSS og POX (gjellevirus).
6. Typisk sårisk: Flere sår - store og små, overflatiske og dype i finnebasis, sammen med finneråte. Sårproblemer oppstod etter to uker på full sjø. Bakteriell sårinfeksjon (tynne filamentøse bakterier) - ikke oppvekst på utstryk.

7. Typisk sårfisk: Få, store og dype sår på sidene. Årsak: høy tetthet i kar. Diagnose: *Flavobacterium sp.* Og *Vibrio sp.* Opplevde god effekt av å gi fisken bedre plass.
8. Typisk sårfisk: Få og store sår på halen. Ingen utfyllende informasjon.
9. Typisk sårfisk: Få, store eller små, overflatiske eller dype sår på rygg. Årsak: Lav temperatur (under 1 grad i nesten 5 mnd.), stor fisk og aggresjon.
10. Typisk sårfisk: Få, store eller små, overflatiske eller dype. Lokalisert til snute/hoderegion, buk, men hovedsakelig til siden på bakre del av fisken. Ukjent årsak/ sammensatt problem - smolt på full sjø, UV-desinfisert dypvann, uklar smoltstatus og finneskader. *Tenacibaculum*, *M. viscosa*, *Yersinia*, *V. logei*, *Pseudomonas*. Behandlet med Florfenikol, også forsøkt behandlet med temperert sjøvann (12-14 grader) uten påvist positiv effekt.

8.5.3 Aktuelle sårprosjekter hos settefiskprodusenter

Det ble etterspurt en beskrivelse av konkrete prosjekter, pågående og avsluttede, i relasjon til anlegget/selskapet, men fikk opplysninger om kun ett slikt prosjekt «Antistoff» er et prosjekt som er initiert grunnet sårproblemer på nylig utsatt smolt – ofte på fiskegrupper som har gått på råvann (lave temperaturer siden vaksinerings). En viss minimumstemperatur er viktig både for å trigge fiskens immunforsvar (effekt av vaksiner), for fiskens generelle helsetilstand og for å minske stress i forbindelse med overgang til sjø. Prosjektet involverer prøvetaking for undersøkning av antistoffnivå på mange sjølokaliteter. Prosjektet har ført til følgende driftstilpasninger i selskapet: (1)Temperaturstyring på settefiskanlegg ved å gi alle smoltgrupper temperert vann (over 6 grader) i minimum 4 uker etter vaksinerings og før utsett i sjø, og temperaturen før utsett tilpasses forventet sjøtemperatur – maks to graders forskjell og (2) de setter ikke ut smolt på lav temperatur. Foreløpige resultater indikerer mindre sårproblemer.

8.5.4 Erfaringer, driftstilpasninger og suksesshistorier hos settefiskprodusenter

Anleggene har forskjellige erfaringer og har gjort ulike tiltak mot sår. Tiltak av typen «manipulering/endring av vannmiljø» (saltholdighet, temperatur, tetthet av fisk) er nevnt hyppig, helsefôr prøves av enkelte, medisinfôr (antibiotika) prøves av enkelte, formalinbehandling, utsortering av sårfisk, vraking av hele parti fisk er nevnt. Erfaringer, driftstilpasninger, suksesshistorier og teorier fra de som fylte ut spørreskjemaene er gjengitt i kulepunktene under – sitert rett fra de utfylte spørreskjema.

- Lett sjøvannstilsetting (ca. 2 ‰) bidrar til heling av sår om sommeren.
- Overgang til RAS. Det er ikke problemer med sår i noen av resirkuleringslinjene, verken ferskvann eller sjøvann (17 ‰). Det er spesielt gledelig at resirkulering med oppvarmet sjøvann fungerer så godt, uten at det blir noe sår på fisken, slik som mange fryktet på forhånd. Andre driftstiltak er utfasing av vakuumpumper. Sneglehuspumper har medført at arbeidsoperasjoner som sortering og flytting skaper mindre sår.
- Vi har som regel fått noe sårproblemer på postsmolt under sortering og vaksinerings tidligere. Dette for at vi som regel har fått et utbrudd av HSMB på denne fisken. Da er den slapp og tåler veldig lite. Ellers så har vi laget oss sjekklister for oppstart av sortering og vaksinerings. Der sjekker

vi alle slanger, koblinger, pumper etc. Dette for at alt skal være i orden og at vi ikke glemmer noe før oppstart. Vi bruker også Protec som forebyggende en god stund før vi starter å behandle fisken, dette da med god effekt. Vi har også brukt Protec på tidlig vinter slik at fisken har bygd opp immunforsvar før vinteren setter inn. Vi har veldig lav vann-temperatur på vinteren. Ned i 0,1-0,3 grader i flere måneder. Derfor er det viktig at vi forbygger med Protec før de lave temperaturene kommer, og at fisken ikke har slitasje.

- Vi har tidligere hatt sår på fisken som følge av finneslitasje og sopp. Ved god fôring, fordeling av fisken og nok vatn/straum unngår ein finneslitasje som fører til sår. Viktig med tidleg behandling med td. Pyzece, for å unngå at sopp sprer seg og ein får sår sekundært. Eg trur at postsmolt som går på gjennomstrømming av UV behandla sjø, er meir utsatt for sår. Dette pga. bakteriefloraen som dannar seg i vatnet etter UV behandling, dette blir vel det samme som for oppstart av RAS, der ein får såkalla «sinte» bakteriar før ein har ein god bakteriekultur. Har meir tru på postsmolt i eit RAS anlegg med godt vannmiljø.
- Erfaringer er at sårproblematikk oppstår 2-4 uker etter salinitet > 15 ‰. Denne erfaringen har vi på alle settefiskanlegg i området som bruker sjøvann (2 settefiskanlegg). Samtidig er erfaringen at salinitet på > 10-11 ‰ hindrer desmoltifisering (NB! Vi har ikke prøvd lavere salinitet, men går ut i fra at vi må over denne grensen siden fisken i utgangspunktet er 10 ‰. Dette ut i fra at fisken da må pumpe ut salter og opprettholder dermed smoltifiseringen. Men her spiller nok flere ting inn som eksempelvis ionemengder og ionsesammensetninger i ferskvannet). For å være sikker på å hindre sår og desmoltifisering kjører vi dermed nå postsmolt på 14-15 ‰. Tiden det tar for fremkomst av sår ved > 15 ‰ er generelt avhengig av temperatur (kortere fremkomsttid jo lavere temperatur) og salinitet (kortere fremkomsttid jo høyere salinitet). Ved reversering til 14-15 ‰ stopper sårutviklingen opp tilnærmet momentant og denne reverseringen kan gjøres uten tilvenningstid (fisken takler det uten problemer). Promillegrensen vi har erfart kan kanskje ha sin forklaring i trivselsforhold for sår bakterier (*Tenacibaculum spp.* og *M. viscosa*) og osmotiske forhold for fisken ved at den slipper å bruke så mye energi på å pumpe ut salter. Videre erfaringer er at smolt krever lavere tetthet enn tidligere stadier i forhold til sårutvikling. Noe av dette kan komme av at smolt i utgangspunktet er tynnere i huden og har mindre slimceller i huden, noe som hypotetisk gjør den mer utsatt for å få sår. Erfaringen er også at lave temperaturer <6-7 °C er skumlere enn høyere temperaturer i forhold til sårutvikling. Dette har nok blant annet med optimal temperatur for sår bakterier og optimaltemperatur for fisk i forhold til reparasjon av hudskader og funksjon av immunforsvar. Ved utsett på sjølokalteter er erfaringen at temperatur < 6-7 °C er skummel. Spesielt hvis temperaturen heller ikke er stigende. Da oppstår ofte sår rundt 2 uker etter utsett. Dette har vi også erfart hos fisk som ved utsett ikke hadde noe finneslitasje eller andre brutte hudbarrierer, altså utseendemessig lytefri fisk.
- Vi ser at da fisken får bedre plass og mer vanngjennomstrømming blir det bedre. Hvis dette kan skje i forbindelse med en vaksinerings der vi får tatt ut de som har sår blir det bra.
- Vi har sårproblematikk kun på 1-årsproduksjonen. Dette settes i sammenheng med svært lav temperatur på vinteren (2-4 måneder med temperatur under ≤ 1 °C) med resulterende hemming av reparasjon og regenerasjon.
- Enkelte utsett av smolt med veldig høy dødelighet pga sår etter utsett i sjø. Ofte *Tenacibaculum*-diagnoser og dødelighet opptrer ca 14 dager etter utsett. Risikofaktorer er lave temperaturer i

første rekke på ferskvannet i settefiskanlegget ved utsett, samt lav temperatur i settefiskfasen etter vaksinerings. Lave sjøvannstemperaturer ved utsett er også en risikofaktor, men betyr mindre enn ferskvannstemperatur. *Tenacibaculum* er ofte ikke et problem på temperaturer over 7 grader i sjøvann. Det er viktig å tune temperatur på ferskvannet i settefiskanlegget til sjøvannstemperatur på lokaliteten smolten skal settes ut på. Maks differanse er 2 grader. Utsett av smolt på sjøvannstemperatur under 7 grader øker risiko betydelig.

- Har ett tilfelle på 2012 generasjon med høy dødelighet som følge av sårutvikling kort tid etter utsett – diagnose *Tenacibaculum*. Usikkert om fisken ble smittet av tidligere utsatt smolt på lokaliteten med pågående *Tenacibaculum*-infeksjon.
- Setter generelt ut 1-åringer seint på våren for å unngå sårproblemer (etter 15. april).
- 1-åringene settes ut seint på våren for å unngå sårproblematikk – må over 4 grader i Nord-Norge.

Settefisknæringen i Norge har sannsynligvis en noenlunde ensartet målsetting om å produsere mest mulig fisk av god kvalitet og til lavest mulig kostnad, men forholdene fisken produseres under varierer stort. Det er stor variasjon i faktorer som for eksempel karstørrelse, tetthet, vannutskiftning, temperatur, saltholdighet, fôrtype og fôringsregime. Med et så variert grunnlag er det svært krevende å få til en fullgod sammenligning av de forskjellige produksjonene i forhold til sår. Når sår i tillegg kan ha en rekke ulike årsaker er bildet enda mer komplisert.

Grunnlagsmaterialet i denne undersøkelsen vurderes å være for lite og usikkert til å være grunnlag for konklusjoner vedrørende de sentrale spørsmålene som i utgangspunktet ble stilt. Likevel tyder undersøkelsen på at det generelt er mindre problemer med sår i settefiskfasen enn i sjøfasen. Trolig er den gjennomsnittlige dødeligheten som følge av sår lav i settefiskbransjen, men i enkelte anlegg og i enkelte parti fisk er problemet betydelig. De mest alvorlige tilfellene av sårproblemer i settefiskanlegg ble rapportert fra gjennomstrømningsanlegg med utstrakt bruk av sjøvann.

8.6 Tap grunnet sår i sjøanlegg –TALFS

Denne delen av kartleggingen er basert på resultatene fra Mattilsynets nylig gjennomførte prosjekt *Tap av laksefisk i sjø* (TALFS).

TALFS var en landsomfattende og retrospektiv undersøkelse med formål å avklare årsaker til svinn av oppdrettet laks og regnbueørret av matfiskgenerasjonene høst 2010, vår 2011 og høst 2011. Undersøkelsen ble ledet av Mattilsynet og finansiert av FHF. Sluttrapporten ble publisert i august 2014.

I TALFS ble data innhentet etter at fisken var slaktet og etter at kalkyler for biologisk prestasjon var tilgjengelig. Produksjonsdata ble hentet ved hjelp av spørreskjemaer som ble fylt ut av ansvarlige for lokaliteten. Ett skjema skulle fylles ut for hver gruppe fisk. En gruppe ble definert som ensartet smolt fra et settefiskanlegg satt i sjøen på en bestemt lokalitet i løpet av et kort tidsintervall. Data for omfang og årsaker til tap av fisk ble delt i tre tidsintervall: fra sjøsetting til og med den tredje påfølgende hele måneden, fra og med fjerde måned til og med den 10. måneden, og fra den 11. måneden til utslakting. Registrert svinn for hvert tidsintervall ble oppgitt i absolutte tall og fordelt på svinnårsaker. Svinnårsakene ble gruppert i fem årsaks kategorier: settefiskkvalitet, infeksjoner,

mekanisk skade, miljørelaterte årsaker og diverse årsaker. Årsakskategoriene og svinnårsakene er gjengitt i tabell 8.

Tabell 8 Årsakskategorier og årsaker i TALFS. Uthevede svinnårsaker (kanskje flere) antas å kunne inneholde en del «sår fisk».

Årsakskategori	Svinnårsak
Settefiskkvalitet	<ul style="list-style-type: none"> *Mangelfull smoltifisering *Tapere fra settefiskanlegget *Gjellesykdom ved utsett *Annet (beskriv)
Mekanisk påvirkning	<ul style="list-style-type: none"> *Skade under transport frem til merd *Mekanisk skade i merd (hopping, hudskader, klemskader etc.) *Fysisk skade ved avlusing *Fysisk skade ved annen håndtering (splitting, sortering, flytting) *Predatorskader (sel, oter, fugl, fisk etc.) *Annet (beskriv)
Infeksjonssykdommer	<ul style="list-style-type: none"> *IPN *HSMB *PD *CMS *ILA *Sår med infeksjon (eksempelvis vintersår) *AGD Gjelleamøber *Gjellebetennelser *Annet (beskriv)
Miljørelatert dødelighet	<ul style="list-style-type: none"> *Oksygensvikt *Ekstrem strøm *Gassbobling *Alger i sjø *Annet (beskriv)
Diverse	<ul style="list-style-type: none"> *Uten diagnose (ingen kliniske tegn) *Mangelfull registrering *Kjønnsmodning *Aktiv destruksjon (eksempelvis ved sortering) *Rømt fisk *Fisk tatt ut til prøver (kvalitet/helse) *Annet (beskriv)

8.6.1 Resultater for sårkartlegging i sjø –TALFS

I TALFS-undersøkelsen ble det samlet inn data fra totalt 1066 grupper (979 grupper laks og 87 grupper regnbueørret) fordelt på 318 matfisklokaliteter, som representerte 59 eiere. Det ble registrert 307 millioner smolt, som ble levert fra 139 settefiskanlegg. Om lag 80 % av all sjøsatt fisk i perioden var omfattet av undersøkelsen. Registrert svinn var 16,3 % for laks og 18,3 % for regnbueørret. Gjennomsnittlig uregistrert svinn ble kalkulert til 1,3-2,3 % for hele generasjonen. Det var betydelige geografiske variasjoner i både omfang og årsaker til svinn. Det var også store variasjoner mellom grupper og lokaliteter. Finnmark hadde høyest svinn, og Nordland lavest. En liten andel av fiskegruppene viste seg å trekke gjennomsnittet betydelig opp. Det registrerte svinnet, fordelt på årsak, tidsbolk og generasjon er gjengitt i tabell 9.

Tabell 9 Alle registrerte svinnårsaker, per tidsbolk og generasjon (figuren fortsetter på neste side). Alle tall angitt som prosent av totalt antall fisk satt ut pr generasjon (TALFS-rapport, s. 13 & 14 appendiks, Fig 7.2.12.).

Alle registrerte svinnårsaker fordelt oppgitt årsak, på tidsbolk og generasjon: Oppgitt som prosent av innsatt mengde individ ved utsett					
Årsak	Tidsperiode	h2010	v2011	h2011	Total
Svinn totalt:	0-3mnd	5,380	5,651	3,434	4,986
	4-10mnd	5,421	5,352	5,858	5,506
	11mnd-slakt	4,633	3,512	4,919	4,270
Manglende smoltifisering:	0-3mnd	0,693	0,553	0,412	0,567
	4-10mnd	0,013	0,001	0,008	0,007
	11mnd-slakt	0,017	0,000	0,023	0,012
Fysisk skade avlusing	0-3mnd	0,020	-	0,018	0,011
	4-10mnd	0,122	0,042	0,114	0,089
	11mnd-slakt	0,308	0,223	0,430	0,306
Skade håndtering	0-3mnd	0,052	0,006	0,031	0,029
	4-10mnd	0,014	0,060	0,211	0,083
	11mnd-slakt	0,092	0,096	0,064	0,087
Tapere	0-3mnd	0,278	0,462	0,788	0,481
	4-10mnd	0,318	0,802	0,282	0,497
	11mnd-slakt	0,048	0,086	0,183	0,097
Gjellsyk ved utsett	0-3mnd	0,794	0,132	-	0,332
	4-10mnd	-	0,005	-	0,002
	11mnd-slakt	-	0,006	-	0,002
Annet smolt	0-3mnd	0,885	0,101	0,088	0,375
	4-10mnd	0,150	0,016	0,008	0,061
	11mnd-slakt	0,017	0,011	0,000	0,010
Transportskade	0-3mnd	0,168	0,202	0,340	0,225
	4-10mnd	0,040	0,002	0,026	0,022
	11mnd-slakt	0,001	0,007	0,005	0,004
Mekanisk skade i merd	0-3mnd	0,085	0,093	0,010	0,069
	4-10mnd	0,143	0,328	0,016	0,182
	11mnd-slakt	0,042	0,019	0,071	0,040
Predator	0-3mnd	0,114	0,025	0,067	0,067
	4-10mnd	0,087	0,054	0,059	0,067
	11mnd-slakt	0,015	0,007	0,002	0,008
IPN	0-3mnd	0,746	1,770	0,576	1,101
	4-10mnd	0,651	0,548	0,344	0,532
	11mnd-slakt	0,004	0,070	0,008	0,031
HSMB	0-3mnd	0,010	0,022	0,025	0,018
	4-10mnd	0,431	0,199	0,144	0,267
	11mnd-slakt	0,283	0,171	0,098	0,192
PD	0-3mnd	0,001	0,064	0,030	0,033
	4-10mnd	0,835	0,311	3,017	1,191
	11mnd-slakt	1,035	0,323	0,901	0,723
CMS	0-3mnd	0,003	-	-	0,001
	4-10mnd	0,014	0,011	0,006	0,011
	11mnd-slakt	0,170	0,078	0,721	0,275
ILA	0-3mnd	-	-	-	-
	4-10mnd	0,006	-	0,001	0,002
	11mnd-slakt	0,001	-	0,003	0,001

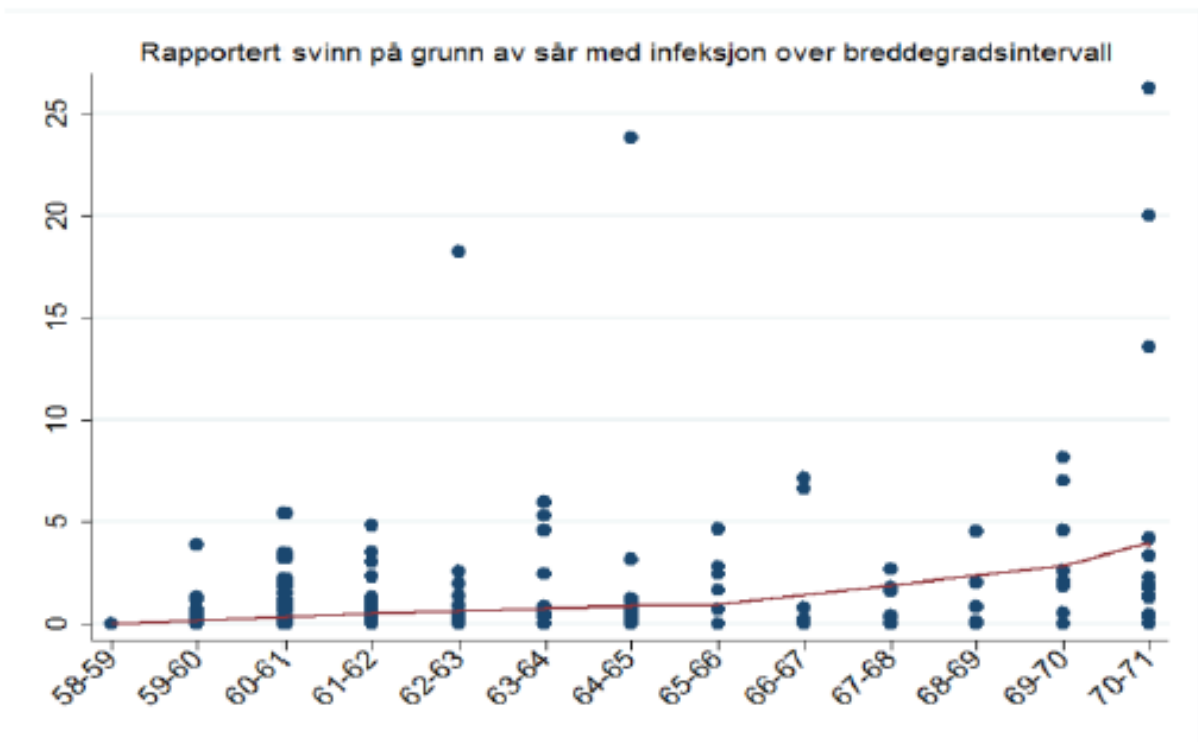
Tabell 9 (forts.) Alle registrerte svinnårsaker, per tidsbolk og generasjon. Alle tall angitt som prosent av totalt antall fisk satt ut pr generasjon (TALFS-rapport, s. 13 & 14 appendiks, Fig 7.2.12. (Forts.)).

Fortsettelse fra forrige side, alle årsaker:					
Årsak:	Tidsperiode	h2010	v2011	h2011	Total
Sår:	0-3mnd	0,304	0,953	0,091	0,502
	4-10mnd	0,708	0,342	0,279	0,455
	11mnd-slakt	0,150	0,219	0,163	0,180
Gjellebetennelse	0-3mnd	0,166	0,027	0,013	0,073
	4-10mnd	0,166	0,027	0,013	0,073
	11mnd-slakt	0,166	0,027	0,013	0,073
Annet infeksjon	0-3mnd	0,077	0,065	0,038	0,062
	4-10mnd	0,275	0,380	0,145	0,282
	11mnd-slakt	0,115	0,212	0,081	0,144
Oksygensvikt	0-3mnd	0,004	0,012	-	0,006
	4-10mnd	0,005	0,006	0,004	0,005
	11mnd-slakt	0,104	0,011	-	0,041
Strøm	0-3mnd	0,019	-	0,022	0,012
	4-10mnd	0,066	0,018	0,019	0,035
	11mnd-slakt	0,055	0,010	-	0,024
Alger	0-3mnd	-	0,057	-	0,022
	4-10mnd	-	0,076	0,001	0,030
	11mnd-slakt	0,031	0,147	0,003	0,069
Annet miljø	0-3mnd	-	0,000	0,003	0,001
	4-10mnd	-	0,002	0,011	0,004
	11mnd-slakt	-	0,195	0,013	0,079
Uten diagnose	0-3mnd	0,812	0,828	0,604	0,765
	4-10mnd	1,044	1,171	0,782	1,026
	11mnd-slakt	1,065	0,931	1,213	1,051
Manglete registrering	0-3mnd	0,069	0,143	0,126	0,113
	4-10mnd	0,097	0,137	0,024	0,094
	11mnd-slakt	0,451	0,531	0,216	0,422
Kjønnsmodning	0-3mnd	-	-	0,000	0,000
	4-10mnd	0,002	0,000	0,006	0,002
	11mnd-slakt	0,068	0,009	0,080	0,048
Destruert	0-3mnd	0,003	0,006	0,007	0,005
	4-10mnd	0,003	0,252	0,047	0,111
	11mnd-slakt	0,009	0,025	0,016	0,017
Rømt	0-3mnd	-	-	0,043	0,011
	4-10mnd	-	0,002	-	0,001
	11mnd-slakt	-	-	-	-
Prøvetatt	0-3mnd	0,008	0,003	0,006	0,005
	4-10mnd	0,014	0,006	0,012	0,010
	11mnd-slakt	0,032	0,011	0,041	0,026
Annet diverse	0-3mnd	0,056	0,057	0,085	0,064
	4-10mnd	0,164	0,087	0,229	0,151
	11mnd-slakt	0,064	0,016	0,051	0,042
AGD	0-3mnd	-	-	-	-
	4-10mnd	-	-	-	-
	11mnd-slakt	-	-	-	-
Gass	0-3mnd	-	-	-	-
	4-10mnd	-	-	-	-
	11mnd-slakt	-	-	-	-

Tabell 10 gir mer detaljert informasjon om svinnekategorien «sår med infeksjon». Det er satt opp gjennomsnitt, standardavvik, minimums og maksimumsverdier for dødelighet på gruppe- og lokalitetsnivå samt pr tidsenhet. På enkelte lokaliteter har det dødd svært mye fisk med sår. En indikasjon på at vinteren/våren er den verste perioden, når det gjelder sår, ser en på forskjellen mellom vårfisk og høstfisk. Vårfisken har størst sårproblemer de første tre måneder etter utsett, mens høstfisken har størst problemer i perioden 4-10 måneder etter utsett (det antas her at dette gjelder vinter/vår). Figur 8 viser at kategorien «sår med infeksjon» ga mest registrert svinn i Nord-Norge.

Tabell 10 Registrert svinn der sår er årsak (TALFS-rapporten, s. 7 i appendiks, Fig 7.2.6.).

Registrert svinn der sår er registrert som dødelighetsårsak:									
		Totalt sjø	0-3 måneder	4-10 måneder	11 m - slakt	Totalt sjø	0-3 måneder	4-10 måneder	11 m - slakt
		% døde av sår	% døde av sår	% døde av sår	% døde av sår	% døde av sår	% døde av sår	% døde av sår	% døde av sår
Generasjon\	Nivå:	gruppenivå	gruppenivå	gruppenivå	gruppenivå	lokalitetsnivå	lokalitetsnivå	lokalitetsnivå	lokalitetsnivå
h2010	mean	1,2	0,3	0,7	0,2	1,2	0,3	0,7	0,1
	SD	3,6	1,6	2,4	0,5	3,5	1,6	2,2	0,5
	min	-	-	-	-	-	-	-	-
	max	35,5	18,2	22,4	4,7	23,9	18,2	13,8	3,3
v2011	mean	1,5	1,0	0,3	0,2	1,5	0,9	0,3	0,2
	SD	4,9	4,1	1,5	1,1	4,2	3,7	1,0	0,7
	min	-	-	-	-	-	-	-	-
	max	45,5	45,5	17,3	14,8	26,3	25,2	6,2	5,5
h2011	mean	0,5	0,1	0,3	0,2	0,5	0,1	0,3	0,2
	SD	1,0	0,4	0,7	0,4	0,9	0,3	0,6	0,4
	min	-	-	-	-	-	-	-	-
	max	6,9	5,0	5,1	2,6	3,9	3,2	3,1	2,2
Total	mean	1,1	0,5	0,5	0,2	1,2	0,5	0,5	0,2
	SD	3,8	2,7	1,7	0,8	3,4	2,5	1,5	0,5
	min	-	-	-	-	-	-	-	-
	max	45,5	45,5	22,4	14,8	26,3	25,2	13,8	5,5



Figur 8 Sammenhengen mellom svinn relatert til sår og breddegradsintervall (hvilke to hele breddegrader sjølokaliteten ligger mellom) (Fig 3.5.1.b s 27 i TALFS-rapporten).

Rådata for TALFS-rapporten er spørreskjema utfylt av oppdrettere. Den innrapporterte dødeligheten, i antall på gruppenivå og i de ulike periodene, tror vi er relativt pålitelig. Det uregistrerte svinn (differansen mellom utsatt antall smolt og summen av antall slaktet fisk og registrert svinn) var i undersøkelsen på 1,3-2,3 %. Når det gjelder inndelingen av dødeligheten i ulike svinnårsaker antas usikkerheten å være noe større.

Svinnårsaken «Sår med infeksjon» utgjør i henhold til TALFS i gjennomsnitt 1,1 % avgang (gruppenivå, Tabell 10). Dersom en inkluderer andre svinnårsaker, som potensielt kan ha vært fisk med sår (uthevet i tabell 8 og listet i tabell 9), blir andelen svinn ca. 2,5 %. På denne bakgrunnen er et forsiktig anslag at den gjennomsnittlige avgangen av fisk med sår ligger mellom 1,1 og 2,5 %. Av en total produksjon på (80 % = 307 mill.) 384 millioner individer (satt ut i generasjonene h10, v11 og h11) vil dette medføre at totalt mellom 4,2 og 9,6 millioner laksefisk døde med eller på grunn av sår i løpet av denne produksjonen.

I en annen studie av årsakspesifikke dødsårsaker, de tre første månedene etter utsett av høstsmolt (S0), i 20 merder fordelt på 10 lokaliteter, ble det registrert 2,1 % samlet dødelighet (Aunsmo et al., 2008). I denne studien var sår den klart viktigste dødsårsaken og sto for 43 % av all dødelighet, det vil si at det i de tre første månedene døde 0,9 % av all utsatt fisk på grunn av sår. Dette er noe høyere verdier enn de tallene som nå er presentert gjennom TALFS, spesielt når det gjelder høstsmolt. I henhold til TALFS-rapporten er dødeligheten blant høstsmolt høyest i perioden 4 – 10 måneder etter utsett. Ett annet viktig funn (Aunsmo et al., 2008) var at størsteparten av dødeligheten forekom som episodiske hendelser på merdnivå, i studiepopulasjonen var det 20 % av merdene som sto for 73 % av den registrerte dødeligheten.

I regelverket er det ikke krav til at dødfisk skal registreres fortløpende på dødsårsak. På noen lokaliteter gjøres dette likevel, men på andre gjøres det enten ikke eller bare sporadisk. Dersom en driftsleder i etterkant skal gå tilbake og rekonstruere dødeligheten i løpet av en generasjon på egen lokalitet kan det ikke forventes det store presisjonsnivået. Er den som fyller ut skjemaet produksjonssjef eller lignende og har flere lokaliteter å rapportere for blir antakelig presisjonsnivået enda dårligere.

Ved forhøyet dødelighet er oppdretteren pålagt å sørge for at autorisert fiskehelsepersonell stiller en diagnose. Men hvor lenge varer denne diagnosen? Det kan være flere diagnoser på samme fiskegruppe på samme tid – hvilken svinnårsak plasseres dødfisken i da, eventuelt etter hvilken prosentfordeling. Dette er sentrale metodiske utfordringer ved innsamling av slike felldata, og et problem alle fiskehelsetjenester også står overfor når en helsestatus for en lokalitet eller et utsett skal gjøres opp.

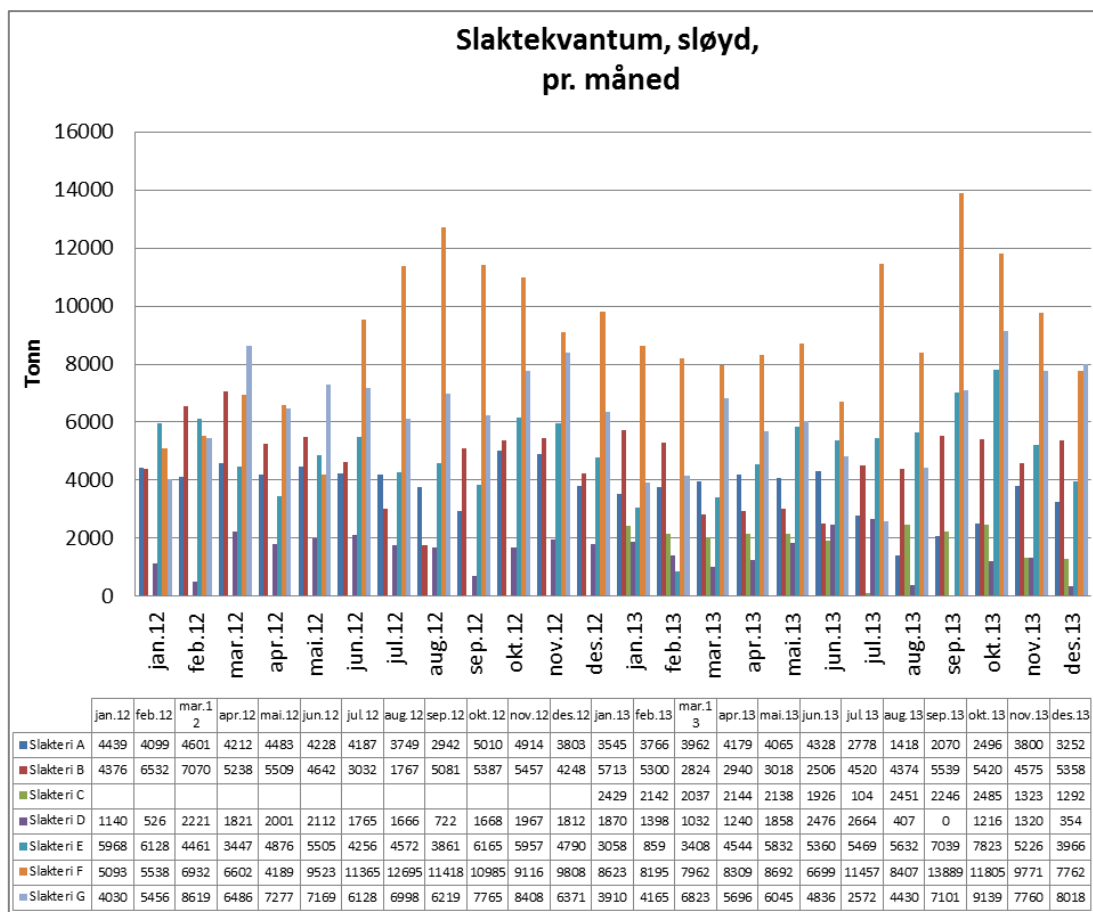
De ulike svinnårsakene (tabell 8) ble ikke nærmere definert i forbindelse med utsendelse av spørreskjemaene. Noen svinnårsaker er i utgangspunktet mer klart definert enn andre, f.eks. må enkelte diagnoser godkjennes av offentlig laboratorium etter fastsatte kriterier. En utfordring ved disse er å definere en klar start/slutt og hvilken andel av fisken som døde av denne lidelse. Andre svinnårsaker er mer vage i definisjonen, for eksempel kan det kliniske funnet «sår» være resultatet av en mengde ulike årsaker. Svinnårsaken «sår med infeksjon» i TALFS-rapporten var ikke forbundet med et dokumentasjonskrav, som for eksempel prøvesvar fra laboratorium. I tabell 8 er det uthevet svinnårsaker som etter vår mening kan bestå av en stor andel «sår fisk». Det kan hevdes at det blir feil å trekke inn svinnårsaker der sår ikke er nevnt i navnet/definisjonen inn i en gruppe som kalles sår. Men på den annen side: det kan ikke utelukkes at det under årsaken «sår med infeksjon» ikke skjuler seg noen fisker der såret startet med en mekanisk skade.

8.7 Nedklassing på slakteri grunnet sår

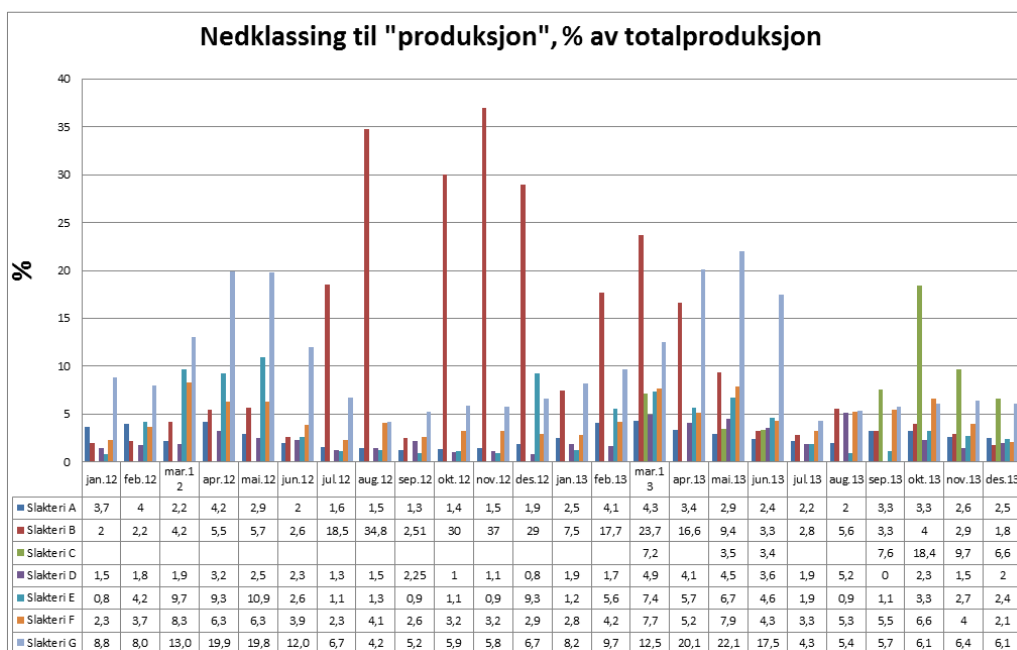
Ikke all fisk med sår dør som følge av dette, men lever med sår helt fram til slakt. Derfor ble det utarbeidet, som et supplement til TALFS-dataene, et spørreskjema om nedklassifisering grunnet sår på slakterier. I henhold til Norsk Bransjestandard for fisk (NBS 10-01, Kvalitetsgradering av oppdrettet laks, (http://fhl.nsp01cp.nhosp.no/files/Standard_Kvalitetsgradering_av_oppdrettet_laks.pdf) skal fisk med åpne sår ved slakt sorteres til klassen «produksjon». I spørreskjemaet ble det spurt etter det totale slaktekvantum i perioden 1.1.2012 tom. 31.12.2013, dessuten om andelen nedklassifisert fisk til klassen produksjon, og om andelen sår fisk av denne. Spørreskjemaet (vedlegg 2) ble sendt til en kontaktperson i hvert av fem store oppdrettsfirma i Norge, og disse kunne enten besvare skjemaene selv eller sende det videre til andre aktuelle personer i selskapet.

De fem selskapene som fikk utlevert spørreskjema disponerer totalt 13 slakterier. Av disse 13 slakteriene returnerte 9 slakterier et utfylt spørreskjema, hvorav ett skjema var summerte data fra tre slakterier (slakteri F, figur 9). I materialet under omtales dermed 7 slakterier.

Ingen av de slakteriene som svarte på spørreundersøkelsen hadde slaktet regnbueørret i løpet av perioden. Det samlede kvantum laks (sløyd vekt) slaktet på disse 9 anleggene i løpet av 2012 og 2013 var ca. 745 000 tonn, hvilket tilsvarer omtrent en tredel av den samlede norske produksjonen i disse årene.

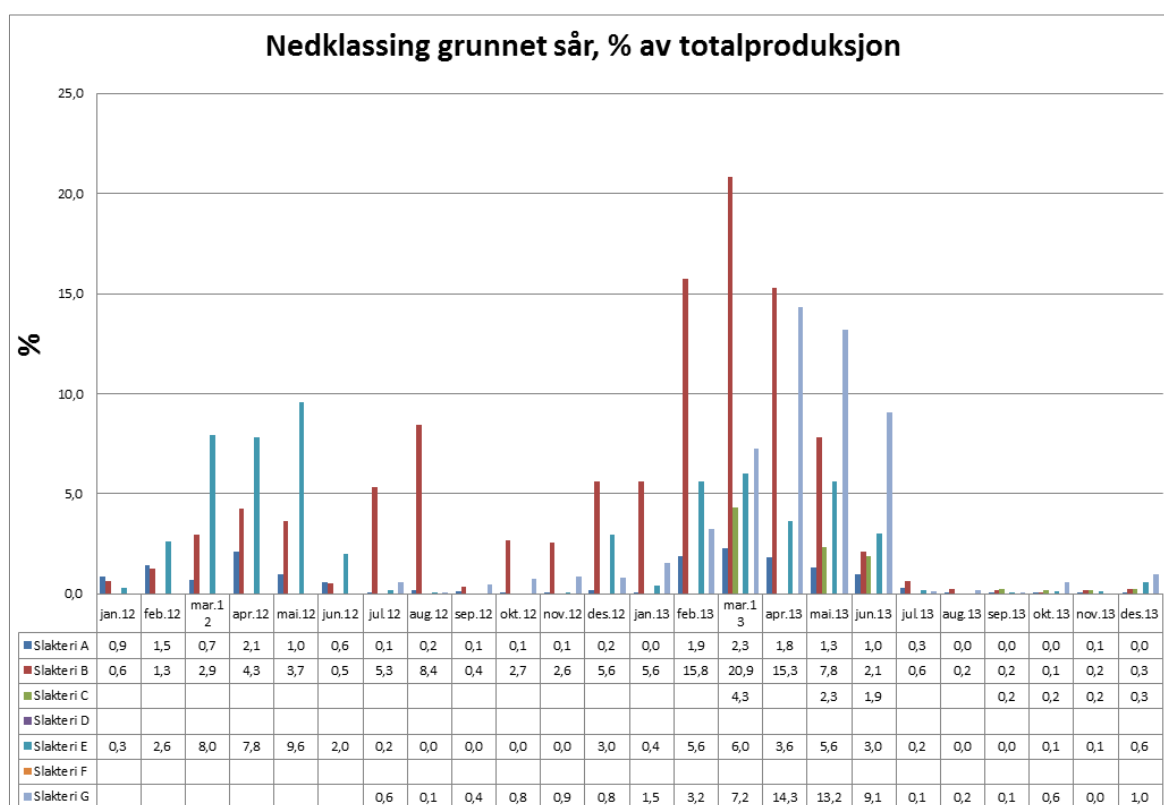


Figur 9 Slaktekvantum, sløyd vekt, per slakteri per måned. Slakteri F er summerte data fra tre slakterier. Åpne felter skyldes manglende data. Det ble samlet inn et godt datamateriale fra slakteriene med opplysninger om andelen fisk sortert til klassen «produksjon». Dette er data som gjelder den samlede produksjonen og tallene er derfor pålitelige (figur 10).



Figur 10 Andel fisk %, av totalkvantum slaktet, sortert til klassen «produksjon» per slakteri og per måned. Slakteri F er data fra tre slakterier. Åpne felter skyldes manglende data.

Når det gjelder årsakene til nedklassing baseres dette stort sett på såkalte «100-fisk skjema». 100 fisker tas tilfeldig ut på slaktelinjen, en eller flere ganger daglig. Den uttatte fisken graderes og årsakene til nedklassing noteres i skjemaet. Ikke alle selskapene har registrert resultatet av 100-fisk skjema i sin database. Derfor ble det bare fullstendige data om andelen sårisk blant fisk nedklassifisert til «produksjon» fra tre av slakteriene (figur 11). Tallene viser at sår kan være en til dels betydelig årsak til nedklassing av fisk på slakteriene. Figur 11 viser også at sår har en sesongmessig variasjon, det slaktes mest fisk med sår i perioden med lavest sjøtemperatur. I og med at registreringen på nedklassingsårsaker er knyttet til stikkprøver er overføringen til det totale slaktekvantum forbundet med stor usikkerhet. Ett annet viktig problem kan være at det på samme fisk kan være flere årsaker til nedklassing, og det kan føre til at noen funn forsvinner uten å bli registrert. At fisken har synlige sår er lett å registrere og risikoen for underregistrering av antas derfor å være relativt liten.



Figur 11 Andel fisk, av totalkvantum slaktet, nedklasset til «produksjon» grunnet sår, per slakteri og per måned. Slakteri F er data fra tre slakterier. Åpne felter skyldes manglende data.

Nedklassifiseringen til «produksjon» varierer stort mellom slakteriene og over året. Den gjennomsnittlige nedklassingen til produksjon var lavest hos slakteri D (2,3 %) og høyest hos slakteri B (11,4 %). Av produksjonsfisken er sår oppgitt å være årsaken til nedklassing i gjennomsnitt 20 – 40 % av tilfellene (tabell 11).

Tabell 11 Nedklassing av fisk til produksjon og derav andelen sårfisk. Gjennomsnittstall for årene 2012 og 2013 for 7 (9) slakterier. Slakteri F er data fra tre slakterier. Åpne felter skyldes manglende data.

	Gjennomsnittlig andel (%) produksjonsfisk av totalt slaktekvantum 2012 og 2013	Gjennomsnittlig andel (%) sår av produksjon
Slakteri A	2,7	21,6
Slakteri B	11,4	40,4
Slakteri C	8,1	27,4
Slakteri D	2,3	
Slakteri E	4	39,9
Slakteri F	4,5	
Slakteri G	10	21,5

I tabell 12 er oppsummert resultatene fra de tre slakteriene som leverte det mest komplette tallmaterialet for hele perioden. Det verste eksemplet med hensyn på sår var Slakteri B, der det i løpet av 2012 og 2013 ble slaktet totalt ca. 110 000 tonn laks (sløyd vekt). Av disse ble ca. 4200 tonn sortert til «produksjon» grunnet sår, noe som tilsvarer ca. 3,8 % eller ca. 930 000 individer.

Tabell 12 Total produksjon, nedklassing av fisk til produksjon og derav andelen sårfisk. Gjennomsnittstall for årene 2012 og 2013 for 3 slakterier.

	Slakteri A	Slakteri B	Slakteri E
Totalproduksjon 2012 og 2013, tonn	90 326	110 426	118 202
Total mengde sårfisk 2012 & 2013, tonn	669	4180	2504
Andel sårfisk av total 2012 & 2013, %	0,7	3,8	2,1
Ca. antall sårfisk slaktet i 2012 og 2013	149 000	929 000	556 000

Tallmaterialet fra slakteriene viser at sår er en periodevis betydelig årsak til nedklassing av fisk. Forekomsten av sår har en sesongmessig variasjon, det slaktes mest fisk med sår i perioden med lavest sjøtemperatur. Av den fisken som overlever fram til slakt anslås, med basis i denne undersøkelse, at mellom 0,7 og 3,8 % har så stygge sår at de blir nedklasset til produksjonsfisk.

9 FoU- og kunnskapsbehov

Denne utredningen tydeliggjør at det er stort behov for kunnskap om huden som førstelinjeforsvar mot påvirkning fra oppdrettsmiljøet og organismer som kan gi sykdom. Det synes klart at både oppdrettsmiljø og ernæring påvirker hudens motstandskraft, men kunnskap om hvilke driftsstrategier og optimaliseringstiltak som bør iverksettes, er svært begrenset. En forutsetning for effektiv drifts- og ernæringsoptimalisering er tilgang på bedre overvåkingsverktøy for evaluering av hudhelse status. Tilsvarende er det foruroligende lite grunnleggende kunnskap om både kjente og potensielt ukjente mikroorganismer som truer hudens førstelinjeforsvar og som forårsaker sår. Det synes klart at FoU innsatsen må inkludere både grunnleggende forskning som hever det generelle kunnskapsnivået og anvendt forskning som både fokuserer på bedre epidemiologisk forståelse og vitenskapelig evaluering av driftsoptimaliseringstiltak. Sårproblemene er aller størst første vinter og vår etter sjøutsett så et viktig fokus bør være på smolt og postsmolt fasen, men senere sjøfase er også viktig. Introduksjon av stadig større settefisk-produksjon i resirkuleringsanlegg (RAS) fordrer mer kunnskap om hvordan denne type driftsmiljø påvirker hudkvaliteten og tilsvarende blir det viktig å ha fokus på postsmolt produksjon i RAS og lukkede anlegg.

Eksempler på FoU-problemstillinger og kunnskapsbehov:

1. Generell kunnskap om hudkvalitet og sår

- Øke kunnskapen om hudens egenart og barrierefunksjon og dens forsvarssystemer mot infeksjon.
 - mukus
 - antimikrobielle peptid og andre komponenter av det uspesifikke immunforsvar
 - spesifikke immunforsvar
 - strukturell forståelse av vevssammensetning og funksjonalitet
- Kunnskap om vevsreparasjon
 - mekanismer
 - abiotisk påvirkning
 - hvor lang tid trenger sår av ulik størrelse og karakter på å hèle for å unngå sekundærinfeksjon og nedklassing på slakteri.
- Systemisk forståelse av huden i lys av fiskens fysiologi
 - sirkulasjonssystem
 - osmoregulering
- Kunnskap om laksens naturlige mikrobiota samfunn (hud, gjeller, tarm)
 - ulike livsstadier
 - påvirkning av vannmiljø etc
- Utvikling av biomarkører for evaluering av hudkvalitet
 - Histologiske metoder
 - PCR baserte gen-markører

2. Effekt av oppdrettsmiljøet

- Identifisere optimale miljøforhold i ferskvannsfasen for å styrke smoltens hud dvs barrierefunksjon mot skade og infeksjon etter sjøutsett.
- Optimalisere postsmoltproduksjon i RAS og lukkede anlegg.
- Studere effekten av sulting på hudkvalitet og barriere funksjon, effekt på fiskevelferd og generell evne til håndtering av stress – utvikle gode protokoller.
- Kunnskap om relasjonen mellom stress og sårutvikling (interaksjon stress og patogene bakterier).
 - Kan utføringsstrategier, teknologiske løsninger, ha skyld i noen av problemene.
- Utvikle stressreducerende tiltak (eks sulting) for transport og håndtering av fisk.
- Studere årsaker til mekanisk skade og i hvilken grad det fører til sekundære sårinfeksjoner.
 - Hvilke typer håndtering av fisk i settefisk eller i sjø gir størst risiko for utvikling av sårskader.
 - Hva kan gjøres for å forebygge dette
 - Kan metoder eller utstyr forbedres eller byttes ut for å gi bedre fiskevelferd
- Hva skjer i fisken og i fiskens hud ved lav temperatur mht. sår dannelse og sårheling
 - Hva er forskjellen på en smolt til sjøsetting som har levd de siste mnd. på 1 grad vs. en som har levd på 6 grader.
 - Bør det defineres en minimumstemperatur for oppdrett av smolt
 - Hvilken effekt har det på fiskens hud når den blir tatt opp til håndtering ved ulike temperaturer og klimaforhold; sortering, lusetelling etc.
- Hvilken effekt har gassovermetning, spesielt nitrogen, på hudkvalitet.
- Hvorfor/når/hvordan oppstår finneskader, Hva må gjøres for å unngå at de oppstår, hvor store skader skal kunne tillates før det regnes som for dårlig fiskevelferd.
- Avlusing
 - Hvilken effekt har badebehandling med dagens legemidler på fiskens hud, herunder også de vanligst forekommende medikamentblandinger.
 - Hvordan påvirkes fiskens hud av de fysiske belastningene ved behandling; trenging, pumping, brønnbåt, spyling.
 - Hva er nødvendig restitusjonstid etter en behandling, under ulike betingelser.
 - Bør det stilles helse/velferdsmessige krav til et maksimalt antall fysiske håndtering / behandlinger i løpet av fiskens levetid.

3. Effekt av fôr

- Utvikle effektive helsefôr
 - profylaktiske fôr
 - sårhelende fôr

- Hva er optimal fôrsammensetning og fôringsregime
 - før og under perioder med lav vanntemperatur
 - før sjøsetting
 - før håndtering eller andre fysiske belastninger
 - ved sykdom

4. Infeksjoner

- Undersøke fiskens normalflora av bakterier ved ulike livsstadier og driftsforhold.
- Påvise alle bakterier som er knyttet til sår hos laks ved ulike årstider og forskjellige steder langs kysten.
- Identifisere hvilken rolle de forskjellige bakteriene har i sårutvikling alene eller i samspill.
- Forbedre metoder for påvisning og isolering av aktuelle sårbakterier.
- Utvikle *Tenacibaculum* vaksine.
- Utvikle temperaturoptimaliserte vaksineprotokoller.
- Kartlegge virulensfaktorer og patogenetiske forhold hos de kjente sårbakteriene hos laks (*M. viscosa*, *Aliivibrio wodanis* og *Tenacibaculum* spp.).
- Kartlegge de ulike infeksjonsveiene for de ulike bakteriene funnet å være av betydning for sårutvikling ned til cellenivå i vertens hud og andre organer som gjeller og tarm.
- Ved identifikasjon av bakterier som har betydning i sårutvikling bør man først etablere smitte modeller med laks som deretter videreføres i laboratoriet for eksempel i cellekulturer slik at en kan ha grunnlag for å gjøre *in vitro* studier inklusiv fenotypiske og genotypiske analyser med tanke på å avdekke de viktigste virulensfaktorer sin molekylære bakgrunn.
- Avklare forholdet laksens immunapparat har til de ulike bakterier med tanke på å utvikle vaksiner eller immunstimulerende strategier gjennom både foring og driftsforhold inklusiv tetthet og håndteringsrutiner.

5. Epidemiologi og økonomi

- Hva er det reelle omfanget av sårskader i settefiskanlegg og i matfiskanlegg – inkludert på fisk levert til slakting.
- Hvilke risikofaktorer er det mulig å påvise ved ulike typer utbrudd av sårskader.
- Er det mulig å identifisere beste-praksis i næringa for forebygging eller behandling av sår.
- Hvordan forløper sårproblemer i anleggene; når, morbiditet og mortalitet pr tidsenhet, hastighet på sårheling, totalt økonomisk tap.

10 Oppsummering

Sårproblemene i norsk oppdrettsnæring er sammensatte og eksisterende kunnskaps gir bare til en viss grad grunnlag for å trekke konklusjoner. I figur 12 har vi laget en oversikt som beskriver problem, noen risikofaktorer og årsaker, konsekvenser og mulige tiltak, gjennom produksjonssyklus. Dette er i stor grad en forenklet fremstilling, men gir grunnlag for viktige diskusjoner og kan tjene som utgangspunkt for en dynamisk kunnskapsutvikling. Samtidig peker fremstillingen på risikofaktorer det allerede under dagens forhold er viktig å få kontroll over. Det som synes klart er at sårproblemer først og fremst er knyttet til sjøfasen og at fisken er spesielt utsatt for både vintersår ved *M. viscosa* og *Tenacibaculum* infeksjon ved lave sjøtemperaturer. Fisken er aller mest sårbar den første tiden etter utsett i sjø og sårutvikling i denne perioden henger trolig sammen med blant annet dårlig smoltkvalitet og transportskader. Litteraturgjennomgangen tyder på at stress forårsaket av en rekke ulike parametere er svært uheldig for hudkvaliteten og dermed fiskens førstelinjeforsvar mot patogene bakterier. Alle tiltak som reduserer stress og som bidrar til at fisken opprettholder en sterkest mulig hudbarriere mot infeksjon vil derfor være av stor betydning for å redusere sårproblemene i norsk oppdrettsnæring. I settefiskfasen er sårproblem spesielt relatert til sjøvannsinnblanding, men det er grunn til å være oppmerksom på at nye driftsformer med postsmolt-produksjon i lukkede sjøanlegg og lukkede landanlegg kan gi nye utfordringer blant annet relatert til endring i det mikrobiotiske miljø. Litteraturgjennomgangen og innhenting av tilgjengelige data fra næringen tydeliggjør at kunnskapsgrunnlaget vårt om hudhelse og sår er mangelfullt. Det synes derfor klart at forskning og utvikling omkring sårproblematikk må prioriteres.

Problem, risikofaktorer/årsaker, konsekvenser, tiltak

	Yngel-Parr	Smolt	Postsmolt	1.-år i sjø	2.-år i sjø	Slaktefisk
Problem	Finneråte, ryggsår, haleråte, gjellokkforkortelse	Vintersår, ansiktssår, skjelltap, taperfisk	Vintersår, ansiktsår, slitasjesår, og parasitt og predator-sår			Sår og arrvev
Risk/årsak	Mekanisk skade, mangelfull mineral-ernæring, flavo-bakterier, yersinia, pseudomonas sp, soppinfeksjoner	Smoltkvalitet, tidlig vårsmolt og sen høstsmolt, transport, Δtemperatur, Moritella, tenacibaculum, vibrio sp	Moritella, tenacibaculum, lus, fugl etc, mekanisk skade ved avlusing, uvær mm.			Nye og/eller gamle sår
Konsekvens	Dødelighet, velferd, redusert smoltkvalitet	Dødelighet, velferd, redusert vekst og sykdomsmotstand	Dødelighet, velferd, redusert vekst og sykdomsmotstand			Nedklassifisering
Tiltak	Optimalisere oppdrettsmiljø og ernæring, unngå smitteoverføring (avlive sårfisk)	Øke smoltens robusthet, timing og kvalitet på transport må bedres, helsefôr, vaksine, sortering, produsere postsmolt i RAS og lukka anlegg?	Redusere stress og håndtering, sulting, ta ut svimere, helsefôr, vaksine, merdteknologi for å redusere mekanisk skade, parasitter og predatorer			Redusere sårproblemene i sjø

Figur 12 Oppsummering av sårproblem, risikofaktorer og årsaker, konsekvenser og tiltak gjennom en produksjonssyklus av laksefisk.

11 Referanser

- Adams, G., Dilly, P. 1989. Differential staining of ocular goblet cells. *Eye*, **3**(6), 840-844.
- Al-Hassan, J., Dyson, M., Young, S., Thomson, M., Criddle, R. 1991. Acceleration of wound healing responses induced by preparations from the epidermal secretions of the Arabian Gulf catfish (*Arius bilineatus*, Valenciennes). *Journal of Wilderness Medicine*, **2**(3), 153-163.
- Al-Hassan, J., Thomson, M., Criddle, K., Summers, B., Criddle, R. 1985. Catfish epidermal secretions in response to threat or injury. *Marine Biology*, **88**(2), 117-123.
- Al-Hassan, J., Thomson, M., Griddle, R. 1983. Accelerated wound healing by a preparation from skin of the Arabian Gulf catfish. *The Lancet*, **321**(8332), 1043-1044.
- Al-Hassan, J.M., Thomson, M., Ali, M., Criddle, R.S. 1987a. Toxic and pharmacologically active secretions from the Arabian Gulf catfish (*Arius thalassinus*, Ruppell). *Toxin Reviews*, **6**(1), 1-43.
- Al-Hassan, J.M., Thomson, M., Summers, B., Criddle, R.S. 1987b. Protein composition of the threat induced epidermal secretion from the Arabian Gulf catfish, *Arius Thalassinus* (Ruppell). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, **88**(3), 813-822.
- Al-Banaw, A., Kenngott, R., Al-Hassan, J., Mehana, N., Sinowatz, F. 2010. Histochemical analysis of glycoconjugates in the skin of a catfish (*Arius tenuispinis*, Day). *Anatomia, histologia, embryologia*, **39**(1), 42-50.
- Alexander, J.B., Ingram, G.A. 1992. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, **2**, 249-279.
- Alonso, L., Fuchs, E. 2003. Stem cells of the skin epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**(Suppl 1), 11830-11835.
- Alvarez-Pellitero, P. 2008. Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **126**(3-4), 171-198.
- Ángeles Esteban, M. 2012. An overview of the immunological defenses in fish skin. *International Scholarly Research Notices*, **2012**.
- Aranishi, F. 1999. Lysis of pathogenic bacteria by epidermal cathepsins L and B in the Japanese eel. *Fish Physiology and Biochemistry*, **20**(1), 37-41.
- Aranishi, F., Mano, N., Hirose, H. 1998. Fluorescence localization of epidermal cathepsins L and B in the Japanese eel. *Fish Physiology and Biochemistry*, **19**(3), 205-209.
- Arciuli, M., Fiocco, D., Cicero, R., Maida, I., Zanna, P.T., Guida, G., Horsberg, T.E., Koppang, E.O., Gallone, A. 2012. Melanogenesis in visceral tissues of *Salmo salar*. A link between immunity and pigment production? *Biochemistry and Cell Biology*, **90**(6), 769-778.
- Aunsmo, A., Bruheim, T., Sandberg, M., Skjerve, E., Romstad, S., Larssen, R.B. 2008. Methods for investigating patterns of mortality and quantifying cause-specific mortality in sea-farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis Aquat Organ*, **81**(2), 99-9107.
- Avendaño-Herrera, R., Toranzo, A., Magariños, B. 2006. A challenge model for *Tenacibaculum maritimum* infection in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Journal of fish diseases*, **29**(6), 371-374.
- Baeverfjord, G., Åsgård, T., Rye, M. 1998. Aquaculture and water. **EAS special 26**, 24-25.
- Ball, J. 1981. Hypothalamic control of the pars distalis in fishes, amphibians, and reptiles. *General and comparative endocrinology*, **44**(2), 135-170.
- Bansil, R., Turner, B.S. 2006. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current opinion in colloid & interface science*, **11**(2), 164-170.

- Barton, B.A., Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, **1**, 3-26.
- Barton, B.A., Peter, R.E., Paulencu, C.R. 1980. Plasma cortisol levels of fingerling rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest, and subjected to handling, confinement, transport, and stocking. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**(5), 805-811.
- Barton, B.A., Schreck, C.B., Ewing, R.D., Hemmingsen, A.R., Patiño, R. 1985. Changes in plasma cortisol during stress and smoltification in Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology*, **59**(3), 468-471.
- Bassity, E., Clark, T.G. 2012. Functional identification of dendritic cells in the teleost model, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *PLoS One*, **7**(3), e33196.
- Benediktsdóttir, E., Helgason, S., Sigurjónsdóttir, H. 1998. *Vibrio* spp. isolated from salmonids with shallow skin lesions and reared at low temperature. *Journal of fish diseases*, **21**(1), 19-28.
- Benediktsdóttir, E., Verdonck, L., Spröer, C., Helgason, S., Swings, J. 2000. Characterization of *Vibrio viscosus* and *Vibrio wodanis* isolated at different geographical locations: a proposal for reclassification of *Vibrio viscosus* as *Moritella viscosa* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **50**(2), 479-488.
- Bereiter-Hahn, J., Zylberberg, L. 1993. Regeneration of teleost fish scale. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **105**(4), 625-641.
- Berg, T.O., Gurung, M.K., Altermark, B., Smalas, A.O., Ræder, I.L.U. 2015. Characterization of the N-acetylneuraminic acid synthase (NeuB) from the psychrophilic fish pathogen *Moritella viscosa*. *Carbohydr Res*, **402**, 133-145.
- Bergh, Ø., Samuelsen, O. 2007. Susceptibility of corkwing wrasse *Symphodus melops*, goldsinny wrasse *Ctenolabrus rupestris*, and Atlantic salmon *Salmo salar* smolt, to experimental challenge with *Vibrio tapetis* and *Vibrio splendidus* isolated from corkwing wrasse. *Aquaculture International*, **15**(1), 11-18.
- Bergsson, G., Agerberth, B., Jörnvall, H., Gudmundsson, G.H. 2005. Isolation and identification of antimicrobial components from the epidermal mucus of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Febs Journal*, **272**(19), 4960-4969.
- Birkbeck, T., Billcliffe, B., Laidler, A., Cox, D. 2000. The relationship between *Aeromonas* sp. NCIMB 2263, a causative agent of skin lesions in Atlantic salmon, *Vibrio marinus* (*Moritella marina*) and *Vibrio viscosus*. *Journal of Fish Diseases*, **23**(4), 281-283.
- Bjornsdottir, B., Fast, M.D., Sperker, S.A., Brown, L.L., Gudmundsdottir, B.K. 2009a. Effects of *Moritella viscosa* antigens on pro-inflammatory gene expression in an Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus) cell line (SHK-1). *Fish Shellfish Immunol*, **26**(6), 858-863.
- Bjornsdottir, B., Fridjonsson, O.H., Magnusdottir, S., Andresdottir, V., Hreggvidsson, G.O., Gudmundsdottir, B.K. 2009b. Characterisation of an extracellular vibriolysin of the fish pathogen *Moritella viscosa*. *Vet Microbiol*, **136**(3-4), 326-334.
- Bjornsdottir, B., Gudmundsdottir, S., Bambir, S.H., Magnadottir, B., Gudmundsdottir, B.K. 2004. Experimental infection of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), by *Moritella viscosa*, vaccination effort and vaccine-induced side-effects. *J Fish Dis*, **27**(11), 645-655.
- Bjornsdottir, B., Gudmundsdottir, T., Gudmundsdottir, B.K. 2011. Virulence properties of *Moritella viscosa* extracellular products. *J Fish Dis*, **34**(5), 333-343.
- Björnsson, H., Marteinson, V., Friðjónsson, Ó., Linke, D., Benediktsdóttir, E. 2011. Isolation and characterization of an antigen from the fish pathogen *Moritella viscosa*. *Journal of applied microbiology*, **111**(1), 17-25.

- Boeuf, G., Harache, Y. 1982. Criteria for adaptation of salmonids to high salinity seawater in France. *Aquaculture*, **28**(1), 163-176.
- Bouck, G.R., Smith, S.D. 1979. Mortality of experimentally descaled smolts of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in fresh and salt water. *Transactions of the American Fisheries society*, **108**(1), 67-69.
- Braden, L.M., Koop, B.F., Jones, S.R. 2015. Signatures of resistance to *Lepeophtheirus salmonis* include a TH2-type response at the louse-salmon interface. *Dev Comp Immunol*, **48**(1), 178-91.
- Brown, G., Wellings, S. 1970. Electron microscopy of the skin of the teleost, *Hippoglossoides elassodon*. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, **103**(2), 149-169.
- Bruno, D.W. 1986. Changes in serum parameters of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., infected with *Renibacterium salmoninarum*. *Journal of Fish Diseases*, **9**(3), 205-211.
- Bruno, D.W., Griffiths, J., Petrie, J., Hastings, T.S. 1998. *Vibrio viscosus* in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Scotland: field and experimental observations. *Dis Aquat Organ*, **34**(3), 161-166.
- Buchmann, K., Bresciani, J. 1997. Microenvironment of *Gyrodactylus derjavini* on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: association between mucous cell density in skin and site selection. *Parasitology Research*, **84**(1), 17-24.
- Bullock, A.M., Marks, R., Roberts, R.J. 1978. The cell kinetics of teleost fish epidermis: epidermal mitotic activity in relation to wound healing at varying temperatures in plaice (*Pleuronectes platessa*). *Journal of Zoology*, **185**(2), 197-204.
- Burrells, C., Williams, P.D., Forno, P.F. 2001a. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 1. Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquaculture*, **199**(1-2), 159-169.
- Burrells, C., Williams, P.D., Southgate, P.J., Wadsworth, S.L. 2001b. The effect of a nucleotide-enriched diet on experimental infestation with sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*) and on re-infestation rates following anti-lice bath treatment with cypermethrin. *SCI Conference Aberdeen*.
- Böckelmann, P., Ochandio, B., Bechara, I. 2010. Histological study of the dynamics in epidermis regeneration of the carp tail fin (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758). *Brazilian Journal of Biology*, **70**(1), 217-223.
- Caipang, C.M.A., Lazado, C.C., Brinchmann, M.F., Rombout, J.H.W.M., Kiron, V. 2011. Differential expression of immune and stress genes in the skin of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, **6**(2), 158-162.
- Carmichael, G.J. 1984. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. *The Progressive Fish-Culturist*, **46**(2), 111-115.
- Castro, V., Gridale-Helland, B., Helland, S.J., Kristensen, T., Jørgensen, S.M., Helgerud, J., Claireaux, G., Farrell, A.P., Krasnov, A., Takle, H. 2011. Aerobic training stimulates growth and promotes disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, **160**(2), 278-90.
- Castro, V., Gridale-Helland, B., Helland, S.J., Tørgersen, J., Kristensen, T., Claireaux, G., Farrell, A.P., Takle, H. 2013. Cardiac molecular-acclimation mechanisms in response to swimming-induced exercise in Atlantic salmon. *PLoS One*, **8**(1), e55056.
- Cho, J.H., Park, I.Y., Kim, H.S., Lee, W.T., Kim, M.S., Kim, S.C. 2002. Cathepsin D produces antimicrobial peptide parasin I from histone H2A in the skin mucosa of fish. *Faseb j*, **16**(3), 429-31.

- Clark, T.G., Lin, T.-L., Dickerson, H.W. 1996. Surface antigen cross-linking triggers forced exit of a protozoan parasite from its host. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **93**(13), 6825-6829.
- Clarke, W., Blackburn, J., Station, P.B. 1977. *A seawater challenge test to measure smolting of juvenile salmon*. Research and Development Directorate, Pacific Biological Station.
- Clarke, W., Shelbourn, J., Brett, J. 1978. Growth and adaptation to sea water in 'underyearling' sockeye (*Oncorhynchus nerka*) and coho (*O. kisutch*) salmon subjected to regimes of constant or changing temperature and day length. *Canadian Journal of Zoology*, **56**(11), 2413-2421.
- Clarke, W.C., Shelbourn, J.E., Brett, J. 1981. Effect of artificial photoperiod cycles, temperature, and salinity on growth and smolting in underyearling coho (*Oncorhynchus kisutch*), chinook (*O. Tshawytscha*), and sockeye (*O. nerka*) salmon. *Aquaculture*, **22**, 105-116.
- Concha, M.I., Molina, S.a., Oyarzún, C., Villanueva, J., Amthauer, R. 2003. Local expression of apolipoprotein AI gene and a possible role for HDL in primary defence in the carp skin. *Fish & shellfish immunology*, **14**(3), 259-273.
- Conte, F., Wagner, H. 1965. Development of osmotic and ionic regulation in juvenile steelhead trout (*Salmo Gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **14**(4), 603-620.
- Cox, D.I., Morrison, D.J., Rae, G.H. 1986. Report of a new *Aeromonas* species infecting skin lesions of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in sea water. *Bull. Eur. Ass. Fish Path* **6** 100-102.
- Coyne, R., Bergh, Ø., Samuelsen, O., Andersen, K., Lunestad, B.T., Nilsen, H., Dalsgaard, I., Smith, P. 2004. Attempt to validate breakpoint MIC values estimated from pharmacokinetic data obtained during oxolinic acid therapy of winter ulcer disease in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, **238**(1), 51-66.
- Coyne, R., Smith, P., Dalsgaard, I., Nilsen, H., Kongshaug, H., Bergh, Ø., Samuelsen, O. 2006. Winter ulcer disease of post-smolt Atlantic salmon: An unsuitable case for treatment? *Aquaculture*, **253**(1), 171-178.
- Davidson, G., Ellis, A., Secombes, C. 1992. *Isolation Of leukocytes from mucosa-associated lymphoid tissues (MALT) Of fish*. New Haven, NJ, USA: SOS Publications, Techniques In fish immunology.
- De Falco, S., Russo, G., Angiolillo, A., Pietropaolo, C. 1993. Human L7a ribosomal protein: sequence, structural organization, and expression of a functional gene. *Gene*, **126**(2), 227-35.
- de Vrieze, E., Sharif, F., Metz, J.R., Flik, G., Richardson, M.K. 2011. Matrix metalloproteinases in osteoclasts of ontogenetic and regenerating zebrafish scales. *Bone*, **48**(4), 704-712.
- Dempson, J., O'Connell, M., Cochrane, N. 2001. Potential impact of climate warming on recreational fishing opportunities for Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Newfoundland, Canada. *Fisheries Management and Ecology*, **8**(1), 69-82.
- Dickerson, H., Clark, T. 1998. *Ichthyophthirius multifiliis*: a model of cutaneous infection and immunity in fishes. *Immunological Reviews*, **166**(1), 377-384.
- Donaldson, L., Brannon, B. 1975. The use of warm water to accelerate the production of coho salmon. *Fisheries (Bethesda)* **1** (4), 12-16.
- Duston, J., Bromage, N. 1986. Photoperiodic mechanisms and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. *Fish Physiology and Biochemistry*, **2**(1-4), 35-51.
- Duston, J., Saunders, R.L. 1990. The entrainment role of photoperiod on hypoosmoregulatory and growth-related aspects of smolting in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Zoology*, **68**(4), 707-715.

- Easy, R., Ross, N. 2009. Changes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) epidermal mucus protein composition profiles following infection with sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, **4**(3), 159-167.
- Easy, R.H., Ross, N.W. 2010. Changes in Atlantic salmon *Salmo salar* mucus components following short- and long-term handling stress. *Journal of Fish Biology*, **77**(7), 1616-1631.
- Eddy, F.B. 1981 *Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish*.
- Ellis, A. 1999. Immunity to bacteria in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, **9**(4), 291-308.
- Epand, R.M., Vogel, H.J. 1999. Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochim Biophys Acta*, **1462**(1-2), 11-28.
- Espmark, Å., Humborstad, O.B., Midling, K.Ø. 2012. Pumping av torsk og laks, faktorer som påvirker velferd og kvalitet. Nofima rapport.
- Farner, D. 1985. Annual rhythms. *Annual review of physiology*, **47**(1), 65-82.
- Fast, M., Sims, D.E., Burka, J.F., Mustafa, A., Ross, N. 2002. Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **132**(3), 645-657.
- Fernandes, J., Kemp, G., Molle, M., Smith, V. 2002. Anti-microbial properties of histone H2A from skin secretions of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biochem. J*, **368**, 611-620.
- Fernandes, J., Saint, N., Kemp, G., Smith, V. 2003. Oncorhynchin III: a potent antimicrobial peptide derived from the non-histone chromosomal protein H6 of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biochem. J*, **373**, 621-628.
- FHF-900779. 2013. Hovedårsaker til tap av laks og ørret. . *Mattilsynet, Høgne Bleie*.
- Finstad, B., Iversen, M. 1996. Smoltifisering hos laks og sjøørret: effekt av ulike produksjonsregimer og transport. . *NINA Oppdragsmelding 455: 1-16*.
- Flik, G., Fenwick, J., Kolar, Z., Mayer-Gostan, N., Wendelar Bonga, S. 1986. Effects of ovine prolactin on calcium uptake and distribution in *Oreochromis mossambicus*. *Am J Physiol*, **250**(10), R161-166.
- Flik, G., Schoenmakers, T.J., Groot, J.A., van Os, C.H., Bonga, S.E.W. 1990. Calcium absorption by fish intestine: the involvement of ATP-and sodium-dependent calcium extrusion mechanisms. *The Journal of membrane biology*, **113**(1), 13-22.
- Foda, A. 1973. Changes in Hematocrit and Hemoglobin in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) as a Result of Furunculosis Disease. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **30**(3), 467-468.
- Folmar, L.C., Dickhoff, W.W., Zaugg, W.S., Hodgins, H.O. 1982. The effects of aroclor 1254 and no. 2 fuel oil on smoltification and sea-water adaptation of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquatic Toxicology*, **2**(5), 291-299.
- Fukuyama, Y., Tokuhara, D., Kataoka, K., Gilbert, R.S., McGhee, J.R., Yuki, Y., Kiyono, H., Fujihashi, K. 2012. Novel vaccine development strategies for inducing mucosal immunity. *Expert review of vaccines*, **11**(3), 367-379.
- Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A. 2009. Integument. in: *Atlas of Fish Histology*, Science Publishers, pp. 64-74.
- Giraud, E., Douet, D.G., Le Bris, H., Bouju-Albert, A., Donnay-Moreno, C., Thorin, C., Pouliquen, H. 2006. Survey of antibiotic resistance in an integrated marine aquaculture system under oxolinic acid treatment. *FEMS microbiology ecology*, **55**(3), 439-448.
- González-Chávez, S.A., Arévalo-Gallegos, S., Rascón-Cruz, Q. 2009. Lactoferrin: structure, function and applications. *International journal of antimicrobial agents*, **33**(4), 301. e1-301. e8.

- Gostin, I.N., Neagu, A.N., Vulpe, V. 2011. SEM investigations regarding skin micro-morphology and modifications induced by bacterial infections in *Cyprinus carpio* and *Salmo trutta fario*. *International Journal of Energy and Environment*, **5**(2), 274-281.
- Grau, E., Dickhoff, W., Nishioka, R., Bern, H., Folmar, L. 1981. Lunar phasing of the thyroxine surge preparatory to seawater migration of salmonid fish. *Science* **221**, 607-609.
- Grau, E.G., Fast, A.W., Nishioka, R.S., Bern, H.A., Barclay, D.K., Katase, S.A. 1985. Variations in thyroid hormone levels and in performance in the seawater challenge test accompanying development in coho salmon raised in Hawaii. *Aquaculture*, **45**(1), 121-132.
- Grau, E.G., Specker, J.L., Nishioka, R.S., Bern, H.A. 1982. Factors determining the occurrence of the surge in thyroid activity in salmon during smoltification. *Aquaculture*, **28**(1), 49-57.
- Greger, E., Goodrich, T. 1999. Vaccine development for winter ulcer disease, *Vibrio viscosus*, in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of fish diseases*, **22**(3), 193-199.
- Grimi, A., Hansen, T., Berg, A., Wargelius, A., Fjellidal, P. 2011. The effect of water temperature on vertebral deformities and vaccine-induced abdominal lesions in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of fish diseases*, **34**(7), 531-546.
- Grove, S., Wiik-Nielsen, C., Lunder, T., Tunsjø, H., Tandstad, N., Reitan, L., Marthinussen, A., Sørgaard, M., Olsen, A., Colquhoun, D. 2011. Previously unrecognised division within *Moritella viscosa* isolated from fish farmed in the North Atlantic. *Diseases of aquatic organisms*, **93**(1), 51.
- Gudmundsdottir, B.K., Bjornsdottir, B., Gudmundsdottir, S., Bambir, S.H. 2006. A comparative study of susceptibility and induced pathology of cod, *Gadus morhua* (L.), and halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), following experimental infection with *Moritella viscosa*. *J Fish Dis*, **29**(8), 481-487.
- Guerreiro, P.M., Costa, R., Power, D.M. 2013. Dynamics of scale regeneration in seawater- and brackish water-acclimated sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Fish physiology and biochemistry*, **39**(4), 917-930.
- Gwinner, E. 1986. *Circannual rhythms*, Springer, Berlin Heidelberg New York.
- Habib, C., Houel, A., Lunazzi, A., Bernardet, J.F., Olsen, A.B., Nilsen, H., Toranzo, A.E., Castro, N., Nicolas, P., Duchaud, E. 2014. Multilocus sequence analysis of the marine bacterial genus *Tenacibaculum* suggests parallel evolution of fish pathogenicity and endemic colonization of aquaculture systems. *Appl Environ Microbiol*, **80**(17), 5503-14.
- Hancock, R.E., Scott, M.G. 2000. The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**(16), 8856-61.
- Handeland, S.O., Imsland, A.K., Stefansson, S.O. 2008. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts. *Aquaculture*, **283**(1), 36-42.
- Hansen, G.H., Bergh, Ø., Michaelsen, J., Knappskog, D. 1992. *Flexibacter ovolyticus* sp. nov., a Pathogen of Eggs and Larvae of Atlantic Halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **42**(3), 451-458.
- Harbell, S.C., Hodgins, H.O., Schiewe, M.H. 1979. Studies on the pathogenesis of vibriosis in coho salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, **2**(5), 391-404.
- Harris, J., Hunt, S. 1973. The fine structure of iridophores in the skin of the Atlantic Salmon (*Salmo Salar* L.). *Tissue and Cell*, **5**(3), 479-488.
- Harris, J., Hunt, S. 1975. The fine structure of the epidermis of two species of salmonid fish, the atlantic salmon (*Salmo solar* L.) and the brown trout (*Salmo trutta* L.). *Cell and tissue research*, **157**(4), 553-565.

- Hastings, T., McKay, A. 1987. Resistance of *Aeromonas salmonicida* to oxolinic acid. *Aquaculture*, **61**(3), 165-171.
- Hawkes, J. 1974. The structure of fish skin. *Cell and Tissue Research*, **149**(2), 147-158.
- Hayashi, S. 1971. BIOCHEMICAL STUDIES ON SKIN OF FISH. 2. SEASONAL CHANGE OF PURINE CONTENT OF MASU SALMON FROM PARR TO SMOLT. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **37**(6), 508-&.
- Heidarsdottir, K., Gravningen, K., Benediktsdottir, E. 2008. Antigen profiles of the fish pathogen *Moritella viscosa* and protection in fish. *Journal of applied microbiology*, **104**(4), 944-951.
- Henrikson, R.C., Gedeon Matoltsy, A. 1967. The fine structure of teleost epidermis: I. Introduction and filament-containing cells. *Journal of ultrastructure research*, **21**(3), 194-212.
- Hevrøy, E., Waagbø, R., Torstensen, B., Takle, H., Stubhaug, I., Jørgensen, S., Torgersen, T., Tvenning, L., Susort, S., Breck, O. 2012. Ghrelin is involved in voluntary anorexia in Atlantic salmon raised at elevated sea temperatures. *General and comparative endocrinology*, **175**(1), 118-134.
- Hoar, W. 1988. 4 The Physiology of Smolting Salmonids. *Fish physiology*, **11**, 275-343.
- Hoar, W.S. 1976. Smolt transformation: evolution, behavior, and physiology. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **33**(5), 1233-1252.
- Hoffman, J., Bogwald, J., Andersson, R., Kenne, L. 2012. Structural studies of the lipopolysaccharide of *Moritella viscosa* strain M2-226. *Carbohydr Res*, **347**(1), 164-167.
- Hoffmann, R., Lommel, R. 1984. Haematological studies in proliferative kidney disease of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, **7**(4), 323-326.
- Hordvik, I., Thevarajan, J., Samdal, I., Bastani, N., Krossoy, B. 1999. Molecular cloning and phylogenetic analysis of the Atlantic salmon immunoglobulin D gene. *Scandinavian journal of immunology*, **50**(2), 202-210.
- Houston, A.H. 1961. Influence of size upon the adaptation of steelhead trout (*Salmo gairdneri*) and chum salmon (*Oncorhynchus keta*) to sea water. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **18**(3), 401-415.
- Hunn, J. 1985. Role of calcium in gill function in freshwater fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **82**(3), 543-547.
- Iger, Y., Abraham, M. 1990. The process of skin healing in experimentally wounded carp. *Journal of Fish Biology*, **36**(3), 421-437.
- Ingram, G. 1980. Substances involved in the natural resistance of fish to infection—a review. *Journal of Fish Biology*, **16**(1), 23-60.
- Ishida-Yamamoto, A., Kishibe, M. 2011. Involvement of corneodesmosome degradation and lamellar granule transportation in the desquamation process. *Medical Molecular Morphology*, **44**(1), 1-6.
- Iversen, M., Eliassen, R. 2011. Produksjonsstrategi ved Mainstream Norway AS.
- Jensen, L., Provan, F., Mullins, J., Uleberg, K., Larssen, E., Obacj, A. 2014. Bruk av helsefôr til laks (*Salmo salar*) i kampen mot lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*). *Havbruk, Tromsø, Norway*, Skretting Aquaculture Research Centre, International Research Institute of Stavanger, NIFES/UiB.
- Jensen, S., Samuelsen, O.B., Andersen, K., Torkildsen, L., Lambert, C., Choquet, G., Paillard, C., Bergh, O. 2003. Characterization of strains of *Vibrio splendidus* and *V. tapetis* isolated from corkwing wrasse *Symphodus melops* suffering vibriosis. *Dis Aquat Organ*, **53**(1), 25-31.
- Johansen, R. (red) 2013. Fiskehelserapporten 2012. Veterinary Institute, Oslo, Norway.

- Johnston, C., Eales, J. 1970. Influence of body size on silvering of Atlantic salmon (*Salmo salar*) at parr-smolt transformation. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **27**(5), 983-987.
- Johnston, C., Eales, J. 1968. Influence of temperature and photoperiod on guanine and hypoxanthine levels in skin and scales of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr-smolt transformation. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **25**(9), 1901-1909.
- Johnston, C., Eales, J. 1967. Purines in the integument of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr-smolt transformation. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **24**(5), 955-964.
- Jones, H.A.C., Hansen, L.A., Noble, C., Damsgård, B., Broom, D.M., Pearce, G.P. 2010. Social network analysis of behavioural interactions influencing fin damage development in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during feed-restriction. *Applied animal behaviour science*, **127**(3), 139-151.
- Jones, H.A.C., Noble, C., Damsgård, B., Pearce, G.P. 2012. Investigating the influence of predictable and unpredictable feed delivery schedules upon the behaviour and welfare of Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) using social network analysis and fin damage. *Applied Animal Behaviour Science*, **138**(1), 132-140.
- Jonsson, B., Jonsson, N. 2009. A review of the likely effects of climate change on anadromous Atlantic salmon *Salmo salar* and brown trout *Salmo trutta*, with particular reference to water temperature and flow. *Journal of Fish Biology*, **75**(10), 2381-2447.
- Jung, T.S., del Castillo, C.S., Javaregowda, P.K., Dalvi, R.S., Nho, S.W., Park, S.B., Jang, H.B., Cha, I.S., Sung, H.W., Hikima, J.-i. 2012. Seasonal variation and comparative analysis of non-specific humoral immune substances in the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Developmental & Comparative Immunology*, **38**(2), 295-301.
- Kamada, N., Seo, S.-U., Chen, G.Y., Núñez, G. 2013. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, **13**(5), 321-335.
- Karlsen, C., Ellingsen, A.B., Wiik-Nielsen, C., Winther-Larsen, H.C., Colquhoun, D.J., Sørsum, H. 2014a. Host specificity and clade dependent distribution of putative virulence genes in *Moritella viscosa*. *Microbial pathogenesis*, **77**, 53-65.
- Karlsen, C., Sorum, H., Willassen, N.P., Asbakk, K. 2012. *Moritella viscosa* bypasses Atlantic salmon epidermal keratocyte clearing activity and might use skin surfaces as a port of infection. *Vet Microbiol*, **154**(3-4), 353-362.
- Karlsen, C., Vanberg, C., Mikkelsen, H., Sorum, H. 2014b. Co-infection of Atlantic salmon (*Salmo salar*), by *Moritella viscosa* and *Aliivibrio wodanis*, development of disease and host colonization. *Vet Microbiol*, **171**(1-2), 112-121.
- Karlsen, C., Willassen, N.P., Sørsum, H. 2009. Co-haemolytic (CAMP) activity between bacteria isolated from fish with winter ulcer disease. . *Vibrio 2009 conference*.
- Keren, K., Pincus, Z., Allen, G.M., Barnhart, E.L., Marriott, G., Mogilner, A., Theriot, J.A. 2008. Mechanism of shape determination in motile cells. *Nature*, **453**(7194), 475-480.
- Kondo, S., Kuwahara, Y., Kondo, M., Naruse, K., Mitani, H., Wakamatsu, Y., Ozato, K., Asakawa, S., Shimizu, N., Shima, A. 2001. The medaka (rs-3) locus required for scale development encodes ectodysplasin-A receptor. *Current Biology*, **11**(15), 1202-1206.
- Krogdahl, Å., Bakke-McKellep, A.M. 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **141**(4), 450-460.
- Lall, S., Lewis-McCrea, L. 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish - An overview. *Aquaculture*, **267**, 3 - 19.

- Landeira-Dabarca, A., Sieiro, C., Alvarez, M. 2013. Change in food ingestion induces rapid shifts in the diversity of microbiota associated with cutaneous mucus of Atlantic salmon *Salmo salar*. *J Fish Biol*, **82**(3), 893-906.
- Larsen, H.A., Austbø, L., König, M., Sørum, H., Rimstad, E., Koppang, E.O. 2013. Transcription of the tyrosinase gene family in an Atlantic salmon leukocyte cell line (SHK-1) is influenced by temperature, but not by virus infection or bacterin stimulation. *Developmental & Comparative Immunology*, **41**(1), 50-58.
- Larsen, H.A., Austbø, L., Mørkøre, T., Thorsen, J., Hordvik, I., Fischer, U., Jirillo, E., Rimstad, E., Koppang, E.O. 2012. Pigment-producing granulomatous myopathy in Atlantic salmon: a novel inflammatory response. *Fish & shellfish immunology*, **33**(2), 277-285.
- Le Guellec, D., Morvan-Dubois, G., Sire, J.-Y. 2004. Skin development in bony fish with particular emphasis on collagen deposition in the dermis of the zebrafish (*Danio rerio*). *International Journal of Developmental Biology*, **48**, 217-232.
- Ledy, K., Giamberini, L., Pihan, J.C. 2003. Mucous cell responses in gill and skin of brown trout *Salmo trutta fario* in acidic, aluminium-containing stream water. *Dis Aquat Organ*, **56**(3), 235-40.
- Lévesque, M., Feng, Y., Jones, R.A., Martin, P. 2013. Inflammation drives wound hyperpigmentation in zebrafish by recruiting pigment cells to sites of tissue damage. *Disease models & mechanisms*, **6**(2), 508-515.
- Lillehaug, A., Lunestad, B., Grave, K. 2003. Epidemiology of bacterial diseases in Norwegian aquaculture—a description based on antibiotic prescription data for the ten-year period 1991 to 2000. *Diseases of aquatic organisms*, **53**(2), 115-125.
- Lin, T.L., Clark, T.G., Dickerson, H. 1996. Passive immunization of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) against the ciliated protozoan parasite *Ichthyophthirius multifiliis* by use of murine monoclonal antibodies. *Infection and immunity*, **64**(10), 4085-4090.
- Lindell, K., Fahlgren, A., Hjerde, E., Willassen, N.-P., Fallman, M., Milton, D.L. 2012. Lipopolysaccharide O-antigen prevents phagocytosis of *Vibrio anguillarum* by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin epithelial cells. *PLoS One*, **7**(5).
- Lindenstrøm, T., Sigh, J., Dalgaard, M., Buchmann, K. 2006. Skin expression of IL-1 β in East Atlantic salmon, *Salmo salar* L., highly susceptible to *Gyrodactylus salaris* infection is enhanced compared to a low susceptibility Baltic stock. *Journal of fish diseases*, **29**(2), 123-128.
- Liu, L., Li, C., Su, B., Beck, B.H., Peatman, E. 2013. Short-term feed deprivation alters immune status of surface mucosa in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *PLoS one*, **8**(9), e74581.
- Lorz, H., McPerson, B. 1976 Effects of copper and zinc in freshwater on the adaptation to seawater and ATPase activity and the effect of copper on migratory disposition of coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). *J Fish Res Board Can.* (33), 2023-2030.
- Lugo-Villarino, G., Balla, K.M., Stachura, D.L., Bañuelos, K., Werneck, M.B., Traver, D. 2010. Identification of dendritic antigen-presenting cells in the zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**(36), 15850-15855.
- Lunder, T. 1992. Winter ulcer in Atlantic salmon. A study of pathological changes, transmissibility and bacterial isolates. in: *The Norwegian College of Veterinary Medicine, National Veterinary Institute*. Oslo, Norway.
- Lunder, T., Evensen, O., Holstad, G., Hastein, T. 1995a. Winter Ulcer in the Atlantic Salmon *Salmo Salar* - Pathological and Bacteriological Investigations and Transmission Experiments. *Diseases of Aquatic Organisms*, **23**(1), 39-49.

- Lunder, T., Evensen, Ø., Holstad, G., Hastein, T. 1995b. «Winter ulcer» in the Atlantic salmon *Salmo salar*. Pathological and bacteriological investigations and transmission experiments. *Diseases of aquatic organisms*, **23**(1), 39-49.
- Lunder, T., Sørum, H., Holstad, G., Steigerwalt, A.G., Mowinckel, P., Brenner, D.J. 2000. Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio viscosus* sp. nov. and *Vibrio wodanis* sp. nov. isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*) with 'winter ulcer'. *Int J Syst Evol Microbiol*, **50 Pt 2**, 427-450.
- Løvoll, M., Wiik-Nielsen, C., Tunsjø, H.S., Colquhoun, D., Lunder, T., Sørum, H., Grove, S. 2009. Atlantic salmon bath challenged with *Moritella viscosa*—Pathogen invasion and host response. *Fish & shellfish immunology*, **26**(6), 877-884.
- Madetoja, J., Nyman, P., Wiklund, T. 2000. Flavobacterium psychrophilum, invasion into and shedding by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **43**(1), 27-38.
- Magnadottir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish Shellfish Immunol*, **20**(2), 137-51.
- Marin, F., Corstjens, P., de Gaulejac, B., de Vrind-De Jong, E., Westbroek, P. 2000. Mucins and molluscan calcification. Molecular characterization of mucoperlin, a novel mucin-like protein from the nacreous shell layer of the fan mussel *Pinna nobilis* (Bivalvia, pteriomorphia). *J Biol Chem*, **275**(27), 20667-75.
- Marin, F., Luquet, G., Marie, B., Medakovic, D. 2007. Molluscan Shell Proteins: Primary Structure, Origin, and Evolution. in: *Current Topics in Developmental Biology*, (Ed.) P.S. Gerald, Vol. Volume 80, Academic Press, pp. 209-276.
- Marino Cugno Garrano, A., La Rosa, G., Zhang, D., Niu, L.N., Tay, F.R., Majd, H., Arola, D. 2012. On the mechanical behavior of scales from *Cyprinus carpio*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, **7**(0), 17-29.
- Matsushita, M., Matsushita, A., Endo, Y., Nakata, M., Kojima, N., Mizuochi, T., Fujita, T. 2004. Origin of the classical complement pathway: Lamprey orthologue of mammalian C1q acts as a lectin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**(27), 10127-10131.
- Maule, A., Tripp, R., Kaattari, S., Schreck, C. 1989. Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of Endocrinology*, **120**(1), 135-142.
- McCormick, S.D., Saunders, R.L. 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: osmoregulation, growth, and metabolism. *Am. Fish. Soc. Symp.* pp. 211-229.
- Metselaar, M., Thompson, K., Gratacap, R., Kik, M.J., LaPatra, S.E., Lloyd, S.J., Call, D.R., Smith, P., Adams, A. 2010. Association of red-mark syndrome with a *Rickettsia*-like organism and its connection with strawberry disease in the USA. *Journal of fish diseases*, **33**(10), 849-858.
- Metz, J.R., de Vrieze, E., Lock, E.J., Schulten, I.E., Flik, G. 2012. Elasmoid scales of fishes as model in biomedical bone research. *Journal of Applied Ichthyology*, **28**(3), 382-387.
- Meunier, F. 1984. Spatial organization and mineralization of the basal plate of elasmoid scales in osteichthyans. *American Zoologist*, **24**(4), 953-964.
- Mikkelsen, H., Colquhoun, D. 2006. Identification of IROMPS from winter ulcer bacteria *Moritella viscosa*. . *Havbrukskonferansen*.
- Monnot, M.J., Babin, P.J., Poleo, G., Andre, M., Laforest, L., Ballagny, C., Akimenko, M.A. 1999. Epidermal expression of apolipoprotein E gene during fin and scale development and fin regeneration in zebrafish. *Developmental Dynamics*, **214**(3), 207-215.

- Mulcahy, M.F. 1971. Serum protein changes associated with ulcerative dermal necrosis (UDN) in the trout *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Biology*, **3**(2), 199-201.
- Mulcahy, M.F. 1969. Serum Protein Changes in UDN-infected Atlantic Salmon; A Possible Method of Diagnosis. *Journal of Fish Biology*, **1**(4), 333-338.
- Møyner, K. 1993. Changes in serum protein composition occur in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., during *Aeromonas salmonicida* infection. *Journal of Fish Diseases*, **16**(6), 601-604.
- Nakano, T., Sato, M., Takeuchi, M. 1995. Unique molecular properties of superoxide dismutase from teleost fish skin. *FEBS letters*, **360**(2), 197-201.
- Navarro, I., Gutiérrez, J. 1995. Fasting and starvation. *Biochemistry and molecular biology of fishes*, **4**, 393-434.
- NFR. 2009. Fisk i forskning- miljøkrav og velferdsindikatorer hos fisk. En utredning av forskningsbehovet. Norges forskningsråd, NFR rapport 2009 (www.forskningsradet.no/publikasjoner).
- Nigam, A.K., Kumari, U., Mittal, S., Mittal, A.K. 2012. Comparative analysis of innate immune parameters of the skin mucous secretions from certain freshwater teleosts, inhabiting different ecological niches. *Fish physiology and biochemistry*, **38**(5), 1245-1256.
- Nishioka, R.S., Young, G., Bern, H.A., Jochimsen, W., Hiser, C. 1985. Attempts to intensify the thyroxin surge in coho and king salmon by chemical stimulation. *Aquaculture*, **45**(1), 215-225.
- Noga, E., Fan, Z., Silphaduang, U. 2001. Histone-like proteins from fish are lethal to the parasitic dinoflagellate *Amyloodinium ocellatum*. *Parasitology*, **123**(01), 57-65.
- O'Byrne-Ring, N., Dowling, K., Cotter, D., Whelan, K., MacEvilly, U. 2003. Changes in mucus cell numbers in the epidermis of the Atlantic salmon at the onset of smoltification. *Journal of fish Biology*, **63**(6), 1625-1630.
- Ohira, Y., Shimizu, M., Ura, K., Takagi, Y. 2007. Scale regeneration and calcification in goldfish *Carassius auratus*: quantitative and morphological processes. *Fisheries Science*, **73**(1), 46-54.
- Okumoto, M., Ikuta, K., Aida, K., Hinayu, I., Hirano, T. 1989. Effects of photoperiod on smolting and hormonal secretion in masu salmon, *Onchorhynchus masu* *Aquaculture*, **82**, 63-76.
- Olsen, A.B., Nilsen, H., Sandlund, N., Mikkelsen, H., Sorum, H., Colquhoun, D.J. 2011. Tenacibaculum sp. associated with winter ulcers in sea-reared Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis Aquat Organ*, **94**(3), 189-199.
- Olsen, A.B., Tandstad, N.M., Bottolfsen, K., Colquhoun, D.J., Nilsen, H.K., Habib C. . 2013. Genetic characterization of Norwegian isolates of *Tenacibaculum* spp. . 16. *European Association of Fish Pathologists - EAFP, Tampere (poster)*.
- Oppedal, F., Dempster, T., Stien, L. 2011. Environmental drivers of Atlantic salmon behaviour in sea cages: a review. *Aquaculture* **311** 1-18.
- Ottinger, C.A., Johnson, S.C., Ewart, K.V., Brown, L.L., Ross, N.W. 1999. Enhancement of anti-*Aeromonas salmonicida* activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophages by a mannose-binding lectin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, **123**(1), 53-59.
- Park, E.-H., Lee, S.-H. 1988. Scale growth and squamation chronology for the laboratory-reared hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus* (Cyprinodontidae). *Jap. J. Ichthyol*, **34**(4), 476-482.
- Park, I.Y., Park, C.B., Kim, M.S., Kim, S.C. 1998. Parasin I, an antimicrobial peptide derived from histone H2A in the catfish, (*Parasilurus asotus*). *FEBS letters*, **437**(3), 258-262.
- Parker, R.R., Vanstone, W. 1966. Changes in chemical composition of central British Columbia pink salmon during early sea life. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **23**(9), 1353-1384.

- Paz, H.B., Tisdale, A.S., Danjo, Y., Spurr-Michaud, S.J., Argueso, P., Gipson, I.K. 2003. The role of calcium in mucin packaging within goblet cells. *Exp Eye Res*, **77**(1), 69-75.
- Peleteiro, M., Richards, R. 1990. Phagocytic cells in the epidermis of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, **13**(3), 225-232.
- Peleteiro, M.C., Richards, R. 1985. Identification of lymphocytes in the epidermis of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, **8**(2), 161-172.
- Perez-Vilar, J., Hill, R. 2004. Mucin family of glycoproteins, Vol. 2, Academic Press/Elsevier: Oxford, UK (Lennarz & Lane, EDs.) (Oxford: Academic Press/Elsevier), pp. 758-764.
- Persson, H., Türk, M., Nyman, M., Sandberg, A.-S. 1998. Binding of Cu²⁺, Zn²⁺, and Cd²⁺ to Inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**(8), 3194-3200.
- Persson, P., Johannsson, S.H., Takagi, Y., Björnsson, B.T. 1997. Estradiol-17 beta and nutritional status affect calcium balance, scale and bone resorption, and bone formation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Comparative Physiology B Biochemical Systemic and Environmental Physiology*(167), 468-473.
- Persson, P., Takagi, Y., Björnsson, B.T. 1995. Tartrate resistant acid phosphatase as a marker for scale resorption in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects of estradiol-17 β treatment and refeeding. *Fish Physiology and Biochemistry*, **14**(4), 329-339.
- Phromsuthirak, P. 1977. Electron microscopy of wound healing in the skin of *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Fish Biology*, **11**(2), 193-206.
- Pickering, A.D. 1974. The distribution of mucous cells in the epidermis of the brown trout *Salmo trutta* (L.) and the char *Salvelinus alpinus* (L.). *Journal of Fish Biology*, **6**(2), 111-118.
- Pigman, W. 1977. "Mucus glycoprotein," in *The Glycoconjugates*. Academic Press, New York, NY, USA,
- Pittman, K., Pittman, A., Karlson, S., Cieplinska, T., Sourd, P., Redmond, K., Ravnøy, B., Sweetman, E. 2013. Body site matters: an evaluation and application of a novel histological methodology on the quantification of mucous cells in the skin of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of fish diseases*, **36**(2), 115-127.
- Pittman, K., Sourd, P., Ravnøy, B., Espeland, Ø., Fiksdal, I.U., Oen, T., Pittman, A., Redmond, K., Sweetman, J. 2011. Novel method for quantifying salmonid mucous cells. *Journal of Fish Diseases*, **34**(12), 931-936.
- Polakof, S., Arjona, F., Sangiao-Alvarellos, S., Martín del Río, M., Mancera, J., Soengas, J. 2006. Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *Journal of Comparative Physiology B*, **176**(5), 441-452.
- Poley, J., Purcell, S., Igboeli, O., Donkin, A., Wotton, H., Fast, M. 2013. Combinatorial effects of administration of immunostimulatory compounds in feed and follow-up administration of triple-dose SLICE[®](emamectin benzoate) on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., infection with *Lepeophtheirus salmonis*. *Journal of fish diseases*, **36**(3), 299-309.
- Porta, M. 1983 *A dictionary of epidemiology*. , Oxford university press.
- Proksch, E., Brandner, J.M., Jensen, J.-M. 2008. The skin: an indispensable barrier. *Experimental Dermatology*, **17**(12), 1063-1072.
- Quilhac, A., Sire, J.Y. 1999. Spreading, proliferation, and differentiation of the epidermis after wounding a cichlid fish, *Hemichromis bimaculatus*. *Anat Rec*, **254**(3), 435-51.
- Rai, A., Srivastava, N., Nigam, A., Kumari, U., Mittal, S., Mittal, A. 2012. Response of the chromatophores in relation to the healing of skin wounds in an Indian Major Carp, (*Labeo rohita*)(Hamilton). *Tissue and Cell*, **44**(3), 143-150.

- Rakers, S., Gebert, M., Uppalapati, S., Meyer, W., Maderson, P., Sell, A.F., Kruse, C., Paus, R. 2010. 'Fish matters': the relevance of fish skin biology to investigative dermatology. *Experimental dermatology*, **19**(4), 313-324.
- Ravnøy, B., Johansen, J., Reynolds, P., Sweetman, J. 2009. Fôrtilsetninger kan gi færre lus. *Norsk Fiskeoppdrett* **6A**.
- Ream, R.A., Theriot, J.A., Somero, G.N. 2003. Influences of thermal acclimation and acute temperature change on the motility of epithelial wound-healing cells (keratocytes) of tropical, temperate and Antarctic fish. *Journal of experimental biology*, **206**(24), 4539-4551.
- Redding, J.M., Schreck, C.B. 1983. Influence of ambient salinity on osmoregulation and cortisol concentration in yearling coho salmon during stress. *Transactions of the American Fisheries Society*, **112**(6), 800-807.
- Refstie, S. 2009. Sosikke og b-glukaner i fôret reduserer lusepåslaget hos laks. . *Norsk Fiskeoppdrett*, **6A**, 46-48.
- Reite, O.B., Evensen, Ø. 2006. Inflammatory cells of teleostean fish: a review focusing on mast cells/eosinophilic granule cells and rodlet cells. *Fish & shellfish immunology*, **20**(2), 192-208.
- Richards, R.C., O'Neil, D.B., Thibault, P., Ewart, K.V. 2001. Histone H1: An Antimicrobial Protein of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Biochemical and biophysical research communications*, **284**(3), 549-555.
- Richardson, R., Slanchev, K., Kraus, C., Knyphausen, P., Eming, S., Hammerschmidt, M. 2013. Adult zebrafish as a model system for cutaneous wound-healing research. *J Invest Dermatol*, **133**(6), 1655-65.
- Robertsen, B., Rørstad, G., Engstad, R., Raa, J. 1990. Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *Journal of Fish Diseases*, **13**(5), 391-400.
- Robertson, L., Thomas, P., Arnold, C., Trant, J. 1987. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. *The Progressive Fish-Culturist*, **49**(1), 1-12.
- Robertson, O. 1948. The occurrence of increased activity of the thyroid gland in rainbow trout at the time of transformation from parr to silvery smolt. *Physiological zoology*, 282-295.
- Robinette, D., Wada, S., Arroll, T., Levy, M., Miller, W., Noga, E. 1998. Antimicrobial activity in the skin of the channel catfish *Ictalurus punctatus*: characterization of broad-spectrum histone-like antimicrobial proteins. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, **54**(5), 467-475.
- Robinette, D.W., Noga, E.J. 2001. Histone-like protein: a novel method for measuring stress in fish. *Diseases of aquatic organisms*, **44**(2), 97-107.
- Rombout, J.H., Taverne, N., van de Kamp, M., Taverne-Thiele, A.J. 1993. Differences in mucus and serum immunoglobulin of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Developmental & Comparative Immunology*, **17**(4), 309-317.
- Ross, N., Firth, K., Wang, A., Burka, J.F., Johnson, S. 2000. Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of Aquatic Organisms*, **41**(1), 43.
- Rosseland, B.O., Lea, T.B., Hansen, L.P. 1982. Physiological effects and survival of Carlin-tagged and descaled Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in different water salinities. *ICES C.M. 1982/M:30*, 23 s.
- Rotllant, J., Redruello, B., Guerreiro, P., Fernandes, H., Canario, A.V., Power, D. 2005. Calcium mobilization from fish scales is mediated by parathyroid hormone related protein via the parathyroid hormone type 1 receptor. *Regulatory peptides*, **132**(1), 33-40.

- Rottmann, R., Francis-Floyd, R., Durborow, R. 1992. *The role of stress in fish disease*. Southern Regional Aquaculture Center.
- Rounsefell, G.A. 1958. *Anadromy in North American Salmonidae*. US Government Printing Office.
- Saha, N.R., Suetake, H., Suzuki, Y. 2004. Characterization and expression of the immunoglobulin light chain in the fugu: evidence of a solitaire type. *Immunogenetics*, **56**(1), 47-55.
- Salinas, I., Zhang, Y.-A., Sunyer, J.O. 2011. Mucosal immunoglobulins and B cells of teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology*, **35**(12), 1346-1365.
- Salte, R., Rørvik, K.A., Reed, E., Norberg, K. 1994. Winter ulcers of the skin in Atlantic salmon, *Salmo salar* L - pathogenesis and possible aetiology. *Journal of Fish Diseases*, **17**, 661-665.
- Samuelsen, O.B., Lunestad, B.T., Husevåg, B., Hølleland, T., Ervik, A. 1992. Residues of oxolinic acid in wild fauna following medication in fish farms.
- Sangiao-Alvarellos, S., Guzmán, J.M., Láiz-Carrión, R., Míguez, J.M., Martín Del Río, M.P., Mancera, J.M., Soengas, J.L. 2005. Interactive effects of high stocking density and food deprivation on carbohydrate metabolism in several tissues of gilthead sea bream *Sparus auratus*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, **303A**(9), 761-775.
- Sato, M., Yoshinaka, R., Ikeda, S. 1978. Dietary ascorbic acid requirement of rainbow trout for growth and collagen formation. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*.
- Saurabh, S., Sahoo, P. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, **39**(3), 223-239.
- Schmidt, D.R., Mangelsdorf, D.J. 2008. Nuclear receptors of the enteric tract: guarding the frontier. *Nutrition Reviews*, **66**, S88-S97.
- Schmidt, J.G., Nielsen, M.E., Ersbøll, B.K. 2013. Wound healing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*): with a focus on gene expression and wound imaging, Technical University of Denmark Danmarks Tekniske Universitet, Department of Informatics and Mathematical Modeling Institut for Informatik og Matematisk Modellering.
- Schreck, C.B. 1982. Stress and rearing of salmonids. *Aquaculture*, **28**(1), 241-249.
- Segner, H., Sundh, H., Buchmann, K., Douxfils, J., Sundell, K.S., Mathieu, C., Ruane, N., Jutfelt, F., Toften, H., Vaughan, L. 2012. Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish physiology and biochemistry*, **38**(1), 85-105.
- Shephard, K. 1994. Functions for fish mucus. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **4**(4), 401-429.
- Sheridan, M.A., Mommsen, T.P. 1991. Effects of nutritional state on in vivo lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology*, **81**(3), 473-483.
- Shieh, H., MacLean, J. 1976. Blood changes in brook trout induced by infection with *Aeromonas salmonicida*. *Journal of wildlife diseases*, **12**(1), 77-82.
- Simkiss, K. 1974. Calcium metabolism of fish in relation to ageing.
- Singh, A.P., Chaturvedi, P., Batra, S.K. 2007. Emerging Roles of MUC4 in Cancer: A Novel Target for Diagnosis and Therapy. *Cancer Research*, **67**(2), 433-436.
- Singh, A.P., Chauhan, S.C., Bafna, S., Johansson, S.L., Smith, L.M., Moniaux, N., Lin, M.-F., Batra, S.K. 2006. Aberrant expression of transmembrane mucins, MUC1 and MUC4, in human prostate carcinomas. *The Prostate*, **66**(4), 421-429.
- Singh, A.P., Moniaux, N., Chauhan, S.C., Meza, J.L., Batra, S.K. 2004. Inhibition of MUC4 Expression Suppresses Pancreatic Tumor Cell Growth and Metastasis. *Cancer Research*, **64**(2), 622-630.
- Sire, J.-Y. 1989. From Ganoid To Elasmoid Scales in the Actinopterygian Fishes. *Netherlands Journal of Zoology*, **40**(1), 75-92.

- Sire, J.-Y., Akimenko, M.-A. 2004. Scale development in fish: a review, with description of sonic hedgehog (shh) expression in the zebrafish (*Danio rerio*). *International journal of developmental biology*, **48**, 233-248.
- Sire, J.-Y., Allizard, F., Babiari, O., Bourguignon, J., Quilhac, A. 1997. Scale development in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Anatomy*, **190**(4), 545-561.
- Skretting. 2014. Medisinpellet fra Skretting, oversikt. Revidert aug 2014.
- Smith, J. 1986. Mutational resistance to 4-quinolone antibacterial agents. in: *Ciprofloxacin*, Springer, pp. 22-25.
- Smith, V.J., Fernandes, J.M.O., Jones, S.J., Kemp, G.D., Tatner, M.F. 2000. Antibacterial proteins in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & Shellfish Immunology*, **10**(3), 243-260.
- Soivio, A., Muona, M., Virtanen, E. 1989. Temperature and daylength as regulators of smolting in cultured Baltic salmon, (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, **82**(1), 137-145.
- Soivio, A., Virtanen, E., Muona, M. 1988. Desmoltification of heat-accelerated Baltic salmon (*Salmo salar* L.) in brackish water. *Aquaculture*, **71**(1), 89-97.
- Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L.E. 2007. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Changes)*, Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 1–996.
- Specker, J., Schreck, C. 1980. Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**(5), 765-769.
- Staurnes, M., Blix, P., Reite, O.B. 1989. Effects of acid water and aluminum on smolting and seawater tolerance in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, **82:383**.
- Subramanian, S., MacKinnon, S.L., Ross, N.W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **148**(3), 256-263.
- Sutherland, B.J., Koczka, K.W., Yasuike, M., Jantzen, S.G., Yazawa, R., Koop, B.F., Jones, S.R. 2014. Comparative transcriptomics of Atlantic *Salmo salar*, chum *Oncorhynchus keta* and pink salmon *O. gorbuscha* during infections with salmon lice *Lepeophtheirus salmonis*. *BMC Genomics*, **15**, 200.
- Svendsen, Y.S., Børgwald, J. 1997. Influence of artificial wound and non-intact mucus layer on mortality of Atlantic salmon (*Salmo salar*L.) following a bath challenge with *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas salmonicida*. *Fish & Shellfish Immunology*, **7**(5), 317-325.
- Sweetman, J.W., Torrecillas, S., Dimitroglou, A., Rider, S., Davies, S.J., Izquierdo, M.S. 2010. Enhancing the natural defences and barrier protection of aquaculture species. *Aquaculture Research*, **41**(3), 345-355.
- Thatcher, T.H., Gorovsky, M.A. 1994. Phylogenetic analysis of the core histones H2A, H2B, H3, and H4. *Nucleic Acids Res*, **22**(2), 174-9.
- Thorarensen, H., Clarke, W.C. 1989. Smoltification induced by a 'skeleton' photoperiod in underyearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Fish physiology and biochemistry*, **6**(1), 11-18.
- Tingaud-Sequeira, A., Fogue, J., André, M., Babin, P.J. 2006. Epidermal transient down-regulation of retinol-binding protein 4 and mirror expression of apolipoprotein Eb and estrogen receptor 2a during zebrafish fin and scale development. *Developmental dynamics*, **235**(11), 3071-3079.

- Torrecillas, S., Makol, A., Benítez-Santana, T., Caballero, M.J., Montero, D., Sweetman, J., Izquierdo, M. 2011. Reduced gut bacterial translocation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Fish & Shellfish Immunology*, **30**(2), 674-681.
- Torres, F.G., Troncoso, O.P., Nakamatsu, J., Grande, C.J., Gómez, C.M. 2008. Characterization of the nanocomposite laminate structure occurring in fish scales from *Arapaima Gigas*. *Materials Science and Engineering: C*, **28**(8), 1276-1283.
- Tunnsjø, H.S., Paulsen, S.M., Berg, K., Sørsum, H., L'Abée-Lund, T.M. 2009. The winter ulcer bacterium *Moritella viscosa* demonstrates adhesion and cytotoxicity in a fish cell model. *Microbial pathogenesis*, **47**(3), 134-142.
- Tunnsjø, H.S., Paulsen, S.M., Mikkelsen, H., L'Abée-Lund, T.M., Skjerve, E., Sørsum, H. 2007. Adaptive response to environmental changes in the fish pathogen *Moritella viscosa*. *Research in microbiology*, **158**(3), 244-250.
- Underwood, H., Goldman, B.D. 1987. Vertebrate circadian and photoperiodic systems: role of the pineal gland and melatonin. *Journal of biological rhythms*, **2**(4), 279-315.
- Urawa, S. 1992. Epidermal responses of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fry to the ectoparasitic flagellate *Ichthyobodo necator*. *Canadian Journal of Zoology*, **70**(8), 1567-1575.
- Urbanczyk, H., Ast, J.C., Higgins, M.J., Carson, J., Dunlap, P.V. 2007. Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, **57**(12), 2823-2829.
- Van Der Marel, M., Caspari, N., Neuhaus, H., Meyer, W., Enss, M.L., Steinhagen, D. 2010. Changes in skin mucus of common carp, *Cyprinus carpio* L., after exposure to water with a high bacterial load. *Journal of Fish Diseases*, **33**(5), 431-439.
- Vanstone, W., Markert, J. 1968. Some morphological and biochemical changes in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during parr-smolt transformation. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **25**(11), 2403-2418.
- Varanasi, U., Markey, D. 1978. Uptake and release of lead and cadmium in skin and mucus of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, **60**(2), 187-191.
- Vatsos, I.N., Kotzamanis, Y., Henry, M., Angelidis, P., Alexis, M. 2010. Monitoring stress in fish by applying image analysis to their skin mucous cells. *2010*, **54**(2).
- Verner-Jeffreys, D., Pond, M., Peeler, E., Rimmer, G., Oidtmann, B., Way, K., Mewett, J., Jeffrey, K., Bateman, K., Reese, R. 2008. Emergence of cold water strawberry disease of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in England and Wales: outbreak investigations and transmission studies. *Diseases of aquatic organisms*, **79**(3), 207-218.
- Vieira, F.A., Gregório, S.F., Ferraresso, S., Thorne, M.A., Costa, R., Milan, M., Bargelloni, L., Clark, M.S., Canario, A.V., Power, D.M. 2011. Skin healing and scale regeneration in fed and unfed sea bream, *Sparus auratus*. *BMC genomics*, **12**(1), 490.
- Waagbø, R., Sandnes, K., Espelid, S., Lie, Ø. 1988. Haematological and biochemical analyses of Atlantic salmon, *Salmo solar* L., suffering from coldwater vibriosis ('Hitra disease'). *Journal of Fish Diseases*, **11**(5), 417-423.
- Wadsworth, S., Lygren, B. 2009. Nukleotider reduserer påslag av lus og forhindrer resistens. *Norsk Fiskeoppdrett* **6A**, 50-53.
- Wallace, C., Waddell, R., Cockerill, D., Ritchie, G. 2009. Double mucal effect boosts sea lice control and potentially extends useful life of medications. *Fish Farming Expert* **1**, 48-53.

- Wargelius, A., Fjellidal, P., Hansen, T. 2005. Heat shock during early somitogenesis induces caudal vertebral column defects in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Development Genes and Evolution*, **215**(7), 350-357.
- Wedemeyer, G.A., Saunders, R.L., Clarke, W.C. 1980. *Environmental factors affecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonids*. Department of Fisheries and Oceans, Biological Station.
- Wellings, S., Brown, G. 1969. Larval skin of the flathead sole, *Hippoglossoides elassodon*. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, **100**(2), 167-179.
- Wendt, C.A.G., Saunders, R.L. 1973. Changes in carbohydrate metabolism in young Atlantic salmon in response to various forms of stress. *Spec. Publ. Int. Atlant. Salm. Found.*
- White, K.E., Larsson, T.E., Econs, M.J. 2006. The roles of specific genes implicated as circulating factors involved in normal and disordered phosphate homeostasis: frizzled related protein-4, matrix extracellular phosphoglycoprotein, and fibroblast growth factor 23. *Endocrine reviews*, **27**(3), 221-241.
- Whitear, M. 1986. *The skin of fishes including cyclostomes: epidermis*. Springer, , Berlin, Germany.
- Whitear, M. 1970. The skin surface of bony fishes. *Journal of Zoology*, **160**(4), 437-454.
- Whitman, K., Backman, S., Benediktsdottir, E., Coles, M., Johnson, G.R. 2001. Isolation and characterization of a new *Vibrio* spp. (*Vibrio wodanis*) associated with 'winter ulcer disease' in sea water raised Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in New Brunswick. *Aquaculture Canada* **2000**(4), 115.
- Whitson, S.W., Whitson, M.A., Bowers, D.E., Falk, M.C. 1992. Factors influencing synthesis and mineralization of bone matrix from fetal bovine bone cells grown in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*, **7**(7), 727-741.
- Witten, P.E., Hall, B.K. 2003. Seasonal changes in the lower jaw skeleton in male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): remodelling and regression of the kype after spawning. *Journal of Anatomy*, **203**(5), 435-450.
- Witten, P.E., Huysseune, A. 2009. A comparative view on mechanisms and functions of skeletal remodelling in teleost fish, with special emphasis on osteoclasts and their function. *Biological Reviews*, **84**(2), 315-346.
- Wright, P., Mackie, I. 1977. Mucus in the healthy and diseased eye. *Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom*, **97**(1), 1-7.
- www.felleskatalogen.no.
- Xu, Z., Parra, D., Gómez, D., Salinas, I., Zhang, Y.-A., von Gersdorff Jørgensen, L., Heinecke, R.D., Buchmann, K., LaPatra, S., Sunyer, J.O. 2013. Teleost skin, an ancient mucosal surface that elicits gut-like immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110**(32), 13097-13102.
- Yamamoto, T., Kawai, K., Oshima, S. 2011. Distribution of mucous cells on the body surface of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fish Biology*, **78**(3), 848-859.
- Yamauchi, K., Ban, M., Kasahara, N., Izumi, T., Kojima, H., Harako, T. 1985. Physiological and behavioral changes occurring during smoltification in the masu salmon, (*Oncorhynchus masou*). *Aquaculture*, **45**(1), 227-235.
- Yamauchi, K., Koide, N., Adachi, S., Nagahama, Y. 1984. Changes in seawater adaptability and blood thyroxine concentrations during smoltification of the masu salmon, (*Oncorhynchus masou*), and the amago salmon, (*Oncorhynchus rhodurus*). *Aquaculture*, **42**(3), 247-256.
- Yasuo, M. 1980. The source of calcium in regenerating scales of the goldfish, *Carassius auratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **66**(3), 521-524.

- Ytteborg, E., Baeverfjord, G., , H., Torgersen, J., Takle, H. 2010a. Molecular pathology of vertebral deformities in hyperthermic Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Physiology*.
- Ytteborg, E., Baeverfjord, G., Hjelde, K., Torgersen, J., Takle, H. 2009. Temperature affects the expression of genes involved in the mineralization process of the spinal column in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Bone*, **44**, S341-S342.
- Ytteborg, E., Torgersen, J., Baeverfjord, G., Takle, H. 2012. Four stages characterizing vertebral fusions in Atlantic salmon. *Journal of Applied Ichthyology*, **28**(3), 453-459.
- Ytteborg, E., Torgersen, J., Baeverfjord, G., Takle, H. 2010b. Morphological and molecular characterization of developing vertebral fusions using a teleost model. *BMC Physiology*, **10**(1), 13.
- Ytteborg, E., Torgersen, J.S., Pedersen, M.E., Helland, S.J., Grisdale-Helland, B., Takle, H. 2013. Exercise induced mechano-sensing and substance P mediated bone modeling in Atlantic salmon. *Bone*, **53**(1), 259-68.
- Zasloff, M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, **415**(6870), 389-395.
- Zaugg, W., McLain, L. 1976. Influence of water temperature on gill sodium, potassium-stimulated ATPase activity in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **54**(4), 419-421.
- Zhao, X., Findly, R.C., Dickerson, H.W. 2008. Cutaneous antibody-secreting cells and B cells in a teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology*, **32**(5), 500-508.
- Zhu, D., Ortega, C.F., Motamedi, R., Szewciw, L., Vernerey, F., Barthelat, F. 2012. Structure and Mechanical Performance of a “Modern” Fish Scale. *Advanced Engineering Materials*, **14**(4), B185-B194.

Vedlegg 1



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Bakgrunn

Hovedmålsettingen med dette prosjektet er å samle kunnskap om sårproblematikk og hudhelse i lakse- og regnbueørretoppdrett. En viktig del av arbeidet består i å innhente informasjon fra næringen om omfanget av sårproblemer i ulike deler av produksjonen og i ulike geografiske regioner, om praktiske erfaringer og om pågående prosjekter.

Spørreskjemaet

Spørreskjemaet under er delt i fire deler. I noen av delene er det repeterte spørsmål som kan fylles ut dersom det er aktuelt.

- **Del 1** Beskriv **lokaliteten** med kontaktinfo samt en oversikt over produksjonen i 2012 og 2013. Det spørres også om det har vært problemer med sår, og om omfanget av eventuelle problemer.
- **Del 2** Beskriv episoder med moderate og store **sårproblemer** nøyere - inntil tre episoder per anlegg.
- **Del 3** Beskriv avsluttede eller pågående **prosjekter** som selskapet har på sårproblematikk – inntil tre prosjekter per anlegg.
- **Del 4** Beskriv **suksesshistorier** – der en gjennom driftsendringer har lyktes å redusere eller bli kvitt sårproblemer.

Merknader til utfyllingen

Det fylles ut ett skjema per lokalitet. Ved utfylling av skjema tas utgangspunkt i produksjonen i fra 1.1.2012 til 31.12.2013.

***Postsmolt** er i dette skjema definert som: En fisk (laks) som holdes i settefiskanlegget gjennom smoltvinduet, der desmoltifisering unngås ved sjøvannsbruk (i varierende grad).

**Omfanget av sårproblemer klassifiseres etter en skala fra 0 til 3:

0 = ingen sårproblemer

1 = små sårproblemer - tilsvarer akkumulert avgang på 0 - 1 %

2 = moderate sårproblemer - tilsvarer akkumulert avgang på 1 – 5 %

3 = store sårproblemer - tilsvarer akkumulert avgang >5 %.

Data innsamlet i dette skjema publiseres bare i anonymisert form.

Spørsmål vedrørende spørreskjemaet rettes til Kristoffer Vale Nielsen, mobil: 469 37 202, epost:

kristoffer.vale.nielsen@vetinst.no

Utfylt spørreskjema og vedlegg sendes pr epost til: kristoffer.vale.nielsen@vetinst.no

Del 1: Lokaliteten					
Beskriv lokaliteten med kontaktinfo, oversikt over produksjonen og omfanget av eventuelle sårproblemer.					
Selskap		Lokalitet, navn			
Skjema utfyllt av / kontaktperson		Tlf		Epost	
Lokalitetsansvarlig		Tlf		Epost	
Fiskehelsetjeneste / kontaktperson		Tlf		Epost	
2012					
Laks	Yngel	Vårsmolt	Høstsmolt	Postsmolt*	
Produksjon laks i 2012, antall					

**FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk**

Teknologi <i>1 = Gjennomstrømning, 2 = RAS</i>				
Saltholdighet, ‰ <i>Angi nivå i uken før levering</i>				
Sårproblemer i anlegget** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				
Sårproblemer første mnd. etter utsett i sjø** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				
Regnbueørret	Yngel		Settefisk (etter vaksinasjon)	
Produksjon RBØ i 2012, antall				
Teknologi <i>1 = Gjennomstrømning, 2 = RAS</i>				
Saltholdighet, ‰ <i>Angi nivå i uken før levering</i>				
Sårproblemer i anlegget** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				
Sårproblemer første mnd. etter utsett i sjø** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				
2013				
Laks	Yngel	Vårsmolt	Høstsmolt	Postsmolt*
Produksjon laks i 2013, antall				
Teknologi <i>1 = Gjennomstrømning, 2 = RAS</i>				
Saltholdighet, ‰ <i>Angi nivå i uken før levering</i>				
Sårproblemer i anlegget** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				
Sårproblemer første mnd. etter utsett i sjø** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				
Regnbueørret	Yngel		Settefisk (etter vaksinasjon)	
Produksjon RBØ i 2013, antall				
Teknologi <i>1 = Gjennomstrømning, 2 = RAS</i>				
Saltholdighet, ‰ <i>Angi nivå i uken før levering</i>				
Sårproblemer i anlegget** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				
Sårproblemer første mnd. etter utsett i sjø** <i>0 = Ingen, 1 = Små, 2 = Moderate, 3 = Store</i>				



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Sorteres uttatte dødfisk og svimere rutinemessig etter sannsynlig dødsårsak?	Ja		Nei	
Hvis ja i spørsmålet over: Registreres dødfisk og svimere i disse ulike kategoriene i produksjonsstyringsprogrammet?	Ja		Nei	

Merknader:

Del 2: Sårproblemer				
Beskriv episoder med moderate og store sårproblemer nøyere - inntil tre episoder per anlegg				
Episode 1				
Fisken	Art, L/RBØ		Snittvekt, g	
	Antall i berørt gruppe (totalt i kar med sårproblemer, ved start sårproblemer)			
	Yngel (x)		Vårsmolt (x)	
	Høstsmolt (x)		Postsmolt (x)	
	Vaksinert, dato		Vaksinetype	
Avgang	Fra Økt avgang fra dato		Til Normalisert avgang fra dato (evt. utsettsdato)	



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

	Akkumulert avgang i perioden i berørt gruppe, antall				
Vannkvalitet / karmiljø ved start på sårproblemer	Temp, °C		Saltholdighet, ‰		
	Vannforbruk, L/kg/min		Tetthet, kg/m ³		
Beskriv en gjennomsnittssårisk – sett flere kryss som til sammen beskriver denne best mulig					
Sårene		Lokaliseringen		Annet	
Store		Snute-/hoderegion		Finneråte	
Små		Buk		Risttap	
Overflatiske		Side			
Dype		Hale			
Få sår, 1-2		Finnebasis			
Flere sår, 3 +		Vilkårlig			
Antatt(e) årsak(er) til sårproblem(er)					
Diagnose(r) fra helsetjeneste / laboratorium					
Andre diagnoser					
Påviste agens					
Gjennomførte tiltak, inkl. behandlinger					
Hadde det/de gjennomførte tiltak effekt?					
Var episoden en enkelthendelse eller et tilbakevendende problem?					
Vedlegg (x) Send gjerne aktuelle vedlegg!		Helserapport(er)		Laboratoriesvar	
Merknader		Avgang, karnivå		Annet	
				Foto	
Episode 2					
Fisken	Art, L/RBØ		Snittvekt, g		
	Antall i berørt gruppe (totalt i kar med sårproblemer, ved start sårproblemer)				
	Yngel (x)		Vårsmolt (x)		
	Høstsmolt (x)		Postsmolt (x)		
	Vaksinert, dato		Vaksintype		
Avgang	Fra Økt avgang fra dato		Til Normalisert avgang fra dato (evt. utsettsdato)		
	Akkumulert avgang i perioden i berørt gruppe, antall				



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Vannkvalitet / karmiljø ved start på sårproblemer	Temp, °C		Saltholdighet, ‰	
	Vannforbruk, L/kg/min		Tetthet, kg/m ³	
Beskriv en gjennomsnittssårfisk – sett flere kryss som til sammen beskriver denne best mulig				
Sårene		Lokaliseringen		Annet
Store		Snute-/hoderegion		Finneråte
Små		Buk		Risttap
Overflatiske		Side		
Dype		Hale		
Få sår, 1-2		Finnebasis		
Flere sår, 3 +		Vilkårlig		
Antatt(e) årsak(er) til sårproblem(er)				
Diagnose(r) fra helsetjeneste / laboratorium				
Andre diagnoser				
Påviste agens				
Gjennomførte tiltak, inkl. behandlinger				
Hadde det/de gjennomførte tiltak effekt?				
Var episoden en enkelthendelse eller et tilbakevendende problem?				
Vedlegg (x) Send gjerne aktuelle vedlegg!	Helserapport(er)		Laboratoriesvar	Foto
	Avgang, karnivå		Annet	
Merknader				
Episode 3				
Fisken	Art, L/RBØ		Snittvekt, g	
	Antall i berørt gruppe (totalt i kar med sårproblemer, ved start sårproblemer)			
	Yngel (x)		Vårsmolt (x)	
	Høstsmolt (x)		Postsmolt (x)	
	Vaksinert, dato		Vaksinetype	
Avgang	Fra Økt avgang fra dato		Til Normalisert avgang fra dato (evt. utsettsdato)	
	Akkumulert avgang i perioden i berørt gruppe, antall			



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Vannkvalitet / karmiljø ved start på sårproblemer	Temp, °C		Saltholdighet, ‰	
	Vannforbruk, L/kg/min		Tetthet, kg/m ³	
Beskriv en gjennomsnittssårfisk – sett flere kryss som til sammen beskriver denne best mulig				
Sårene		Lokaliseringen		Annet
Store		Snute-/hoderegion		Finneråte
Små		Buk		Risttap
Overflatiske		Side		
Dype		Hale		
Få sår, 1-2		Finnebasis		
Flere sår, 3 +		Vilkårlig		
Antatt(e) årsak(er) til sårproblem(er)				
Diagnose(r) fra helsetjeneste / laboratorium				
Andre diagnoser				
Påviste agens				
Gjennomførte tiltak, inkl. behandlinger				
Hadde det/de gjennomførte tiltak effekt?				
Var episoden en enkelthendelse eller et tilbakevendende problem?				
Vedlegg (x) Send gjerne aktuelle vedlegg!	Helserapport(er)		Laboratoriesvar	Foto
	Avgang, karnivå		Annet	
Merknader				
Del 3: Sårprosjekter				
Beskriv avsluttede eller pågående prosjekter som selskapet har på sårproblematikk				
Prosjekt 1				
Har selskapet avsluttede eller pågående prosjekter relatert til sårproblematikk? (J/N)		Finnes skriftlig sluttrapport, eller lignende? (J/N)		
Navn på prosjekt		Prosjektperiode		
Andre involverte lokaliteter, lokalitetsnr.		Partnere		



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Årsak til initiering av prosjekt			
Resultater, kort oppsummert			
Driftstilpasninger som følge av resultater			
Prosjekt 2			
Har selskapet avsluttede eller pågående prosjekter relatert til sårproblematikk? (J/N)		Finnes skriftlig sluttrapport, eller lignende? (J/N)	
Navn på prosjekt		Prosjektperiode	
Andre involverte lokaliteter, lokalitetsnr.		Partnere	
Årsak til initiering av prosjekt			
Resultater, kort oppsummert			
Driftstilpasninger som følge av resultater			
Prosjekt 3			
Har selskapet avsluttede eller pågående prosjekter relatert til sårproblematikk? (J/N)		Finnes skriftlig sluttrapport, eller lignende? (J/N)	
Navn på prosjekt		Prosjektperiode	
Andre involverte lokaliteter, lokalitetsnr.		Partnere	
Årsak til initiering av prosjekt			



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Resultater, kort oppsummert	
Driftstilpasninger som følge av resultater	
Del 4: Suksesshistorier Beskriv suksesshistorier – der en gjennom driftsendringer har lyktes å redusere eller bli kvitt sårproblemer. Nevn gjerne gjennomførte driftstilpasninger som ikke er basert på prosjekter / egne prosjekter, men som er gjennomført med bakgrunn sårproblematikk.	

Vedlegg 2



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Bakgrunn

Hovedmålsettingen med dette prosjektet er å samle kunnskap om sårproblematikk og hudhelse i lakse- og regnbueørretoppdrett. En viktig del av arbeidet består i å innhente informasjon fra næringen om omfanget av sårproblemer i ulike deler av produksjonen og i ulike geografiske regioner, om praktiske erfaringer og om pågående prosjekter.

Spørreskjemaet

Del 1 innledes med kontaktinformasjon. Dernest etterspørres rutiner for kvalitetsgradering av fisk på slakteriet. Her kan en velge om en vil vedlegge prosedyrer og skjema eller gi en generell beskrivelse av rutinene.

I **Del 2** skal produksjonen i 2012 og 2013 (1.1.2012 – 31.12.2013) gjennomgås, og det spørres spesielt etter andelen fisk som har blitt nedklasset som følge av sår. I skjemaet skilles det mellom laks og regnbueørret. For å minimalisere usikkerhetsfaktorene rundt definisjoner på sår tas det utgangspunkt i punkt 5.2.3 b) i bransjestandarden NBS 10-01: *Kvalitetsgradering av oppdrettet laks*, http://fhl.nsp01cp.nhosp.no/files/Standard_Kvalitetsgradering_av_oppdrettet_laks.pdf

Og i punkt 5.2.3 b) i bransjestandarden NBS 10-02: *Kvalitetsgradering av oppdrettet regnbueørret*, http://fhl.nsp01cp.nhosp.no/files/Standard_Kvalitetsgradering_av_oppdrettet_regnbueoorret.pdf

Merknader

Det fylles ut ett spørreskjema per slakteri

Data innsamlet i dette skjema publiseres bare i anonymisert form.

Spørsmål vedrørende spørreskjemaet rettes til Kristoffer Vale Nielsen, mobil: 469 37 202, epost: kristoffer.vale.nielsen@vetinst.no

Utfylt spørreskjema samt vedlegg sendes pr epost til: kristoffer.vale.nielsen@vetinst.no

Del 1			
Selskap		Slakteri, navn	
Skjema utfylt av		Epost Tlf	
Daglig leder, slakteri		Epost Tlf	
Kvalitetsgradering -legg ved intern prosedyre og skjema for kvalitetsgradering, eller beskriv i korte trekk.			



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Del 2								
Kapasitet slakteri ca./døgn	Sløydvekt			Antall				
Laks								
Produksjon pr mnd. 2012, tonn sløyd laks	Jan.		Feb.		Mar.		Apr.	
	Mai		Jun.		Jul.		Aug.	
	Sep.		Okt.		Nov.		Des.	
Produksjon pr mnd. 2013, tonn sløyd laks	Jan.		Feb.		Mar.		Apr.	
	Mai		Jun.		Jul.		Aug.	
	Sep.		Okt.		Nov.		Des.	
I prosentberegningene nedenfor tas utgangspunkt i antall, <u>ikke</u> i vekt. «Andel sår» beregnes som prosentandel av fisk nedklasset til «produksjon», <u>ikke</u> av totalantall.								
Nedklassing laks	2012				2013			
	Produksjon, %		Andel sår, %		Produksjon, %		Andel sår, %	
Januar								



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

Februar								
Mars								
April								
Mai								
Juni								
Juli								
August								
September								
Oktober								
November								
Desember								
Regnbueørret								
Produksjon pr mnd. 2012, tonn sløyd regnbueørret	Jan.		Feb.		Mar.		Apr.	
	Mai		Jun.		Jul.		Aug.	
	Sep.		Okt.		Nov.		Des.	
Produksjon pr mnd. 2013, tonn sløyd regnbueørret	Jan.		Feb.		Mar.		Apr.	
	Mai		Jun.		Jul.		Aug.	
	Sep.		Okt.		Nov.		Des.	
I prosentberegningene nedenfor tas utgangspunkt i antall, ikke i vekt. «Andel sår» beregnes som prosentandel av fisk nedklasset til «produksjon», ikke av totalantall.								
Nedklassing regnbueørret	2012				2013			
	Produksjon, %	Andel sår, %			Produksjon, %	Andel sår, %		
Januar								
Februar								
Mars								
April								
Mai								
Juni								
Juli								
August								
September								
Oktober								
November								
Desember								
Merknader:								



FHF-prosjekt #900989 Spørreskjema settefisk

--

