

## Oppklaring av yngeldødelighet

*Anne-Gerd Gjevre*

*Anne Berit Olsen*

*Hege Hellberg*

*Hanne Katrine Nilsen*

*Hanne Ringkjøb Skjelstad*

*Marta Alarcón*

*Øyvind Vågnes*

*Duncan Colquhoun*

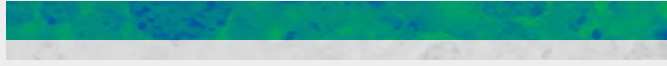
*Even Thoen*

*Åse Åtland, NIVA*

*Linda Marie Skryseth, NIVA*

*Atle Lillehaug*





Veterinærinstituttets rapportserie · 3 - 2013

**Tittel**  
Oppklaring av yngeldødelighet

**Publisert av**  
Veterinærinstituttet · Pb. 750 Sentrum · 0106 Oslo

**Form:** Graf AS  
Veterinærinstituttet

**Forsidebilde:** Kar med syk yngel. Øystein B. Markussen,  
MarinHelse AS.

**Bestilling**  
kommunikasjon@vetinst.no  
Tel: 23 21 63 66

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

**Forslag til sitering:**  
Gjevre A-G m.fl. Oppklaring av yngeldødelighet. Veterinær-  
instituttets rapportserie 3-2013. Oslo: Veterinærinstituttet;  
2013.

© Veterinærinstituttet  
Kopiering tillatt når kilde gjengis



Veterinærinstituttets rapportserie  
— Norwegian Veterinary Institute Report Series  
*Rapport 3 · 2013*

## Oppklaring av yngeldødelighet

*Forfattere*

*Anne-Gerd Gjevre*

*Anne Berit Olsen*

*Hege Hellberg*

*Hanne Katrine Nilsen*

*Hanne Ringkjøb Skjelstad*

*Marta Alarcón*

*Øyvind Vågnes*

*Duncan Colquhoun*

*Even Thoen*

*Åse Åtland, NIVA*

*Linda Marie Skryseth, NIVA*

*Atle Lillehaug*

*5. mars 2013*

*ISSN 1890-3290 elektronisk utgave*



**Veterinærinstituttet**  
— Norwegian Veterinary Institute

# Innhold

1. SAMMENDRAG .....	5
2. INNLEDNING .....	5
3. ORGANISERING AV PROSJEKTET .....	5
4. INNSAMLING AV MATERIALE OG OPPLYSNINGER OM ANLEGG .....	5
5. UNDERSØKELSE AV INNSAMLET MATERIALE .....	6
6. RESULTATER .....	6
6.1. ANLEGG 1 .....	7
6.2. ANLEGG 2 .....	8
6.3. ANLEGG 3 .....	9
6.4. ANLEGG 4 .....	10
6.5. ANLEGG 5 .....	11
6.6. ANLEGG 6 .....	12
6.7. ANLEGG 7 .....	13
6.8. ANLEGG 8 .....	14
6.9. ANLEGG 9 .....	15
7. OPPSUMMERING OG EVALUERING .....	16
7.1. UNDERSØKELSE AV LEVENDE YNGEL .....	16
7.2. GIR HISTOPATOLOGIEN NOEN HOLDEPUNKTER? .....	16
7.3. HVORDAN TOLKE MIKROBIOLOGISKE FUNN? .....	16
7.4. HVA VISTE RESULTATENE FRA VANNANALYSENE? .....	17
7.5. KAN INNHENTING AV EKSTRA OPPLYSNINGER GI NOEN SVAR? .....	17
8. OPPSUMMERING .....	17
9. REFERANSER .....	17
10. VEDLEGG .....	20

## 1. Sammendrag

Rapporten oppsummerer resultatene av sykdomsoppklaring i forbindelse med forøket dødelighet hos lakseyngel mellom startfôring og 2 gram og er basert på såkalt "prosjektbasert diagnostikk". Ni settefiskanlegg deltok i prosjektet som ble gjennomført i yngelsesongen 2012. Fra alle anlegg ble det sendt inn levende og formalinfiksert yngel for undersøkelse ved Veterinærinstituttet. I tillegg sendte åtte anlegg inn prøver av fôret. Seks av anleggene sendte inn opplysninger om fiskegruppe, miljø og driftsforhold. Syv anlegg sendte inn vannprøver til Norsk institutt for vannforskning. Undersøkelsen av yngelen kunne ikke påvise noen spesifikke årsaker til den forøkede dødeligheten, og det mest fremtredende funnet hos syk yngel var redusert aktivitet og tilvekst, samt gjelleirritasjon. Det ble ofte påvist samme type blandingsflora av miljø- og vannbakterier fra frisk og syk yngel, men det ble oftere påvist sterkere vekst fra syk yngel sammenliknet med frisk yngel. I tre av de ni anleggene ble det imidlertid påvist forskjellig bakterieflora fra syk og frisk fisk. I alt fire anlegg hadde suboptimale verdier på en eller to vannparametre. Det dreide seg om for lav pH, forhøyet nivå av kopper og aluminium i råvannet, samt forhøyet nivå av fritt CO<sub>2</sub> i driftsvann. Dette kan i noen tilfeller ha påvirket fisken negativt, men er neppe primærårsaken til den forøkede dødeligheten.

Det er mye som tyder på at årsaker til uforklarlig yngeldødelighet er relatert til driften av anlegget og at vannkvaliteten spiller en rolle. Likevel er det viktig å avklare om spesifikke infeksjoner med sopp, bakterier, virus eller parasitter kan være medvirkende til problemene, da slike sykdommer gjerne utløses ved stress pga. suboptimale driftsforhold. I dette prosjektet var det lite som tydet på at fôret var en utløsende faktor.

Denne rapporten beskriver de undersøkelser som ble iverksatt i forbindelse med uforklarlig dødelighet hos lakseyngel. En tilsvarende fremgangsmåte kan være aktuell ved en systematisk utredning av anlegg med denne typen problemer i fremtiden.

## 2. Innledning

Veterinærinstituttet mottar hvert år mange innsendte prøver på grunn av problemer med forhøyet dødelighet hos yngel etter startfôring. I flere av disse sakene har det vært vanskelig å komme fram til klare årsakssammenhenger når standard metoder for diagnostikk har vært benyttet. I yngelsesongen 2012 etablerte Veterinærinstituttet derfor et prosjekt som la opp til mer omfattende og standardisert innsamling av prøver og innhenting av informasjon om de affiserte anleggene for yngelproduksjon. Fiskehelsetjenestene ble informert om at det var ønskelig at settefiskanlegg deltok i prosjektet dersom det oppsto en situasjon med unormal yngeldødelighet mellom startfôring og 2 grams størrelse. Anleggene betalte en egenandel på kr. 10 000, mot at de fikk prøvesvar og sluttrapport tilsendt.

## 3. Organisering av prosjektet

Atle Lillehaug var ansvarlig prosjektleder under planlegging og gjennomføringen av prosjektet. Anne-Gerd Gjevne hadde ansvar for oppsummering og sluttrapport.

Det ble opprettet en prosjektgruppe bestående av personer fra ulike seksjoner ved Veterinærinstituttet samt fra Norsk institutt for vannforskning (NIVA). Ewos, Skretting og Biomar var kontakter på forsiden og NOFIMA ved Grete Bæverfjord hadde ansvar for eventuelle foranalyser.

## 4. Innsamling av materiale og opplysninger om anlegg

Fra settefiskanleggene ble det samlet inn følgende materiale og opplysninger fra de(n) affiserte yngelgruppen(e) (en gruppe yngel har samme opphav, klekketidspunkt og størrelse):

1. Minst 20 levende yngel fra hver av følgende kategorier
  - a. Yngel med kliniske symptomer fra kar med økt dødelighet
  - b. Tilsynelatende frisk yngel fra kar med økt dødelighet
  - c. Yngel uten kliniske symptomer fra kar uten økt dødelighet
2. Minst 10 avlivete yngel på formalin fra følgende kategorier
  - a. Yngel med kliniske symptomer fra kar med økt dødelighet
  - b. Yngel uten kliniske symptomer fra kar uten økt dødelighet

3. To fôrprøver à ca. 100 gram
4. Vannprøver av ubehandlet råvann og avløpsvann fra kar
5. Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold registret på et eget skjema (se Vedlegg).

Prøver av yngel og fôr samt registreringskjema ble sendt til Veterinærinstituttets laboratorier, mens prøver av vann ble sendt til NIVA for analyse. Det ble utarbeidet detaljerte prosedyrer for all prøvetaking (se Vedlegg).

## 5. Undersøkelse av innsamlet materiale

1. Levende yngel fra alle kategorier ble undersøkt under lupe/fasekontrastmikroskop for utvendige forandringer. Dersom undersøkelsen indikerte at sopp eller parasitter kunne være involvert, ble det tatt ut prøver for å verifisere dette. Det ble alltid tatt ut prøver for bakteriologiske undersøkelser. Bakteriologiske og mykologiske undersøkelser ble gjennomført etter spesielle prosedyrer (se Vedlegg).
2. Yngel på formalin ble undersøkt etter vanlige histopatologiske prosedyrer.
3. Fôrprøvene ble oppbevart ved -18 °C i påvente av videre analyse hos NOFIMA dersom andre resultater og observasjoner indikerte at føret var av betydning for yngeldødeligheten.
4. Vannprøver av ubehandlet råvann, driftsvann (etter vannbehandling) og i noen tilfeller også karvann ble analysert for følgende parametre:
  - a. Råvann: pH, ledningsevne, turbiditet, alkalitet, totalt organisk karbon (TOC), kalsium, magnesium, aluminium, jern, kobber og mangan
  - b. Karvann: pH, ledningsevne, turbiditet, alkalitet, TOC og totalt ammonium nitrogen (TAN) og CO<sub>2</sub>
5. Opplysningene fra registreringskjemaet skulle etter planen benyttes i en epidemiologisk undersøkelse for å avdekke mulige årsakssammenhenger.

## 6. Resultater

Det var totalt ni anlegg som ble med i prosjektet. Dette var ca. 20 % av forventet/ønsket antall deltakere. Av disse ni ble det innsendt vannprøver fra syv anlegg, fôrprøver fra åtte og registreringskjema fra seks anlegg. På grunn av det lave antallet deltakere og mangelfull prøve- og datainnsending, var det ikke mulig å gjennomføre en mer omfattende epidemiologisk undersøkelse som kunne avdekket systematiske årsakssammenhenger i flere anlegg. Det ble derfor besluttet å presentere en oppsummering av resultatene for hvert enkelt anlegg og med størst vekt på de anleggene som det var mest informasjon om (tabell 1). I denne rapporten er anleggene nummerert fra 1 til 9 med et saksnummer som identifiserer hvert anlegg.

Tabell 1. Oversikt over anlegg og status for datainnsamling

Anlegg nr	Saksnr	Innsendt vannprøve	Innsendt registreringskjema	Innsendt fôrprøve
1	60-874	-	+	
2	50-289/90	+	+	
3	50-297	+	-	
4	50-407	-	+	
5	50-417	+	+	
6	50-450	+	+	
7	50-705	+	+	
8	50-929	+	-	
9	70-3436	+	-	

## 6.1. Anlegg 1

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Anlegget hadde en samlet produksjon på 500 000 yngel per år fra egenproduserte egg, med egen yngelavdeling hvor hvert kar hadde egen vanntilførsel. Antall døgngrader fra klekking til startføring var 920 og tettheten for yngel på rundt 2 gram ble oppgitt til ca. 10 kg/m<sup>3</sup>.

Råvannet ble filtrert og UV-behandlet og det ble ikke benyttet resirkulering. Anlegget benyttet ikke rutinemessig sjøvannstilsetning og det var ikke tilsatt sjøvann til den aktuelle yngelgruppa.

Vanntemperaturen ved klekking av yngelen var 8°C og temperaturen ved startføring (26. januar) var 12,5°C. Da problemene startet var temperaturen 12,5°C. Det var ingen mistanke om at problemene var føringsrelatert. Det ble føret fire ganger per time ved bruk av robot. Automatene ble rengjort ved skifte av førtype.

Normal klekkeprosent var 95, årets klekkeprosent var ikke oppgitt. Normal akkumulert dødelighet for yngel fra klekking til startføring var 2-3 %. Anlegget oppga at yngeldødelighet i denne perioden var oppfattet som et gjentakende problem. Årsaken til problemet var ikke kjent og alle karene i gruppen var affisert i år. Akkumulert dødelighet i kar med problemer ble angitt å variere fra 5 til 16 %. Det var betydelige forskjeller i dødelighet mellom ulike grupper yngel. Dødeligheten innen gruppen var innledningsvis lik, men ble etter hvert mer differensiert.

Rogna ble rutinemessig behandlet med formalin tre ganger per uke fram til klekking. Yngelen ble imidlertid ikke behandlet rutinemessig mot sopp eller parasitter.

### Beskrivelse av utbruddet

Fisken viste kliniske tegn på sykdom før den døde: Nedsatt føropptak, sviming, spiralsvømming, fisken sto i vannutløpet, pusteproblemer, finneråte og lyse prikker i huden ble observert på levende fisk. På død fisk ble det registrert bloduttredelse på finner, tom tarm og stor plommesekkmasse. Forløpet utviklet seg raskt med raskt økende dødelighet. Død fisk fra kar med problemer ble fjernet daglig. Et stykke ut i forløpet ble det observert at fisk uten kliniske symptomer også døde. Denne var imidlertid tynnere enn annen fisk. Det ble også observert et betydelig innslag av fisk som lå på bunnen og svømte med spiralbevegelse når de ble berørt.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Her ble det sendt inn yngel med kliniske symptomer fra to affiserte kar (kategori 1a) og frisk yngel fra ett kar uten symptomer (kategori 1c). Det ble ikke sendt inn tilsynelatende frisk yngel fra affisert kar (kategori 1c). Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 2.

Tabell 2. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 1

Undersøkelse	Kategori	
	Syk yngel	Frisk yngel
Levende yngel	Tynne, mørke individer med redusert aktivitet. En del med stor buk/plommesekk, noen med lyse indre organer/hvit buk. Noe finneslitasje.	Normal yngel med god svømmeaktivitet
Formalinfiksert vev	De fleste uten spesifikke funn <sup>1</sup>	Ingen spesifikke funn
Bakterier	<i>Flavobacterium sp.</i> <i>Chryseobacterium sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Arthrobacter sp.</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup>Plommesekk i bukhule, ascites, stuvning rundt øyet og retent plommesekk ble observert hos enkeltindivider.

### Resultat av vann- og fôranalyser

Det ble ikke sendt inn vannprøver fra dette anlegget. Fôrprøvene ble ikke analysert da det ikke var noen indikasjon på at dødeligheten var fôrrelatert.

### Mulige årsaker til dødelighet

Lite innhold i tarmen og stor lys buk/plommesekk ble observert på syk yngel. Årsaken til dette er ukjent.

## 6.2. Anlegg 2

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Det ble sendt inn prøver fra to ulike yngelgrupper fra hhv. avdeling C og H. Anlegget har en samlet produksjon på 9,8 millioner yngel per år basert på innkjøpt øyerogn fra én leverandør. De hadde egen yngelavdeling hvor hvert kar hadde egen vanntilførsel. Antall døgngrader fra klekking til startföring var 400 og tettheten for yngel på rundt 2 gram ble oppgitt til ca. 40 kg/m<sup>3</sup>. Vannforbruket var 2 liter/kg yngel/minutt.

Råvannet ble filtrert (kullfilter og thiosulfat) og ozon-behandlet og det ble ikke benyttet resirkulering. Anlegget benyttet ikke rutinemessig sjøvannstilsetning og det var ikke tilsatt sjøvann til den aktuelle yngelgruppa. Vanntemperaturen ved klekking av yngelen var 7,5°C og temperaturen ved startföring (18. januar i avdeling C, 25. januar i avdeling H) var maks 12°C. Da problemene startet var temperaturen 11,5-12,0°C. Det var ingen mistanke om at problemene var föringsrelatert. Föring pågikk i 2-3 sekunder, med 2,5-3 sekunders pause. Automatene ble rengjort en gang per generasjon.

Normal klekkeprosent var > 95 og årets klekkeprosent var 92-93. Normal akkumulert dødelighet for yngel fra klekking til startföring var maks 1 %. Anlegget oppga at yngeldødelighet i denne perioden ikke var oppfattet som et gjentakende problem. Antatt årsak til slike problemer var liten plommeseckyngel. Sopp og stress (av ukjent årsak) ble antatt å være årsak til dødeligheten i denne sesongen. Tretti prosent av karene hadde forøket dødelighet. Akkumulert dødelighet i kar med problemer ble angitt å variere fra 0,6 til 13,1 %. Det var ikke betydelige forskjeller i dødelighet mellom ulike grupper yngel. Dødeligheten innen en gruppe varierte.

Rogn og yngel ble ikke rutinemessig behandlet. Det ble behandlet med pyceze/formalin ved behov.

### Beskrivelse av utbruddet

I avdeling C startet problemene med at øyerognen som ble lagt inn var for liten, ca 7200 korn/liter. Senere ble det utviklet sopp på plommeseckyngelen. Yngelen hadde nedsatt föreropptak og soppdannelse på hud og /eller gjeller og ble behandlet to ganger. På død fisk ble det registrert bloduttredelse rundt gattet og tom tarm. Forløpet i avd. H ble beskrevet som mer akutt enn i avd. C. I avdeling H startet problemene først 7.02 da yngelen begynte å "rase rundt" i karene. Dødfisk fra kar med problemer ble fjernet daglig.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Fra begge avdelingene ble det levert fisk fra kar med hhv høy dødelighet (det ble oppgitt at fisken var normal fra avdeling H) og lav dødelighet (avd. C) og kontroll (avd. H). Resultatene av undersøkelsen fra de to avdelingene var forholdsvis like og er oppsummert i tabell 3

Tabell 3. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 2

Undersøkelse	Kategori	
	<i>Syk yngel</i>	<i>Frisk yngel<sup>1</sup></i>
Levende yngel	Normal adferd, varierende størrelse	Normal adferd, varierende størrelse
Formalinfiksert vev	Bukhinnebetennelse <sup>2</sup> För i mage-tarm	Bukhinnebetennelse <sup>2</sup> För i mage-tarm
Bakterier	Uspesifikk bakterieflora <sup>3</sup>	Uspesifikk bakterieflora <sup>3</sup>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup>Kar med lav dødelighet/kontroll, <sup>2</sup>Hos enkeltindivider

<sup>3</sup> For avdeling C fra kar med høy dødelighet var det rikelig, uspesifikk bakterievekst og fra kar med lav dødelighet sparsom bakterievekst

### Resultat av vann- og föranalyser

Alle resultater fra vannanalyser gjennomfört i prosjektet er vist i tabell 13. Resultatene fra dette anlegget viste at råvannet hadde pH (6,52) innenfor det optimale for laksefisk, middels alkalitet og relativt lavt humusinnhold. Konsentrasjonen av metallene aluminium, jern og kobber var alle lavere enn det som er problematisk for laksefisk. Det var derfor ingen indikasjon på at dødeligheten var relatert til vannkvaliteten i dette tilfellet. Förprøver ble ikke undersøkt.

### Mulige årsaker til dødelighet

Det ble ikke gjort funn som tyder på kjent spesifikk sykdom. Det ble påvist bukhinnebetennelse hos enkeltindivider både hos yngel i kar med høy og lav dødelighet. Årsak og betydning av dette er usikkert. Fisken hadde appetitt, i det det ble påvist för i fordøyelseskanalen. For gruppen med høy dødelighet fra avdeling C kan bakterieresultatet tyde på dårligere karmiljö enn i kar med lav dødelighet.



### 6.3. Anlegg 3

#### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Det ble ikke innsendt slik informasjon fra anlegget.

#### Beskrivelse av utbruddet

Yngelen ble klekket 27.-30.11.2011. Det ble opplyst at fisken virket stresset under startföring 18. januar og at dødeligheten da hadde vært moderat forøket. Yngelen sto først mye på bunnen, men hadde siden begynt å fordele seg i hele karet.

#### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Det ble sendt inn syk (merket "tynn") og tilsynelatende frisk yngel fra ett kar med forøket dødelighet. Det ble ikke sendt frisk yngel fra kar med normal dødelighet. Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 4.

Tabell 4. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 3

Undersøkelse	Kategori	
	Syk yngel	Frisk yngel
Levende yngel	Normal adferd. Avmagring. Gjellelokkforkortelse	Normal adferd. Gjellelokkforkortelse
Formalinfiksert vev	Unormalt materiale i gjellehule, moderat gjelleirritasjon, halefinnebetennelse. Fôr i mage-tarm.	Sparsomt med materiale i gjellehule, bukhinnebetennelse hos enkeltindivid. Fôr i mage-tarm.
Bakterier	Rikelig, unormal bakterievekst <sup>1</sup>	Rikelig, unormal bakterievekst <sup>1</sup>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup> Dominert av *Flavobacterium* sp. (*Sphingomonas* sp.)

#### Resultat av vann- og föranalyser

Analyseresultatene fra NIVA er vist i tabell 13. Vannets pH på 6,42 var innenfor det optimale, og bufferkapasiteten og ledningsevnen var høy. Det stilles spørsmål ved om det var tilsatt sjøvann i anlegget på det aktuelle tidspunktet ettersom tidligere prøver på anlegget har vist langt lavere verdier - ledningsevnen som verdiene av Ca og Mg kan tilsi en sjøvannstilsetning til en salinitet på omkring 0,5-0,6 ‰. Konsentrasjonene av metallene aluminium og jern var svært lave, men det var et noe høyt kobberinnhold i vannet (7,2 µg/L). Tidligere arbeid (Meade 1989) har satt anbefalte grenseverdier for kobber på 6 µg/L for fisk i ferskvann med hardhet på < 100 mg/L og en grense på 30 µg/L i vann med hardhet > 100 mg/L. Hardheten i råvannet fra anlegget var på 98 mg/L, og ligger derfor i grenseområdet for giftighet. Fôrprøvene ble ikke analysert da det ikke var noen indikasjon på at dødeligheten var förrelatert.

#### Mulige årsaker til dødelighet

En del av den undersøkte fisken var avmagret, men hadde appetitt, i det det ble påvist för i fordøyelseskanalen. Det ble ikke påvist spesifikk sykdom som eventuelt kunne være årsak til avmagringen. Hovedfunn var unormalt materiale i gjellehulen, til dels dominert av bakterier. Det ble også påvist en unormal oppvekst av en bestemt type miljø- og vannbakterier (*Flavobacterium* sp). Videre ble det også påvist noe høyt kopperinnhold i vannet, og dette kan muligens ha medvirket til gjelleirritasjonen. Som nevnt over er midlertid vannets hardhet høy, og dette vil redusere kobberets giftighet. Det anbefales at det utføres en videre overvåkning av vannkvaliteten ved anlegget för å kartlegge om forhøyede konsentrasjoner av kobber forekommer jevnlig, og i så fall bør det iverksettes vannbehandling.

## 6.4. Anlegg 4

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Anlegget hadde en samlet produksjon på rundt 5 millioner yngel per år på innkjøpt øyerogn fra én leverandør. Det var egen yngelavdeling hvor hvert kar hadde egen vanntilførsel. Antall døgngrader fra klekking til startföring var 440,5 og tettheten for yngel på rundt 2 gram ble oppgitt til 26 kg/m<sup>3</sup>.

Råvannet ble behandlet med vakuumlufte og det ble ikke benyttet resirkulering. Vannforbruket var 1,3 l/kg yngel/minutt. Anlegget benyttet ikke rutinemessig sjøvannstilsetning og det var ikke tilsatt sjøvann til den aktuelle yngelgruppa. Vanntemperaturen ved klekking av yngelen var 7,7°C og temperaturen ved startföring (02. februar) var 10,4°C. Da problemene startet var temperaturen 13,7°C. Det var ingen mistanke om at problemene var föeringsrelatert. Föeringsintervall: 30 minutters föring og 30 minutters pause.

Normal klekkeprosent var 98, og årets klekkeprosent var 95,6. Normal akkumulert dødelighet for yngel fra klekking til startföring var 0,5 %. Anlegget oppga at yngeldødelighet i denne perioden ikke ble oppfattet som et gjentakende problem. Årsaken til problemet var ikke kjent, og 23 av 28 kar i gruppen var affisert. Akkumulert dødelighet i kar med problemer ble angitt å variere fra 1,42 til 10,47 %. Det var ikke betydelige forskjeller i dødelighet mellom ulike grupper yngel. Dødeligheten innen en yngelgruppe var forskjellig.

Rogna ble rutinemessig behandlet med formalin 47 ganger fram til klekking. Yngelen ble imidlertid ikke behandlet rutinemessig mot sopp eller parasitter.

### Beskrivelse av utbruddet

Fisken viste kliniske tegn på sykdom før den døde i form av nedsatt föropptak og inntrykket var at yngelen som gikk ut var liten og ikke hadde tatt til seg för. Andre kliniske symptomer ble ikke observert. Død yngel hadde tom tarm. Forløpet utviklet seg over flere dager med moderat økende dødelighet. Død fisk fra kar med problemer ble fjernet daglig. I de karene som ikke hadde dødelighet var det lite "tapere" å se.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Her ble det sendt inn syk og tilsynelatende frisk yngel fra to kar med forøket dødelighet. Det ble ikke sendt frisk yngel fra kar med normal dødelighet. Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 6.

Tabell 6. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 4

Undersøkelse	Kategori	
	<i>Syk yngel</i>	<i>Frisk yngel</i>
Levende yngel	Normal adferd. Finneslitasje hos enkeltindivid.	Normal adferd.
Formalinfiksert vev	Ingen spesifikke forandringer, lite för i tarmen.	Ingen spesifikke forandringer, velfylt tarm
Bakterier	Sparsom, uspesifikk bakterievekst	Sparsom, uspesifikk bakterievekst
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

### Resultat av vann- og föranalyser

Det ble ikke sendt inn vannprøver fra dette anlegget. Förpövene ble ikke analysert da det ikke var noen indikasjon på at dødeligheten var förrelatert.

### Mulige årsaker til dødelighet

Hovedfunnet var en tydelig forskjell i snittvekt mellom frisk og syk yngel, ellers var det liten forskjell mellom kategoriene. Verken histopatologiske eller mikrobiologiske undersøkelser kunne forklare årsaken til forskjellen i snittvekt.

## 6.5. Anlegg 5

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Anlegget hadde en samlet produksjon på rundt 4 millioner yngel per år basert på innkjøpt øyerogn fra én leverandør. Det var egen yngelavdeling. Antall døgngrader fra klekking til startfôring var 420 og tettheten for yngel på rundt 2 gram ble oppgitt til 17 kg/m<sup>3</sup>.

Råvannet ble behandlet med filtrering (60 µm) og UV og det ble ikke benyttet resirkulering. Vannforbruket var 1,3 l/kg yngel/minutt. Anlegget benyttet ikke rutinemessig sjøvannstilsetning og det var ikke tilsatt sjøvann til den aktuelle yngelgruppa. Vanntemperaturen ved klekking av yngelen var 8,0 °C og ved startfôring (09.02.2012) var den 13-15 °C. Da problemene startet var temperaturen 14,5 °C. Det var ingen mistanke om at problemene var fôringsrelatert. Fôringsintervall: 15 minutters fôring og 45 minutters pause. Fôringsautomatene ble rengjort ved generasjonsskifte.

Normal klekkeprosent var 96, og årets klekkeprosent var 90. Normal akkumulert dødelighet for yngel fra klekking til startfôring var 5-10 %. Anlegget oppga at yngeldødelighet i denne perioden ble oppfattet som et gjentakende problem. Anlegget mente at årsaken til problemet nå var overføring /dårlig sjølrensing og 80 % av karene hadde forøket dødelighet. Akkumulert dødelighet i kar med problemer ble angitt å variere fra 5 til 15 %. Det var ikke betydelige forskjeller i dødelighet mellom ulike grupper yngel. Dødeligheten mellom kar innen en yngelgruppe var ganske lik (10 %).

Rogna ble rutinemessig behandlet med formalin/buffodin to ganger fram til klekking. Yngelen ble også rutinemessig formalinbehandlet mot sopp eller parasitter hver 2.-3. uke.

### Beskrivelse av utbruddet

Fisken viste tegn til sviming før den døde. Det tok 2-3 dager fra de første tegnende ble observert til døden inntraff. Forløpet utviklet seg raskt med raskt økende dødelighet. Død fisk fra kar med problemer ble fjernet 2-3 ganger per døgn.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Her ble det sendt inn syk og tilsynelatende frisk yngel fra et kar med forøket dødelighet, og frisk yngel fra et annet kar med normal dødelighet. Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 7. Frisk yngel fra kar uten forøket dødelighet viste ingen spesielle forandringer. Lite fôr i fordøyelseskanalen var imidlertid et gjennomgående funn. Det vokste også anhemolytiske bakterier fra denne yngelen.

Tabell 7 Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 5

Undersøkelse	Kategori	
	Syk yngel	Frisk yngel
Levende yngel	Normal adferd. Ingen synlige funn.	Normal adferd. Ingen synlige funn.
Formalinfixert vev	Ingen spesifikke forandringer, lite fôr i tarmen.	Ikke sendt inn materiale
Bakterier	Rikelig vekst av hemolytiske bakterier <sup>1</sup>	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>2</sup>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup> Dominert av *Hafnia alvei* og *Aeromonas hydrofila*, <sup>2</sup> Dominert av *Pseudomonas fluorescens* og *Burkholderia cepacia*

### Resultat av vann- og fôranalyser

Det ble sendt inn vannprøver av råvann og av karvann fra to kar. Analysene av råvannet viste god pH, samt middels ledningsevne og bufferkapasitet. Råvannet hadde et aluminiumsnivå på 77 µg/L - dette er noe høyere enn gjennomsnittet for råvann i norske settefiskanlegg. En viss andel av dette aluminiumet er trolig humusbundet, og dermed ikke av den mest giftige formen for laksefisk. Humusbundet aluminium kan imidlertid bli giftig ved tilsetning av sjøvann til en salinitet på mellom 1 og 10 ‰. Dette bør derfor ikke gjøres på dette anlegget med mindre vannet silikatbehandles i forkant av en eventuell sjøvannstilsetning.

Karvannsprøvene viste videre et noe høye nivå av CO<sub>2</sub> i kar 65 (17,2 mg/L) - dette er ikke så høyt at det er akutt skadelig, men noe i overkant av det anbefalte på < 12-15 mg/L. Fôrprøvene ble ikke analysert fordi det ikke var noen indikasjon på at dødeligheten var fôrrelatert.

### Mulige årsaker til dødelighet

Det ble påvist svært ulik bakterieflora på klinisk syk fisk og klinisk frisk fisk fra samme kar. Det ble også registrert noe høyt nivå av CO<sub>2</sub> i et kar og noe høyt innhold av aluminium (Al/ICP) i råvannet. Forhøyet aluminiumskonsentrasjon er ugunstig, men det er vanskelig å se at det skal kunne forklare dødeligheten ettersom karene både med og uten forhøyet dødelighet fikk samme type råvann. Suboptimalt karmiljø grunnet forhøyet driftsintensitet med høy CO<sub>2</sub> kan stresse yngel. Verken CO<sub>2</sub>, partikkelinnholdet i karvannet eller ammoniumsverdiene i karvannet med syk yngel (kar 61) var kritisk høye.

## 6.6. Anlegg 6

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Anlegget oppga en samlet produksjon på 4,4 millioner yngel per år basert på innkjøpt øyerogn fra én leverandør. Det hadde egen yngelavdeling. Antall døgngader fra klekking til startfôring var 419 og tettheten for yngel på rundt 2 gram ble oppgitt til 37 kg/m<sup>3</sup>.

Det ble ikke gitt opplysninger om evt. vannbehandling av råvann, om vannforbruk per kg yngel og minutt, eller om sjøvannstilsetning. Det ble ikke benyttet resirkulering. Vanntemperaturen ved klekking av yngelen var 8-9°C og temperaturen ved startfôring (20.01.2012) var 8-14°C. Da problemene startet var temperaturen 14°C. Det var ingen mistanke om at problemene var fôringsrelatert. Fôringsintervall: 2 sekunders fôring og 14 sekunders pause. Fôringsautomatene ble ikke rengjort.

Normal akkumulert dødelighet for yngel fra klekking til startfôring var 1-2 %. Anlegget oppga at yngeldødelighet i denne perioden ikke ble oppfattet som et gjentakende problem. Årsaken til problemet nå var ukjent og 15 av 27 kar var rammet. Akkumulert dødelighet i kar med problemer ble angitt å variere. Det var ikke betydelige forskjeller i dødelighet mellom ulike grupper yngel. Dødeligheten mellom kar innen en yngelgruppe var forskjellig.

Rogn og yngel ble ikke rutinemessig behandlet.

### Beskrivelse av utbruddet

Det ble ikke observert klinisk tegn til sykdom før fisken døde. Forløpet utviklet raskt med raskt økende dødelighet. Død fisk fra kar med problemer ble fjernet en gang per dag.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Her ble det sendt inn syk og tilsynelatende frisk yngel fra et kar med forøket dødelighet, og frisk yngel fra et annet kar med normal dødelighet. Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 8.

Tabell 8. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 6

Undersøkelse	Kategori	
	<i>Syk yngel</i>	<i>Frisk yngel</i>
Levende yngel	Normal adferd, ingen synlige funn.	Normal adferd, ingen synlige funn
Formalinfiksert vev	Ingen spesifikke forandringer, varierende mengde fôr i tarmen	Ikke undersøkt
Bakterier	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>1</sup>	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>2</sup>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup> Dominert av *Sphingomonas spp.*, <sup>2</sup> Dominert av *Pseudomonas fluorescens*

Undersøkelse av frisk yngel fra kar 10 (uten forøket dødelighet) viste ingen spesielle forandringer. Det var bra med fôr i fordøyelseskanalen. Det vokste også anhemolytiske bakterier fra denne yngelen dominert av *Burkholderia cepacia*. *Sphingomonas spp* ble ikke påvist.

### Resultat av vann- og fôranalyser

Det ble sendt inn vannprøver av råvann og av karvann fra de to karene. Veterinærinstituttet har ikke opplysninger om kar med frisk yngel hadde forøket dødelighet. Analysene viste en råvannskvalitet med lav pH (5,8), og noe høyere pH og ledningsevne i karvann (pga kalking eller sjøvannstilsetning?) samt noe høyt nivå av CO<sub>2</sub> i begge kar. For øvrig var vannkvaliteten god med lave konsentrasjoner av fisketoksiske metaller (aluminium, jern, kobber og mangan). Fôrprøvene ble ikke analysert fordi det ikke var noen indikasjon på at dødeligheten var fôrrelatert.

### Mulige årsaker til dødelighet

Det synes som om bakterien *Sphingomonas spp.* spilte en rolle for dødeligheten i anlegget. Det ble målt noe høyt nivå av CO<sub>2</sub> i prøver fra karvann.

## 6.7. Anlegg 7

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Anlegget oppga en samlet produksjon på 1,35 millioner yngel per år basert på innkjøpt øyerogn fra én leverandør. Det hadde egen yngelavdeling med atskilt vanntilførsel til hvert kar. Antall døgngrader fra klekking til startføring var ca 380 og tettheten for yngel på rundt 2 gram ble oppgitt til max 15 kg/m<sup>3</sup>.

Råvannet ble behandlet med ozon og tilsatt kalk med silikat. Det ble ikke benyttet resirkulering. Anlegget benyttet ikke rutinemessig sjøvannstilsetning og det var ikke tilsatt sjøvann til den aktuelle yngelgruppa. Vanntemperaturen ved klekking av yngelen var 8,0°C og temperaturen ved startføring (06. mars) var ca. 13°C. Da problemene startet var temperaturen rundt 14°C. Det var ingen mistanke om at problemene var fôringsrelatert. Fôringsautomatene ble rengjort en gang per uke.

Normal klekkeprosent var > 95, og årets klekkeprosent var 97,3. Normal akkumulert dødelighet for yngel fra klekking til startføring var ca 1,5 %. Anlegget oppga at yngeldødelighet i denne perioden ble oppfattet som et gjentakende problem og at årsaken til problemet kunne være relatert til vannkvaliteten. Nå var først og fremst ett kar affisert Akkumulert dødelighet i dette karet var >3 %. Rogn og yngel ble ikke rutinemessig behandlet fram til klekking. Yngelen ble formalinbehandlet (1:40000) mot parasitter ved behov.

### Beskrivelse av utbruddet

Den syke yngelen i det affiserte karet ble beskrevet som "apatisk" og det ble observert spiralsvømming hos enkelte fisk. Det tok noen timer fra de første tegnende ble observert til døden inntraff. Forløpet utviklet seg raskt med raskt økende dødelighet. Død fisk fra ble fjernet fra karet mange ganger per døgn.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Her ble det sendt inn syk yngel fra et kar med forøket dødelighet, og frisk yngel fra et annet kar med normal dødelighet. Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 9.

Tabell 9. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 7

Undersøkelse	Kategori	
	<i>Syk yngel</i>	<i>Frisk yngel</i>
Levende yngel	Normal atferd. Ingen synlige funn.	Normal atferd. Ingen synlige funn.
Formalinfiksert vev	Nekroser i lever- og pancreasvev <sup>1</sup>	Ikke påvist spesifikke forandringer
Bakterier	Moderat vekst av <i>Pseudomonas fluorescens</i> , tilnærmet renkultur	Vekst av blandingsflora <sup>2</sup>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup> IPN-virus ble ikke påvist, <sup>2</sup>Dominert av *Pseudomonas fluorescens* og *Shpingomonas paucimobilis*. Også påvist sparsom vekst av *Pseudomonas fluorescens* i tilnærmet renkultur hos 1 av 5 yngel.

### Resultat av vann- og fôranalyser

Det ble sendt inn vannprøver av råvann og av karvann fra nr 6. Resultatet av analysene ga ingen indikasjon på at problemene var relatert til vannkvaliteten. Vannprøvene viste pH på 6,69, og et visst pH-fall til 6,39 i prøven merket driftsvann. Ut fra prøveresultatene kan det se ut som om prøven merket «driftsvann» egentlig er en prøve av karvann ettersom pH går ned i forhold til råvannet (trolig pga. fiskens CO<sub>2</sub>), mens partikkelinnhold og innhold av organisk karbon går opp - noe som er typisk i karvann pga slim, fôr og faecesrester etter fisken. Det er oppgitt fra anlegget at det brukes sjøvann og silikat, men ut fra prøveresultatene er doseringen i så fall svært lav ettersom forskjellene i konsentrasjon av kalsium og silikat er svært små. Konsentrasjonene av metallene aluminium, jern, kobber og mangan var svært lave og uproblematiske. Fôrprøvene ble ikke analysert fordi det ikke var noen indikasjon på at dødeligheten var fôrrelatert.

### Mulige årsaker til dødelighet

Det er vanskelig å si noe om årsaken til dødeligheten i dette anlegget.

## 6.8. Anlegg 8

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Det ble ikke innsendt slik informasjon fra anlegget.

### Beskrivelse av utbruddet

Det ble ikke innsendt slik informasjon fra anlegget.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Her ble det sendt inn syk og tilsynelatende frisk yngel fra ett kar med forøket dødelighet, og frisk yngel fra et annet kar uten forøket dødelighet. Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 10.

Tabell 10. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 8

Undersøkelse	Kategori	
	<i>Syk yngel</i>	<i>Frisk yngel</i>
Levende yngel	Avmagring, finneslitasje hos enkelte.	Normal atferd. Ingen synlige funn.
Formalinfiksert vev	Ingen spesifikke forandringer	Ingen spesifikke forandringer
Bakterier	Vekst blandingsflora <sup>1</sup>	Vekst blandingsflora <sup>1</sup>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup> Dominert av *Flavobacterium sp.* og *Brevundimonas sp.*

Undersøkelse av frisk yngel fra karet (uten forøket dødelighet) viste ingen spesielle forandringer. Det vokste samme type blandingsflora fra denne yngelen.

### Resultat av vann- og fôranalyser

Det ble sendt inn vannprøver av råvann og av brakkvann fra et kar. Resultatet av analysene viste at råvannet til kar hadde en middels høy pH 6,44 og det hadde et noe høyt innhold av total aluminium. Konsentrasjonen av det giftige labile aluminium i råvannet var på 13 µg/L. Dette er i grenseområdet for negative effekter på laksefisk. Det var lave konsentrasjoner av de øvrige metallene. Prøven merket «Brakkvann kar 16» er tilsatt sjøvann og hadde derfor høyere pH (7,16), og en ledningsevne som tilsier en salinitet på omkring 15-18 ‰. Det er uvisst om denne vannprøven ble tatt fra et yngelkar, i så fall er saliniteten svært høy. Det ble ikke sendt inn fôrprøver.

### Mulige årsaker til dødelighet

Det var ikke mulig å finne noen årsak til dødeligheten i dette anlegget, men en slik vannkvalitet som dette vil kunne være problematisk med sjøvannstilsetning på grunn av mobilisering av humusbundet aluminium til giftig aluminium. Dette vil være særlig aktuelt derom sjøvann tilsettes til en salinitet mellom 1 og 10 ‰, og dersom vannet ikke forbehandles med silikat for å binde opp aluminium.

## 6.9. Anlegg 9

### Opplysninger om fiskegruppe, miljø- og driftsforhold

Det ble ikke innsendt slik informasjon fra anlegget.

### Beskrivelse av utbruddet

Det ble ikke innsendt slik informasjon fra anlegget.

### Resultat av obduksjon/organundersøkelse

Her ble det sendt inn syk og tilsynelatende frisk yngel fra et kar med forøket dødelighet, og frisk yngel fra et annet kar uten forøket dødelighet. Resultatene av undersøkelsen er oppsummert i tabell 11.

Tabell 11. Resultat av obduksjon/organundersøkelser anlegg 9

Undersøkelse	Kategori	
	<i>Syk yngel</i>	<i>Frisk yngel</i>
Levende yngel	Finneslitasje med mulig sopp/bakterier hos enkelte.	Ingen synlige funn.
Formalinfiksert vev	Gjellebetennelse. Før i tarmen.	Ikke sendt inn
Bakterier	Rikelig vekst, blandingsflora <sup>1</sup>	Sparsom vekst av <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Sopp	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp <sup>2</sup>	Ikke påvist sykdomsframkallende sopp
Parasitter	Ikke påvist	Ikke påvist

<sup>1</sup> *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas hydrophila/caviae* og *Pseudomonas putida*; <sup>2</sup>Gjærsopp dominerte  
Undersøkelse av frisk yngel fra kar 4 uten forøket dødelighet viste gjelleirritasjon og bukhinnebetennelse på enkelte. Det var før i tarmen. Det var rikelig med samme type blandingsflora fra denne yngelen som fra syk yngel fra affisert kar, men gjærsopp ble ikke påvist.

### Resultat av vann- og föranalyser

Det ble sendt inn kun en sjøvannsvannprøve fra dette anlegget. Analysene av denne prøven avdekket ingen avvikende funn. Förprøvene ble ikke analysert fordi det ikke var noen indikasjon på at dødeligheten var förrelatert.

### Mulige årsaker til dødelighet

Gjellebetennelse synes å bidra til dødeligheten i anlegget. Årsaken ble ikke funnet.

## 7. Oppsummering og evaluering

### 7.1. Undersøkelse av levende yngel

Hensikten med innsendelse av levende yngel til Veterinærinstituttets laboratorier var primært for å sikre et standardisert prøveuttak i forhold til en mikrobiologisk og parasittologisk undersøkelse. Det ble også ansett som en fordel at diagnostikerne selv kunne observere levende yngel og evt. ta ut supplerende materiale til histopatologiske undersøkelser.

### 7.2. Gir histopatologien noen holdepunkter?

Det mest spesifikke histopatologiske funnet i forbindelse med forøket dødelighet var relatert til gjellene hos syk yngel (gjellebetennelse og -irritasjon, unormalt innhold i gjellehule). Flere syke grupper hadde lite innhold i tarmen som tegn på dårlig appetitt. Det var også funn av det motsatte, at presumptivt syk fisk hadde forholdsvis velfylt mage-tarm. Det ble i ett anlegg observert nekroser i pankreas og lever hos syk yngel, men IPN-virus ble ikke påvist. I flere tilfeller ble det ikke observert spesifikke histopatologiske forandringer på syk yngel.

### 7.3. Hvordan tolke mikrobiologiske funn?

Protokollen for mikrobiologisk undersøkelse baserte seg på at fire fisker fra hver kategori ble homogenisert, fortynnet med fysiologisk saltvann og inokulert på medier for påvisning av bakterier og sopp (se Vedlegg). Det ble lagt opp til homogenisering av hel yngel pga at det er praktisk vanskelig å dyrke fra indre organ på så små individer. Teknikken som ble valgt medførte at også bakterier og sopp i vannet som fisken var i, kom med i prøven. Det ble ofte påvist samme type blandingsflora av miljø- og vannbakterier fra frisk og syk yngel (se tabell 12). Det ble imidlertid oftere påvist sterkere vekst fra syk yngel sammenliknet med frisk yngel. I tre av de ni anleggene (5, 6 og 7) ble det imidlertid påvist forskjellig bakterieflora fra de to kategoriene. De unormale bakteriefunnene var dominert av *Flavobacterium* sp. (*Sphingomonas* sp.), *Hafnia alvei*, *Aeromonas hydrofila* og *Pseudomonas fluorescens*. Det ble påvist sopp som gjærsopp, Mucorales og Aspergillus. Disse blir ikke ansett som patogener.

Det er usikkert om unormal bakterieflora fra «syke» kar gjenspeiler oppvekst i karmiljøet etter at fisken var blitt syk, eller om det har vært en medvirkende faktor for sykdomsutviklingen. Kunnskapen omkring hva som er optimal vannflora for yngel er imidlertid svært begrenset og bør antakelig undersøkes nærmere.

Tabell 12. Resultat mikrobiologi

Anlegg	Syk yngel fra affisert kar	Frisk yngel fra affisert kar	Frisk yngel fra uaffisert kar
1	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Chryseobacterium</i> sp. <i>Acinetobacter</i> sp. <i>Arthrobacter</i> sp.	Ikke undersøkt	<i>Flavobacterium</i> sp.
2	Uspesifikk bakterieflora avd. C: rikelig, avd. H: sparsom	Ikke undersøkt	Uspesifikk bakterieflora avd. C: sparsom, avd. H: sparsom
3	Rikelig, unormal bakterievekst <sup>1</sup>	Rikelig, unormal bakterievekst <sup>1</sup>	Ikke undersøkt
4	Sparsom, uspesifikk bakterievekst	Sparsom, uspesifikk bakterievekst	Ikke undersøkt
5	Rikelig vekst av hemolytiske bakterier <sup>2</sup>	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>3</sup>	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>3</sup>
6	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>4</sup>	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>5</sup>	Vekst av anhemolytiske bakterier <sup>6</sup>
7	Moderat vekst av <i>Pseudomonas fluorescens</i> , tilnærmet renkultur	Ikke undersøkt	Vekst av blandingsflora <sup>7</sup>
8	Vekst blandingsflora <sup>8</sup>	Vekst blandingsflora <sup>8</sup>	Vekst blandingsflora <sup>8</sup>
9	Rikelig vekst, blandingsflora <sup>9</sup>	Sparsom vekst av <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Rikelig vekst, blandingsflora <sup>9</sup>

<sup>1</sup> Dominert av *Flavobacterium* sp. (*Sphingomonas* sp.); <sup>2</sup> Dominert av *Hafnia alvei* og *Aeromonas hydrofila*;

<sup>3</sup> Dominert av *Pseudomonas fluorescens* og *Burkholderia cepacia*; <sup>4</sup> Dominert av *Flavobacterium* sp. (*Sphingomonas* sp.); <sup>5</sup> Dominert av *Pseudomonas fluorescens*; <sup>6</sup> Dominert av *Burkholderia cepacia*; <sup>7</sup> Dominert av *Pseudomonas fluorescens* og *Flavobacterium* sp.; <sup>8</sup> Dominert av *Flavobacterium* sp. og *Brevundimonas* sp.



#### 7.4. Hva viste resultatene fra vannanalysene?

Tabell 13 viser resultatene fra alle vannanalyser utført hos NIVA. I alt fire anlegg hadde suboptimale verdier på en eller to vannparametere. Det dreide seg om for lav pH (anlegg 6), forhøyet nivå av kopper (anlegg 3) og aluminium (anlegg 5 og 8) i råvannet, samt forhøyet nivå av fritt CO<sub>2</sub> i driftsvann (anlegg 5 og 6). Betydningen av funnene i forhold til problemene med forøket dødelighet, er omtalt under de aktuelle anlegg. Det er ingen informasjon at gassovermetning kan være årsak til problemene i noen av disse anleggene. Det er imidlertid grunn til å tro at dette kan være et undervurdert problem i anlegg med yngelproduksjon, og man bør ha fokus på gassovermetning dersom diffuse finneskader opptrer.

#### 7.5. Kan innhenting av ekstra opplysninger gi noen svar?

Det var seks av ni anlegg som sendte inn ekstra opplysninger om fiskegruppe, miljø og driftsforhold. Opplysningene er angitt under omtalen av hvert anlegg og oppsummert i tabellene 14-16.

Årsproduksjonen av yngel varierte fra 500 000 til 9 800 000 per år (tabell 14). Anleggene oppgir en overraskende stor variasjon i biomasse for yngel under 2 gram. Tettheten varierte mellom 10 og 40 kg/m<sup>3</sup>. I henhold til Akvakulturforskriften skal "fisketetthet være forsvarlig og tilpasset vannkvalitet, fiskenes atferdsmessige og fysiologiske behov, helsestatus, driftsform og føringsteknologi". Det er ikke grunnlag for å si at det er en sammenheng mellom høy tetthet og problemer med forøket dødelighet i dette prosjektet. Kun tre av anleggene ga opplysninger om spesifikt vannforbruk. Dette varierte mellom 1,3 og 2,1 liter/kg yngel/minutt og blir regnet som tilstrekkelig. Det er også verd å merke seg at tre av de fire anleggene som har oppgitt klekkeprosent, angir at denne er lavere enn normalt i årets sesong (tabell 15). Dette kan i større eller mindre grad forklares, liten øyerogn kan være en medvirkende årsak i anlegg 2.

Akkumulert normal dødelighet for yngel fra startføring til 2 g strakk seg fra 0,5-3 % til 5-10 %. Anlegg 5 skilte seg ut med en vesentlig høyere normal dødelighet enn de andre. Dette anlegget anga også at yngeldødelighet var et gjentakende problem og at overføring og dårlig rensing av karene ble ansett som en årsak til problemene. Rogn og yngel ble rutinemessig behandlet med formalin (tabell 15). Det ble påvist forhøyet nivå av aluminium i råvannet og forhøyet nivå av fritt CO<sub>2</sub> i driftsvann. Dette kan være en stressfaktor, men er i seg selv neppe årsaken til problemene i anlegget. Mikrobiologiske funn indikerte at unormal oppvekst av bakterier kan ha vært medvirkende årsak til problemer. Dette kan f.eks. være forårsaket av overføring kombinert med dårlig rensing av kar. Driftsmessige tiltak bør derfor settes inn for å bedre dette.

Anlegg 1 og 7 oppga også at forøket yngeldødelighet var et gjentakende problem. Anlegg 7 hadde imidlertid god klekkeprosent for årets sesong, lav akkumulert dødelighet og kun ett kar var affisert (tabell 14). Anlegget mente at problemene kunne relateres til dårlig vannkvalitet. Resultatene fra yngel og vannundersøkelser ga imidlertid ingen klare indikasjoner på dette.

I anlegg 1 var 100 % av karene affisert og den akkumulerte dødeligheten i enkeltkar var opp mot 16 %. Årets klekkeprosent er dessverre ikke oppgitt, men det opplyses om rutinemessig behandling av rogn med formalin. Det ble observert tydelige forskjeller mellom frisk og syk yngel. Det vokste mer bakterier fra syk yngel, men dette ble ikke ansett å være årsaken til problemet. Histopatologiske undersøkelser ga heller ingen spesifikke resultater. Anlegget hadde ikke sendt inn vannprøve til analyse.

## 8. Oppsummering

I yngelsesongen 2012 mottok Veterinærinstituttet yngelsaker fra rundt 50 anlegg, mens det kun var ni anlegg som deltok i prosjektet. Det kan være flere årsaker til at oppslutningen om prosjektet var liten. En årsak kan være at anleggene syntes betalingen var for høy. En annen at informasjonen om prosjektet ikke nådde fram til fiskehelsetjenester og anlegg som var aktuelle.

Det er mye som tyder på at årsaker til uforklarlig yngeldødelighet er relatert til driften av anlegget og at vannkvaliteten spiller en rolle. Likevel er det viktig å avklare om spesifikke infeksjoner med sopp, bakterier, virus eller parasitter kan være medvirkende til problemene, da slike sykdommer gjerne utløses ved stress pga suboptimale driftsforhold. I dette prosjektet var det lite som tydet på at føret var en utløsende faktor. Liten deltakelse gjorde det ikke mulig å avdekke systematiske årsaker til yngeldødeligheten i dette prosjektet.

Denne rapporten gir en gjennomgang av ulike typer undersøkelser som ble iverksatt i forbindelse med uforklarlig dødelighet hos lakseyngel mellom startføring og 2 grams størrelse i ni settefiskanlegg. Dette kan være en aktuell framgangsmåte ved en systematisk utredning av anlegg med denne typen problemer.

## 9. Referanser

1. Meade, JW. 1989. Aquaculture Management. 175 sider. Chapman & Hall. ISBN 9780442205706

Tabell 13. Resultat vannanalyse

Anlegg nr	Prøvemerket	pH	Kond	Alk	Turb	NH <sub>4</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	TOC	Cl	SO <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub>	Fritt CO <sub>2</sub>	Al/R	Al/II	Al/ICP	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Si
2	Råvann	6,52	2,75	0,075	0,68			1,5							30	1,44	3	20	0,44	0,0037			
	Dr. v/u kull	6,06	2,99		0,22			1,2															
	Dr. v/m kull	6,34	2,85		0,23			1,5															
3	?	6,42	105,9	00,75	0,32			0,41							12	6,7	7,2	5,8	19,8	0,0035			
5	Råvann	6,82	5,24	0,095	0,44			2,5							77	1,98	<2	31	0,76	0,0053			
	Karvann 61	6,53	6,17		1,46	1250		4,3			2,8	10,3											
	Karvann 65	6,57	5,81		1,16	680		4,1			4,7	17,2											
6	Råvann	5,8	3,75	0,035	0,45	4		0,95							39	0,88	<2	12	0,59	0,0025			
	Karvann 16	6,11	4,96		1,57	1300		2,5			3,8	13,9											
	Karvann 10	6,22	4,93		1,46	1200		2,2			4,5	16,5											
7	Råvann	6,69	3,07	0,094	1,1			1,1							30	1,43	3	25	0,42	0,0075		1,6	
	Drv m/død	6,39	3,37		0,39			3,5								1,51							1,65
8	Råvann 13	6,44	3,82	0,143	1,06		140	1,7	5,82	1,58			35	22	67	2,86	<2	35	0,28	0,46	0,007	3,25	
	Brakkvann 16	7,16	2430													181	<2						
9	Sjøvann	7,11		0,795		450	36000				3	11,0											

Suboptimale verdier er merket med gult.

**Tabell 14 Opplysninger om produksjon**

Anlegg	Årsprod (1000)	Tetthet Kg/m <sup>3</sup>	Vann forbruk <sup>1</sup>	Døgngr. Klekk-startfôr	Temp klekking	Temp startfôr	Temp problemstart
1	500	10	-	-	8	12,5	12,5
2	9800	40	2	400	7,5	12,0	11,5-12
4	5000	26	1,3	400,5	7,7	10,4	13,7
5	4000	17	2,1	420	8,0	13-15	14,5
6	4400	37	-	419	8-9	8-14	14
7	1350	15	-	380	8,0	13	14

*Tilleggsopplysninger:* Anlegg 1 baserte yngelproduksjonen på egenproduserte egg, mens de andre kjøpte inn øyerogn fra én leverandør. Alle hadde egen yngelavdeling hvor hvert kar hadde egen vanntilførsel. Varierende behandling av råvann. Ingen hadde rutinemessig sjøvannstilsetning og ingen mente at problemene var forrelatert. <sup>1</sup>Vannforbruk angitt i l/kg yngel/min

**Tabell 15 Opplysninger om klekkeprosent og dødelighet fra startfôring til 2g**

Anlegg	Klekk-% Normal	Klekk-% årets	Dødelighet normal	Dødelighet nå	% affiserte kar
1	95	-	2-3	5-16	100
2	>95	92-93	1	0,6-13	30
4	98	92,6	0,5	1,4-10,5	82
5	96	90	5-10	5-15	80
6	-	-	1-2	-	55
7	>95	97,3	1,5	0,5-3	17

*Tilleggsopplysninger:* Anlegg 1, 5 og 7 mente problemet var gjentakende. Anlegg 1, 4 og 5 behandlet rogn rutinemessig med formalin og anlegg 5 behandlet yngel rutinemessig med formalin.

**Tabell 16. Opplysninger om symptomer ved utbruddet**

Anlegg	Nedsatt fôropp.	Sviming	Spiral svøm- ming	Står i utløpet	Puste problem	Sopp?
1	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	-
2	Ja	Nei	Nei	Nei	Nei	Ja
3	Stresset yngel under startfôring					
4	Ja	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
5	Nei	Ja	Nei	Nei	Nei	Nei
6	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei	Nei
7*	Nei	Enkelte	Nei	Nei	Nei	Nei
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-

\* Anlegg 7 oppga «apatisk yngel» som hovedsymptom

### Prøveuttak fisk - Prosjekt oppklaring av yngeldødelighet

Det skal sendes inn levende yngel og hel yngel på formalin, både fra kar med og uten økt dødelighet.

#### Hel yngel på formalin

Det skal sendes inn *minst 10 yngel*, fortrinnsvis svimere/yngel med symptomer.

Det skal også sendes inn *10 friske yngel* fra samme fiskegruppe, fra kar uten økt dødelighet. Avliving skal skje i overdose med bedøvelsesmiddel.

Liten yngel fikseres hel. Dersom diameteren på yngelen er over 5 mm skal det ene gjellelokket fjernes og buken åpnes, evt fjernes hele bukveggen på den ene sida.

Yngelen legges i beholder med 10% formalin. Yngelen fordeles på flere beholdere, slik at mengde vev/yngel ikke overstiger 10% av væskevolumet. Dersom det sendes yngel fra ulike kar, skal de fordeles på egne beholdere som merkes med kar-nummer.

Beholderne merkes med navnet på anlegget (lokalitet).

#### Levende yngel

Det skal sendes inn *minst 20 yngel* fra hver av følgende grupper:

- svimere/yngel med symptomer fra kar med økt dødelighet
- tilsynelatende frisk yngel fra kar med økt dødelighet
- frisk yngel fra samme yngelgruppe, men fra kar uten økt dødelighet

Levende yngel sendes kjølt i plastpose med vann og oksygen. Vann med fisk kjøles gradvis ned, fisken overføres til plastpose med kjølt vann og tilsettes rent oksygen, slik at vannet utgjør 1/3 og gassen 2/3 av volumet.

Yngel fra ulike kategorier og kar skal ha egne poser som merkes med kar-nummer.

Plastposene med levende yngel sendes inn i isolert kasse (isopor) og med kjøling (is i plastposer). Pakken skal være tett og inneholde fuktabsorberende materiale.

#### Innsending

Levende og formalinfiksert yngel sendes inn samlet, og utfyllt *rekvisisjonsskjema* og *registreringsskjema for fiskegruppe, miljø- og driftsforhold* vedlegges separat i egen plastpose slik at det ikke blir vått eller tilsølt.

Skjemaene kan alternativt sendes på e-post til [postmottak@vetinst.no](mailto:postmottak@vetinst.no) og merkes med **Prosjekt oppklaring av yngeldødelighet** i tittelfeltet. Skjemaene må være sendt før pakken ankommer Veterinærinstituttet.

Pakken sendes som *Ekspress - Over natten kontant*, slik at den når fram til laboratoriet påfølgende dag. (NB: Sjekk med lokalt postkontor tidsfrist for innlevering.) Pakker skal merkes, helst med Postverket sin lapp: "FORSIKTIG! BIOLOGISKE PREPARATER!"

Pakken sendes til det av Veterinærinstituttets laboratorier som betjener området.

Prøver må tas ut og sendes i perioden mandag til torsdag.

Innsender dekker fraktkostnadene.

**NB:** Fôrprøvene skal legges ved og sendes inn sammen med fiskeprøvene.

#### **Prosedyre - uttak av fôrprøve**

Ta ut to like fôrprøver som sendes til Veterinærinstituttet sammen med prøvene av fisk.

**NB:** Husk å merke prøvene godt!

**Prøveuttak:**

1. **Emballasje:** Bruk gjerne glidelåspose eller liknende. Ved bruk av bokser eller glass må disse vaskes godt og tørkes før bruk. Sørg for at emballasjen er tett.
2. **Merking:** Merk posene/boksene med følgende:
  - a. Dato
  - b. Fôrprodusent, fôrtype, partikkelstørrelse og produksjonsnummer/batchnummer eller liknende som følger med fôrsekken.
  - c. Oppdrettsselskap, lokalitet navn og nummer, kontaktperson

Husk vannfast merking.

Skriv gjerne samme informasjon på vannfast papir eller vanlig papir som legges i en plastpose *i tillegg til* å merke emballasjen.

3. Ta **to like prøver a ca 100 g** fra det aktuelle fôrpartiet.
4. Prøvene sendes til Veterinærinstituttet sammen med øvrige prøver, i samme pakke.
5. Hvis prøvene må oppbevares over tid skal de lagres i fryseboks -18°C.

## Prosedyre for prøvetakning av vann

Ved akutt dødelighet må en et sett med prøveutstyr bestilles fra NIVA umiddelbart. Dette gjøres ved å kontakte Forskningsassistent Linda Skryseth enten pr e-post eller telefon, og flaskesett med instruks vil da sendes til det aktuelle anlegget med Ekspress-over-natt pakke.

Kontaktinformasjon:

Linda Skryseth

E-post: linda.skryseth@niva.no

Tel: +47 979 58 710

Alternativ kontaktperson på NIVA er:

Åse Åtland

E-post: aase.aatland@niva.no

Tel: +47 901 47 510

Når en tar en vannprøve er det viktig at en tar en representativ prøve av det vannet en ønsker å vurdere vannkvaliteten til. Ved å bruke riktig prøvetakningsutstyr og metoder skal ikke kjemien i vannprøven endres. En vannprøve som ikke er representativ kan føre til feil tolkninger av vannkvalitetsdata.

Ved akutt dødelighet ønsker vi å sikre prøve fra:

- Ubehandlet råvann
- Avløp fra kar

Utstyr til begge disse prøvepunktene medfølger derfor.

Ta gjerne kontakt med oss dersom noe er uklart eller om dere har behov for hjelp eller råd under selve prøvetakingen.

Noen generelle regler:

- Hvis vannkilden eller vannrørene har stått ubrukt over lengre tid er det viktig å skylle godt igjennom systemet før prøvetakning
- Skyll prøvetakingsutstyret (i samme vann som prøven) før du tar den aktuelle prøven.
- Råvannsprøven bør tas litt under selve vannoverflaten og fra vann i bevegelse (ikke stagnert vann), hvis ikke det er gitt annen beskjed
- Karvannsprøven tas i avløpet dvs som oftest i munk. Dersom dette ikke er mulig tas prøven så nært karetts avløp som mulig.
- Prøven skal ikke inneholde fremmedlegemer.

Prøvetakningsutstyr og parametere:

**Råvann (ubehandlet vann):**

Generell vannkvalitetsprøve (0.5 L flaske merket med grønt)

- Skyll flasken og korken godt (3 ganger) i samme vann som du skal ta prøve av, før du tar vannprøven
- Her analyseres: pH, ledningsevne, turbiditet, alkalitet, TOC, Ca, Mg

Metaller (60 mL flaske)

- Flasken inneholder destillert vann tilsatt syre. Hell ut flaskens innhold på et egnet sted (ikke i vannet du skal ta prøve av eller i fiskekar)
- Skyll flasken og korken godt (3 ganger) i samme vann som du skal ta prøve av, før du tar vannprøven
- Her analyseres: aluminium, jern, kobber og mangan

Toverdig jern, Fe-II (20 mL flaske)

- 2 prøveglass (20 mL)
  - Fyll begge prøveglassene med prøve.
  - Prøven i prøveglass merket BLANK, gjøres ingen ting med.
  - Prøven i prøveglass merket Fe-II tilsettes reagens (en pose med pulver merket: *ferrous iron rgt*). Ta på korken og rist forsiktig.
  - Hvis prøven du tilsatte reagens får en rosa farge, send prøvene (BLANK og Fe-II) inn til analyse. Før prøvene sendes, husk å merke prøveglassene med sted og dato!
    - Send en e-post til kontaktperson hvis dere finner/sender inn prøver med rosa farge
- Hvis prøven merket Fe-II er blank etter at reagensen er tilsatt, kan prøvene (BLANK og Fe-II) helles ut og prøveglassene kan brukes på nytt (sørg for at dere har noen ekstra reagensposer)

**Karvann (tas fra avløp kar):**

Generell vannkvalitetsprøve (0.5 L flaske merket med grønt)

- Skyll flasken og korken godt (3 ganger) i samme vann som du skal ta prøve av, før du tar vannprøven
- Her analyseres: pH, ledningsevne, turbiditet, TOC

Totalt Ammonium Nitrogen (TAN) (100 mL flaske)

- Skyll flasken og korken godt (2 ganger) i samme vann som du skal ta prøve av, før du tar vannprøven
- Når prøven er tatt tilsettes 1 mL av 0.1 M HNO<sub>3</sub> for å fikserer ammoniakk i prøven. Dette gjøres ved å dra opp riktig volum i sprøyten (1 mL) som er lagt ved, så sprøytes innholdet ut i prøven. HUSK å senk sprøytespissen 3 cm ned i flasken slik at all syren blir tilsatt prøven.

## Prøvetakningsprosedyre for CO<sub>2</sub>

(Glassflaske i en plastbeholder)



Hovedregelen er å sørge for at prøven får så lite kontakt med luft som mulig!!!

1. Merk glassflaske og plastbeholder med ID (deres navn og lokalitet) og dato, hvis det ikke er merket på forhånd (bruk en vannfast tusj!).
2. Fyll plastbeholderen (stor åpning) med vann.
3. Ta på vedlagte gummihandsker når du utfører følgende trinn:
  - a. Ta vannprøven fra et representativt sted, litt under vannoverflaten (i fiskekar tas prøven fra utløp)
    - i. Fyll glassflasken med vann ved å bruke den vedlagte silikonslangen (Hvis mulig: Silikonslangen brukes som hevert). La vannet strømme igjennom flasken tilsvarende 2 ganger volumet til flasken (bilde 2).
    - ii. Utløpet av silikonslangen legges på bunnen av glassflasken (slik at prøven får minst mulig kontakt med luft).
    - iii. Sørg for at flasken blir helt full, opp til randen, uten luftbobler, slik at når du tar på korken vil det renne vann ut av flasken.
  - b. Ta forsiktig ut slangen og tilsett med en gang 1 mL bioblock-løsning (HgCl<sub>2</sub>) (bilde 3a og 3b).
    - i. Tilsett 1 mL bioblock (giftig) ved å bruke den vedlagte sprøyten, og injiser etter at sprøytetuppen er ca 3 cm ned i flaskeåpningen (rett under flaskehalsen). Unngå å sprøyte inn luft i prøven!
  - c. Ta forsiktig på korken, unngå luftbobler og sørg for at korken sitter godt på (bilde 4).
4. Senk CO<sub>2</sub>-prøven ned i plastbeholderen (som er fylt med vann). Når glassflasken er inni plastbeholderen, sørg for at plastbeholderen fortsatt er fylt opp til randen med vann (bilde 5).
5. Ta på korken på plastbeholderen, og sørg for at den sitter godt (bilde 6a, 6b og bilde 7).



Bilde 2: Tilsetting av prøve



Bilde 3a: Tilsetting av Bioblocker (HgCl<sub>2</sub>)



Bilde 3b: Tilsetting Bioblocker (HgCl<sub>2</sub>)

Bilde 4: Sett korken på forsiktig!



Bilde 5: Glassflaske (CO<sub>2</sub>-prøve) inn i plastbeholder som er fylt med vann



Bilde 6a: Sett korken på godt



Bilde 6b: Sett korken på godt



Bilde 7: Sørg for at korken sitter godt på!

NB!  
brukt

Denne illustrasjonen er utført uten kontakt med  $\text{HgCl}_2$ , det er derfor det ikke er hansker på bildene.  
Husk å bruke hansker når du bruker  $\text{HgCl}_2$ !

Sending av prøver:

Alle vannprøver (unntatt Fe-II) sendes til:

NIVA Prøvemottak  
Gaustadalleen 21  
0349 OSLO

Fe-II prøver sendes til:

NIVA Vest  
LSK  
Thormøhlensgate 53 D  
5006 BERGEN

Husk å merke alle prøver med deres navn, lokalitet og dato. For at behandlingen av prøvene på NIVA skal gå så raskt som mulig MÅ den vedlagte analyserekvisisjonen følge med prøvene når de sendes inn til analyse.



## Prosjekt oppklaring av yngeldødelighet

### *Protokoll prøvemottak og prøvebehandling*

#### PJS mv

Ved prøvemottak i forbindelse med prosjektbasert diagnostikk "oppklaring av yngeldødelighet", legges saken inn med hensikt:

- Yngeldødelighet - prosjektbasert diagnostikk (under seksjon 04 - oppdrag)
- Kortnavn: YD
- PJS-nr: 07 004 06
- Varekode: 130023 Oppklaring av yngeldødelighet  
- benyttes ved fakturering, gir pris kr 10 000,-
- Prosjektnummer: 130023 - benyttes ved timeføring

#### Prøvemottak

Alle pakker leveres til mottak fisk som vanlig og legges inn i PJS på hensikt "Yngeldødelighet - prosjektbasert diagnostikk".

Saken settes på vakthavende veterinær og formalinfiksert vev leveres i 3. etg som vanlig.

Førprøver som mottas sammen med yngelmateriale skal fryses på  $\pm 20^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 18^{\circ}\text{C}$  holder). NB Kontroller at prøvene er godt merket.

#### Undersøkes på obduksjonssalen:

For yngel opptil 2g:

- 8 fisk fra hver kategori:
  - svimere
  - tilsynelatende frisk fra affiserte kar
  - tilsynelatende frisk fra annet uaffisert kar
- Utføres av vakthavende veterinær. Parasitologi og mykologi bistår ved behov
- Minst to yngel undersøkes i lupe for utvendige forandringer
- Hvis undersøkelser i lupe påviser soppvekst/hyfer, legges yngelen på 10 ml rør/flaske med Saboraud flytende medium
- Slim fra fiskens hud og gjeller undersøkes i fasekontrastmikroskop for bevegelige parasitter fra minst 2 fisk
- Fra hver kategori: Fire svimere og fire friske fisk fryses ned enkeltvis på små glass, merkes, lagres i fryser  $\pm 80^{\circ}\text{C}$

Til bakteriologi:

- 4 stk svimere fra affiserte kar
- 4 stk tilsynelatende frisk fisk fra affiserte kar
- 4 stk tilsynelatende frisk fisk fra annet uaffisert kar

#### Undersøkelser bakteriologi:

- Fiskene fordeles i pooler av fire fisk (maks 8g), dvs en pool fra hver kategori fisk.

- Fiskene veies og vekt registreres.
- Dersom en skjønnsmessig vurdering av fiskestørrelsen tilsier at yngelen vil være vanskelig å homogenisere, jobbes det videre med organpakker og gjeller (poolet).
- Det tilsettes saltvann (0,9% NaCl) til total volum 10x prøvematerialet; dvs hvis prøvene veier 4,5 g tilsettes 9 x 4,5 ml saltvann (maks volum i stomacher = 80 ml).
- Materialet homogeniseres i stomacher.
- Materialet i suspensjon seriefortynnes i saltvann (ikke ta med ikke-homogenisert materialet f.eks. bein).
- 100µl suspensjon fra følgende fortynninger spres ut: 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>6</sup>
- Følgende medier benyttes:
  - blodagar skåler - inkuberes ved 22°C i en uke, leses av annenhver dag
  - ordalagar skåler - inkuberes v 15°C i en uke, leses av annenhver dag
- Hovedkolonitypene telles og total "load" regnes ut fra fortynningen. Tellingen registreres. Erfaringer tilsier at flere kolonityper kan være tilstede i like mengder. Så ut fra inntil 10 "hovedkolonityper" fra hver fortynningsserie for nedfrysing og evt. videre undersøkelser. Forskjeller i vekst fra hver fortynningsserie beskrives og registreres.
- Vekst på ordalagar-skålene skal bare vurderes om det vokser med gule pigmenterte kolonier forenlige med *Flavobacterium* spp., eller om det finnes vekst som ikke kan forklares med funn på blodagar-skålene.
- Isolatene oppbevares ved -80°C.
- Kolonityper forenlig med fiskepatogene bakterier identifiseres på vanlig måte gjennom diagnostiske rutiner. Ellers sendes antatt viktige isolater (f.eks. kolonier identifisert bare i fisk fra affiserte kar) til Oslo for 16S sekvensering.
- Fra homogenatet 1:10 (kulepkt 5) overføres 1 ml til hver av fire Eppendorf-rør som merkes og lagres i fryser ±80°C (for evt. videre undersøkelser).

### Undersøkelser mykologi:

- Fra seriefortynningene under bakteriologi (kulepunkt 6) spres også ut på **Sabourauds Dextrose Agar (SAB)**
- Skålene - og rør med yngel på flytende medium - leveres til Seksjon for mykologi for inkubering.
- Fra de regionale laboratoriene sendes skålene og rør med yngel på flytende medium til Seksjon for mykologi i Oslo for inkubering og videre identifisering.
- Ved Seksjon for mykologi: Skålene inkuberes ved 20 ± 1°C i tre uker. Skålene inspiseres etter 2, 7, 14 og 21 dager.
- Yngel lagt på Saboraud flytende medium inkuberes ved 20°C i 2-4 dager
- Etter kolonitelling beregnes og registreres konsentrasjonen av sopp og oomyceter i prøvematerialet
- Representative kolonier tas ut sekundært for identifisering

## Skjema for innsamling av epidemiologisk data i prosjektet

### “Oppklaring av yngeldødelighet”

Dette skjemaet har som formål å få inn supplerende data til de innsendte biologiske prøvene for å øke muligheten for å beskrive forholdene rundt yngeldødelighet. Innsamlet data vil bli behandlet anonymt og resultatene vil kunne bli publisert i nasjonale/internasjonale tidsskrift.

Lokalitetsnummer:	
Kontaktperson:	
Telefon:	
Dato for utfylling:	
Fylt ut av:	

#### Opplysninger om produksjon

Hvor stor er den samlede produksjonen av yngel på årsbasis		
Har anlegget yngelavdeling adskilt fra annen produksjon	Ja	Nei
Er yngelproduksjonen basert på (sett kryss)		
- Egenproduserte egg		
- Innkjøp av egg	nybefruktet	øyerogn
- Innkjøp av yngel		
Hvis innkjøp, er det flere enn en leverandør (hvis ja, oppgi antall )	Ja,	Nei
Har alle produksjonsenhetene (karene) med yngel adskilt vanntilførsel	Ja	Nei
Hvilken tetthet benyttes i karene med yngel under ca 2 g (kg/m <sup>3</sup> )		
Antall døgngrader fra klekking til startføring		
Når begynte startføringen av yngel som nå har økt dødelighet (oppgi dato)		

#### Opplysninger om vann

Hva er vannforbruket i yngelproduksjonen (m <sup>3</sup> /kg yngel/min)	
Behandling av vann før eksponering til yngelen skjer ved (sett kryss)	
- Filtrering	
- UV	
- Ozon	
- Andre (angi metode)	

Benytter anlegget resirkulering av vann til yngel	Ja	Nei
Hvis ja, hvor stor er andelen er nytt vann (oppgi i %)		
Benyttes det rutinemessig sjøvann til yngel (oppgi i o/oo salt)	o/oo	Nei
Er det benyttet sjøvann til den aktuelle yngelen (oppgi i o/oo salt)	o/oo	Nei
Hvilken vanntemperatur var det ved klekking av den aktuelle yngelen		
Hvilken vanntemperatur var det ved startfôring		
Hvilken vanntemperatur var det da dødelighetsproblemene oppsto		

#### Opplysninger om fôr

Hvilken produsent av yngelfôr er benyttet i år		
Er det støv/brekkasje i fôret	Ja	Nei
Er det mistanke om andre feil ved fôret (oppgi)		
Hvor lange fôringsintervall benyttes (angi i minutter tid med utfôring/tid pause)		
Hvor ofte rengjøres fôringsautomaten (oppgi antall ganger /uke)		

#### Opplysninger om dødelighet

Hva ansees som normal klekkeprosent		
Hvordan var årets klekkeprosent		
Hva er normal dødelighet for yngel under 2 g (oppgi akkumulert dødelighet i % fra startfôring til 2 g)		
Er yngeldødelighet i denne perioden å oppfatte som et gjentakende (årlig) problem i anlegget	Ja	Nei
Hvis ja, angi antatt årsak		
Hva er antatt årsak til dødeligheten nå		
Hvor stor andel av produksjonsenhetene (karene) viser forøket yngeldødelighet (ant. kar/total ant. kar)		
Hva er % akkumulert dødeligheten i kar med problemer (fra startfôring til nå)	lavest:	høyeste:
Er det betydelige forskjeller i dødelighet mellom ulike grupper av yngel (en gruppe består av yngel med samme opphav, klekkespunkt og størrelse) (Hvis ja, skissere på eget skjema organiseringen av karene og grupper med tilhørende dødelighet)	Ja	Nei
Er det noenlunde lik dødelighet i alle produksjonsenheter med fisk fra samme gruppe (se punkt ovenfor)	Ja	Nei

Opplysninger om behandlinger

Hvor mange ganger blir rogn rutinemessig behandlet fram til klekking		
Hvilket middel brukes til denne behandlingen		
Blir det rutinemessig behandlet forebyggende mot infeksjoner (sopp/parasitter) hos yngel	Ja	Nei
Hvis ja, hvilke medikamenter/metoder blir benyttet		
Når begynner slik rutinemessig behandling (oppgi i forhold til størrelse på yngelen)		
Hvor hyppig skjer slik rutinemessig behandling		

Beskrivelse av utbruddet, sykdomstegn og forløpet av sykdommen

Er det kliniske tegn til sykdom på fisken før den dør	Ja	Nei
Hvis ja, hvilke tegn er framtrede (sett kryss)		
- Nedsatt føropptak	Ja	Nei
- Sviming	Ja	Nei
- Springsvømming	Ja	Nei
- Blir fisken stående ved vannutløpet	Ja	Nei
- Pusteproblemer (utstående gjellelokk, økt bevegelse på gjellelokkene)	Ja	Nei
- Soppdannelse på hud og/eller gjeller	Ja	Nei
- Andre kliniske tegn, beskriv		
Er det synlige tegn på død fisk (sett kryss)		
- Bloduttredelse/rødlige områder (prikker) i hud	Ja	Nei
- Tom tarm	Ja	Nei
- Andre forandringer, beskriv		
Hvor lang tid tar det fra de første tegn observeres til dødeligheten øker (i antall dager)		
Utvikler forløpet seg raskt med raskt økende dødelighet	Ja	Nei
Utvikler forløpet seg sakte (over mange dager) med moderat økende dødelighet	Ja	Nei
Hvor ofte fjernes dødfisk fra kar med problemer		



Veterinærinstituttet er et nasjonalt forskningsinstitutt innen dyrehelse, fiskehelse, mattrygghet og dyrevelferd med uavhengig forvaltningsstøtte til departementer og myndigheter som primæroppgave. Beredskap, diagnostikk, overvåking, referansefunksjoner, rådgivning og risikovurderinger er de viktigste virksomhetsområdene.

Veterinærinstituttet har hovedlaboratorium i Oslo og regionale laboratorier i Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, med til sammen ca. 360 ansatte.

[www.vetinst.no](http://www.vetinst.no)

#### Tromsø

Stakkevollvn. 23 b · 9010 Tromsø  
9010 Tromsø  
t 77 61 92 30 · f 77 69 49 11  
vitr@vetinst.no

#### Harstad

Havnegata 4 · 9404 Harstad  
9480 Harstad  
t 77 04 15 50 · f 77 04 15 51  
vih@vetinst.no

#### Bergen

Bontelabo 8 b · 5003 Bergen  
Pb 1263 Sentrum · 5811 Bergen  
t 55 36 38 38 · f 55 32 18 80  
post.vib@vetinst.no

#### Sandnes

Kyrkjev. 334 · 4325 Sandnes  
Pb 295 · 4303 Sandnes  
t 51 60 35 40 · f 51 60 35 41  
vis@vetinst.no

#### Trondheim

Tungasletta 2 · 7047 Trondheim  
7485 Trondheim  
t 73 58 07 50 · f 73 58 07 88  
vit@vetinst.no

#### Oslo

Ullevålsveien 68 · 0454 Oslo  
Pb 750 Semtrum · 0106 Oslo  
t 23 21 60 00 · f 23 21 60 01  
post@vetinst.no

