

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Fakultet for Veterinærmedisin
Veterinærhøgskolen
Institutt for basalfag og akvamedisin
Seksjon for akvamedisin og ernæring

Fordypningsoppgave 2019

Akvamedisin

Forekomst av nefrokalsinose hos atlantisk laks (*Salmo salar* L) og regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*); et klinisk studie

Occurrence of nephrocalsinosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); a clinical study

Hanne Marie Thomsen
Kull 2014

Øystein Evensen, Alf Seljenes Dalum

Innhold

Sammendrag	4
Definisjoner	5
Innledning	5
Materiale og metoder	9
Materiale	9
Metoder	9
Makroskopisk scoring av nefrokalsinose	9
Histologisk scoring av nefrokalsinose	11
Analyser av utfellinger.....	13
Statistiske metoder	14
Resultater	15
Generelt om resultatene	15
Lokalitet 1	17
Lokalitet 2	19
Beskrivelse av histologiske funn	20
Analyser av utfellinger	27
Statistikk	29
Diskusjon	39
Makroskopisk vs. Histologisk vurdering	39
Analyser av utfellingene	40
Veien videre diagnostisk?	41
Hva trenger vi å kunne mer om?	42
Begrensninger og generaliserbarhet	44

Konklusjon	46
Takk til bidragsyttere	47
Summary	47
Referanser	48
Vedlegg	48
Utskrift av databasen	48

Sammendrag

I denne studien har vi sett på sammenhengen mellom makroskopisk score og en egenutviklet histopatologiske scoringsmodell. Selv om den makroskopiske og histologiske scoren jevnt over følger hverandre bra, har vi sett flere utfordringer med scoren vår. Noen av utfordringene kan være knyttet til representativitet ved prøveuttaket, hvordan de ulike histopatologiske forandringene vektlegges og oppløsningen ved den makroskopiske vurderingen. Vi har også sett at den vektete scoren vår ikke gir så ulike resultater fra en mer kategorisert score.

Der er gjort analyser av utfellingene som produseres ved nefrokalsinose og det er funnet at det ikke bare er morfologiske forskjeller mellom utfellingene men også forskjeller med tanke på hva de består av. Det vi fant mest av er to ulike varianter av et av fosfatmineralene, kalt Dahllitt. Men vi fant også 3 andre typer materialer, hvorav to av dem kun ble funnet på regnbueørret.

Studien har tydelig vist at det er et forbedringspotensiale når det kommer til diagnostisering, både den histopatologiske gullstandarden som brukes per dags dato, men også til utvikling av bedre, ikke-dødelige metoder for fremtiden. Vi har også en vei å gå når det kommer til epidemiologisk kartlegging av sykdommen og utvikling av gode råd rundt forebygging til oppdrettere.

Tittel: Forekomst av nefrokalsinose hos atlantisk laks (*Salmo salar* L) og regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*); et klinisk studie

Forfatter: Hanne Marie Thomsen

Veiledere: Øystein Evensen (Institutt for basalfag og akvamedisin), Alf Seljenes Dalum
(Pharmaq Analytiq)

Definisjoner

≈ RAS – Recirculating aquaculture systems – resirkuleringsanlegg

≈ IRS – Infrarød spektroskopi

Innledning

Nefrokalsinose er et kjent problem og særlig knyttet til intensivt oppdrett av regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*), men man har også sett sporadiske tilfeller hos atlantisk laks (*Salmo salar* L). I forbindelse med blant annet transport, overføring til sjøvann eller andre stressfaktorer kan dødeligheten knyttet til nefrokalsinose øke betydelig, men den er vanligvis lav eller moderat. Dette avhenger av hvor langt fremskreden sykdommen er og fiskens generelle helsetilstand. Den viktigste funksjonen til fiskens nyre er ioneregulering, dette fordi utskillelse av nitrogen-metabolitter hovedsakelig skjer over gjellene. Man tror dermed at fisken kan overleve lenge i ferskvann, selv med sterkt påkjente nyrer, men at det blir en for stor fysiologisk utfordring for fisken når den skal settes på sjø.

Antallet tilfeller av nefrokalsinose økte betydelig for noen å tilbake, og to risikofaktorer ble påvist å ha innvirkning på utviklingen av sykdommen. Den første er basert på fôrsammensetning, og da høyt nivå av fosfor og selen sammen med for lite magnesium, har det vist seg at fisken lettere utvikler nefrokalsinose (1, 2). Den andre faktoren er knyttet til høye nivåer av CO₂ i vann (3).

I 2003 og 2017 ble det publisert artikler fra studier der man har sett på sammenhengen mellom CO₂ i vannet og blant annet vekst, og utvikling av nefrokalsinose. I studien fra 2003 (Fivelstad et. al) fant de økte nivåer av Ca i nyrene ved flere tilfeller av nefrokalsinose. Man tror at tilfellene av nefrokalsinose var en respons til økte CO₂-nivåer i vannet, påvist ca. 60 dager ut i forsøket. Imidlertid ble det påvist nefrokalsinose i alle gruppene, også kontrollgruppen, og andre faktorer kan ha bidratt til utviklingen av sykdommen (4). I studien fra 2017 (Fibelstad et. al) ble seks grupper fisk utsatt for ulike CO₂-nivåer. I denne studien fant de nefrokalsinose i de tre gruppene med høyest CO₂-nivå. 34% av fisken i disse tre gruppene utviklet sykdommen (5). Det er også gjort andre studier av kortere varighet hvor man ikke har funnet noen klar sammenheng mellom forhøyede CO₂-nivåer og utvikling av nefrokalsinose.

Da fôrprodusenter og oppdrettere ble bevisst at nivå av fosfor og selen sammen med for lite magnesium kan knyttes til økt forekomst av nefrokalsinose og korrigerer for dette, samt at man fikk anta man fikk bedre kontroll med CO₂-nivået i ferskvann, sank forekomsten betydelig (2). I løpet av det siste året har det imidlertid blitt observert en reell økning i antallet tilfeller av nefrokalsinose hos både regnbueørret og atlantisk laks, uten at man kjenner noe til de bakenforliggende forhold. Nefrokalsinose sees både i gjennomstrømningsanlegg og RAS-anlegg, og oppstår altså i ferskvannsfasen. Det har vært lite fokus på hva nefrokalsinose faktisk egentlig er, hvorfor og hvordan det oppstår og ikke minst i hvilken grad det påvirker helsetilstanden til fisken. Det er heller ikke forsket nok på hvilke årsakssammenhenger som ligger til grunn for sykdommen. Vi vet at dødelighetstallene kan være store når fisken flyttes på sjø, men hvor mye av det som skyldes nefrokalsinose er usikkert.

Den nåværende definisjonen av nefrokalsinose baserer seg på påvisning av kalk-lignende materiale samtidig med skader på nyrevevet. Utfellingene finner man i tubuli og samlerør og i enkelte tilfeller også i ureter og urinblære. Per dags dato er man ikke sikre på hva utfellingene faktisk består av. Tidligere gjennomførte kjemiske analyser av innholdet i utførselsgangene hos regnbueørret har vist at det kan bestå av ceroid og mineraler (kalsium, magnesium, fosfor og karbonat) (6). Det er imidlertid gjennomført få analyser av hva utfellingene i nyret består av.

Ved forekomst av nyrestein (urolith) hos landdyr og mennesker er det vanlig å diagnostisere hvilken type stein pasienten har, og ut fra dette avgjøres både behandling og forebygging. Blant oppdrettere ute i felt i dag snakker man gjerne om en myk, kornete og hard form av utfellingene man finner hos fisken. Man vet ikke enda om det betyr at det er ulike utfellinger som består av ulikt materiale eller om det er samme materiale men at det manifesteres ulikt.

Makroskopisk ser man gjerne fortykkede, hvite utførselsganger, eventuelt også lysere områder eller knuter i nyrevevet. Dersom sykdommen blir kronisk ser man svulne nyrer, og det kan forekomme ascites og utspilt buk, i tillegg til hyperemi og blødninger i bukveggen. Man antar at mekanismen bak lesjonene i nyret er opphopning av kalkholdig materiale i tubuli og ved tilstrekkelig ansamling vil det til slutt føre til nekrose av epitelcellene i tubuli, også kalt dystrofisk forkalkning (7),(1). For å stille diagnosen nefrokalsinose er gullstandarden i dag at det gjennomføres en histopatologisk vurdering. Diagnosen kan i kroniske tilfeller og/eller ved forekomst av omfattende avleiringer, også stilles makroskopisk. Det er imidlertid klart at det trengs nye diagnostiske verktøy, slik at man kan stille en tidligere diagnose, forhåpentligvis uten å måtte avlive fisken. Histopatologi vil være viktig for å få et bedre innblikk i sykdomsutviklingen. I tillegg vil histologi bidra til større innsikt i utbredelsen av nefrokalsinose i nyret, samt å undersøke om det finnes utfellinger i andre organer.

I denne studien var et av formålene å undersøke sammenhengen mellom den makroskopiske og histopatologiske scoringen. Betydningen av uttak av prøver fra ulike steder i nyret har også blitt studert, samt hvordan dette påvirker den histologiske scoren. Målsettingen var å utvikle en histopatologisk score som kan beskrive sykdomsutviklingen over tid, og hvor man med histologisk scoring skal kunne plukke opp tidlige faser av sykdomsutviklingen, noe som igjen vil være viktig for å avdekke og beskrive risikoperioder for utvikling av nefrokalsinose.

Videre ønsket vi å avgjøre om histologisk score kunne si noe om alvorlighetsgraden av sykdom ved utsett i sjø. Vi tar sikte på at denne scoren skal være et verktøy for å forutsi betydningen av eventuelle senskader fra nefrokalsinose etter utsett i sjø. Et annet mål med oppgaven var å undersøke hva utfellingene består av, noe som kan være avgjørende i videre behandling og spesielt forebygging av sykdommen. Det er mye man ikke vet om nefrokalsinose hos oppdrettsfisk og vi håper at denne oppgaven kan være med å bidra til å fokusere på nefrokalsinose som et økende problem, og bidra til at vi får utvidet kunnskap om flere faktorer som angår sykdommen.

Materiale og metoder

Materiale

Det ble inkludert to anlegg, heretter omtalt som lokaliteter, i denne studien. På lokalitet 1 hvor de produserer regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*), ble det gjennomført 4 uttak med omtrent 1 måneds mellomrom. På lokalitet 2 hvor det ble produsert laks (*Salmo salar* L), ble 3 uttak gjennomført, også med omtrent 1 måneds mellomrom. På hvert prøveuttak ble det tatt ut 20 fisk som er vurdert både makroskopisk og histologisk. Totalt antall fisk utgjør 80 på lokalitet 1 og 60 på lokalitet 2, til sammen 140 fisk. Dessverre ble det gjort selektert uttak for sykdommen ved det siste uttaket på lokalitet 2 (11.03.19). Dette ble gjort for å få nok prøvemateriale til å analysere selve utfellingene. Lokalitetene ble valgt ut da de i senere tid har hatt relativt høy forekomst av nefrokalsinose.

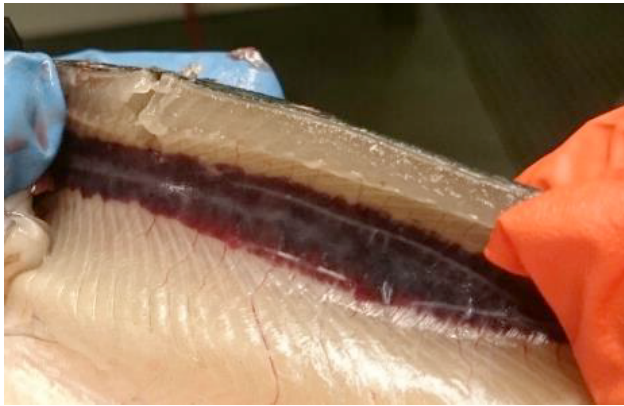
Metoder

Det er blitt brukt en kombinasjon av makroskopisk og histologisk scoring for begge lokaliteter. Scoringssystemene som ble benyttet til å analysere prøvene er som følger.

Makroskopisk scoring av nefrokalsinose

Makroskopisk vurdering og scoring ble gjort ute i felt. Disse ble gjennomført av veterinær Asgeir Østvik etter scoringssystem utviklet av Åkerblå. Scoringssystemet er som følger;

- 0 – Ingen synlig forkalkning
- 1 – Avgrensede områder i urinledere
- 2 – Omfattende områder av urinledere, evt. avgrensede knuter i nyrevevet
- 3 – Større, omfattende knuter i nyrevevet, nyrevevet sveller ut, dannelse av større ”nyresteiner”



Bilde 1



Bilde 2

Bilde 1 og 2 viser eksempel på fisk scoret til 1 på den makroskopiske skalaen. Piler viser forkalkning i urinleder (Bilde 1) og urinblære (Bilde 2).



Bilde 3



Bilde 4

Bilde 3 og 4 viser eksempel på fisk scoret til 2 på den makroskopiske skalaen. Her er større deler av urinlederne og evt. urinblæren forkalket.



Bilde 5



Bilde 6

Bilde 5 og 6 viser eksempel på fisk scoret til 3 på den makroskopiske skalaen. Her er det store forkalkninger i urinledere (Bilde 5), og knuter i nyrevevet (Bilde 6).

Histologisk scoring av nefrokalsinose

Fra hver fisk ble det tatt ut midtnyre (ryggfinne ble benyttet som siktepunkt for kraniale tverrsnitt over nyre) og baknyre (bifurcatur av uretheres inn i urinblære ble benyttet som kraniale tverrsnitt over baknyre). Nyreprøver med bredde på ca. 0.5 cm ble dissekert ut og overført til 10% fosfat-bufret formalin. Prøvene ble oppbevart i kjøleskap i 24 timer før forsendelse til laboratoriet (IDEXX, Wetherby, England), hvor prøvematerialet ble opparbeidet etter standard histologiske metoder (8).

Ferdige snitt ble scannet med digital snittscanner (Leica Aperio AT2, Leica Biosystems Inc., 1700 Leider Lane Buffalo Grove, IL 60089 United States), og snittene ble avlest digitalt ved hjelp av programvaren Objective View (Objective Pathology Services, 13629 Falbrook Trail Georgetown, Halton Hills Ontario, Canada L75G 4S8).

Sammen med Pharmaq Analytiq ble et histopatologisk scoringssystem for nefrokalsinose utviklet, og de to nyreprøvene fra samtlige fisk ble undersøkt og scoret uavhengig av undertegnede og en histopatolog fra Pharmaq Analytiq.

Histologisk påvises i tidlig stadium dilaterte utførselsganger og urinledere. Lumen er ofte i varierende grad fylt med avstøtt tubuliepitel, debris, mørke basofile korn og granula av ulik størrelse. Veggene i utførselsgangene skades til slutt og det kalkholdige materialet kommer da ut i omkringliggende vev og skaper en akutt betennelse (interstitiell nefritt). Det fører igjen til en granulomatøs betennelse (fremmed-legeme granulom) og ofte med blødninger i det interstitielle vev. Muskeldegenerasjon, forkalkede foci, granulomdannelse og blødninger kan også sees i muskulatur inntil nyret (7).

Diagnosen nefrokalsinose stilles ut fra funn av utfellinger av blålig (basofilt), strukturløst (amorft) materiale i tubuli og samlør. I nefrokalsinose-score vurderes forandringer ut fra forekomst i snittflaten:

- 0 – ingen forandringer
- 1 – forandring i mindre enn 10% av aktuelle vevsstrukturer
- 2 – forandringer i mellom 10-50% av aktuelle vevsstrukturer
- 3 – forandringer i mer enn 50% av aktuelle vevsstrukturer

Videre vektes disse ut fra effekten de ulike forandringene antas å ha på sykdomsutviklingen, og tiden det vil ta å lege tilstanden. Totalt fire kategorier benyttes:

KATEGORI	FORANDRING	VEKTOR
Kategori 1	Utfellinger	Forekomst fra 1-3 vektet med faktor på 1
Kategori 2	Degenerasjon og/eller nekroser av epitel i tubuli og utførselsganger	Forekomst fra 1-3 vektet med faktor på 2
Kategori 3	Forandringer i glomeruli	Forekomst fra 1-3 vektet med faktor på 3
Kategori 4	Forandringer i immunologisk vev	Forekomst fra 1-3 vektet med faktor på 4

Tabell 1

I denne scoren gjelder generelt at 1 til og med 10 betraktes som milde forandringer, score fra 11 til og med 20 betraktes som moderate forandringer, mens score fra og med 21 og oppover betraktes som omfattende forandringer. Det gis en score i første omgang fra 0-3 etter kategori og deretter vektet scoren etter hvilken kategori den inngår i. Vektor-tallene er satt etter hvor stor påvirkning vi antar de ulike kategoriene har på utvikling/alvorlighetsgrad av sykdommen.

Analyser av utfellinger

Det har vist seg at utfellingene fisken får ved nefrokalsinose ikke alltid har samme konsistens.

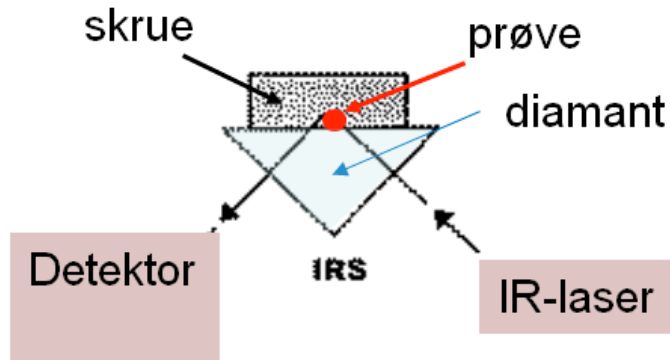
Tre ulike former for utfellinger har blitt beskrevet; en bløt, en kornete og en hard form.

Utfellingene ble undersøkt mhp. sammensetning og om sammensetningen kunne relateres til de ulike formene/konsistensene. Disse analysene ble gjennomført ved AHUS av Morten Kåre Moe.

Utfellingene ble analysert ved bruk av infrarød spektroskopi (IRS). IRS gir unike spektra av ulike kjemiske forbindelser. Det fysiske grunnlaget for IRS er at molekyler ikke er statiske; alle kjemiske bindinger vibrerer og mange bindinger roterer, i tillegg kommer det at bindinger beveger seg inn og ut av det planet som er energetisk mest gunstig. Dessuten vil flere atomer kunne vibrere asymmetrisk.

Det ble benyttet kontinuerlig IR lys i området $4000-400\text{ cm}^{-1}$. Fotoner med ”riktig” energi vil bli absorbert, resten slipper gjennom til detektoren, og signalet transformeres matematisk (Fourier Transformasjon; FT) for avlesning i tolkbart spektrum.

Konkrementene fra nyre ble vasket raskt ved å dryppe dem i etanol, deretter aceton. De ble analysert på ATR-FTIR etter å ha tørket i luft i 5 minutter. Attenuated total reflection (ATR) ble benyttet for å analysere utfellingen. Infrarødt lys reflekteres fra en interface (f. eks en diamant) via total intern reflektans. En stående bølge av lys emitteres fra overflaten på diamanten, og de fotonene som ikke absorberes reflekteres tilbake inn i diamanten og går videre til detektoren. Prøven er i optisk kontakt (tett kontakt) med krystallen (diamanten), som oppnås ved å presse prøven ned mot diamanten med en skrue.



Nicolet iS10 (Thermo Scientific, Oslo) ble benyttet sammen med softwaren Omnic. For tolkning av spektra er programmet OmnicSpecta satt opp med følgende referansespektra: Amorfdahllitt, CO₃Dahllitt, Ammoniumurat, Brushitt, kalsiumoksalat dihydrat, kalsiumoksalat monohydrat, cystin, Dahllit, Dittmaritt, Na-urat, Newberyitt, oktakalsiumfosfat pentahydrat, protein, struvitt, trikalsiumfosfat, urinsyre, urinsyre dihydrat, whitlockitt, xanthin, magnesiumkarbonat og magnesiumfosfat. Identifisering av forbindelser i nyrestein er gjort i området 2000-600 cm⁻¹.

Statistiske metoder

Det ble foretatt en regresjonsanalyse hvor 'histologisk score' ble satt som avhengig variabel og 'makroskopisk score' og 'anlegg' som prediktorer eller uavhengige variabler. Det som da framkommer er i hvilken grad makroskopisk score gir noen indikasjon om histologisk score og om anlegg har noen innvirkning på dette, altså om det er forskjeller mellom anleggene. Siden lokalitet 1 produserer regnbueørret og lokalitet 2 atlantisk laks, er det også mulig å se på forskjeller mellom artene. Vi har også sammenlignet fornyre og baknyre etter anlegg. De histopatologiske scoringene gir resultater på en kontinuerlig skala og i tillegg har vi transformert disse resultatene til 5 ulike ordinale score-nivå.

Vi har analysert makroscore og histologisk score/anlegg med ordinal regresjon. Fordelingen av de vektete scorene er så langt fra normalfordelt at vi har laget kategorier med steg på 5 vektet score 1 eller 2, benevnt ”cat”. Cat er satt som uavhengig variabel og med makroscore og anlegg som forklaringsvariabler. Vi har også prøvd å snu problemstillingen og beregnet sannsynligheten for opptreden av makroforandringer basert på histologisk score.

Resultater

Generelt om resultatene

Uttakene på lokalitet 1 og 2 er henholdsvis gjort fra 23.01.19 til 10.04.19 og fra 16.01.19 til 11.03.19. Fra første til siste uttak er det da gått 2.5 måned for lokalitet 1 og i underkant av 2 måneder for lokalitet 2. Uttakene er altså gjort ganske tett opp i hverandre og den gjennomsnittlige vekten på fisken endrer seg ikke betydelig.

Gjennomsnittsvekten på første uttak på lokalitet 1 var 119 gram, og det stiger jevnt til det ender på 135,6 gram på fjerde og siste uttak. På lokalitet 2 ble det ikke registrert vekt på fisken på første uttak, men fra uttak nr. 2 til uttak nr. 2 stiger gjennomsnittsvekten fra 99.7 gram til 106 gram. Alle uttakene er gjort fra samme kar på begge lokaliteter slik at vi følger den samme fisken med samme forutsetninger. Som nevnt er det altså tatt prøver av regnbueørret på lokalitet 1 og laks på lokalitet 2.

Da dette er lokaliteter som i senere tid har hatt problemer med nefrokalsinose, og vi regnet med å komme over flere fisk med sykdommen selv ved tilfeldig uttak, mener vi at det allikevel var nok tid til å studere en eventuell sykdomsutvikling. Dersom det ikke skulle gi de store resultatene så fikk en fortsatt kartlagt utviklingen av sykdommen på lokaliteter med

utfordringer, og samtidig satt makroskopiske resultater opp mot histologiske. En annet ønske med uttakene var som nevnt å teste nytteverdien av den histopatologiske scoren utviklet sammen med Pharmaq Analytiq. Dette for å vurdere om denne kan være et godt hjelpemiddel i den daglige diagnostikken og vurdering av nefrokalsinose på anlegg.

Resultatene er presentert etter lokalitet og uttak. Makroskopisk score og histologisk score fra samme uttak er satt opp ved siden av hverandre, dette for å lettere visualisere eventuell korrelasjon mellom de to scoringssystemene. I histologisk score er det tatt med både flat score og vektet score, og her er alle tallene gjennomsnittstall fra uttaket, dette for å komprimere mengden data. Etterfulgt av de rene dataene kommer en oppsummering av de histologiske funnene fra hvert uttak på hvert anlegg og en generell beskrivelse av funnene basert på de histopatologiske rapportene skrevet til hvert uttak.

Etterfulgt av en generell presentasjon av makroskopiske og histologiske resultater presenterer jeg resultatene gjort av analysene på Ahus. Her ble det oppdaget av utfellingene faktisk består av ulikt materiale og jeg ser nærmere på dette.

Helt til slutt presentere jeg statistikken vi har gjennomført hvor hovedvekten ligger på korrelasjon mellom makroskopisk og histologisk score.



Bilde 7

Eksempel på en nyre med omfattende nefrokalsinose. Det sees hvite utfellinger både i samlerør (vevsbit til venstre) og i hele nyrets tverrsnitt (vevssnitt til høyre). På spissen av skalpell sees typisk materiale tatt ut for analyse ved hjelp av IRS.

Lokalitet 1

Uttak 1

Det første uttaket på lokalitet 1 ble gjort den 23.01.2019. Det ble tatt ut prøver av totalt 20 fisk. Fisken har en gjennomsnittsvekt på 119 gram.

Makroskopisk Score	
Nyrescore	Antall fisk
0	17
1	2
2	0
3	1

Histologisk Score	
Midtnyre	
Flat Score	Vektet Score
1.4	2.9
Baknyre	
Flat Score	Vektet Score
1.5	3

Uttak 2

Det andre uttaket på lokalitet 1 ble gjort den 21.02.19. Det ble tatt ut prøver av totalt 20 fisk. Gjennomsnittsvekten på fisken er nå 113.4 gram.

Makroskopisk Score	
Nyrescore	Antall fisk
0	15
1	1
2	3
3	1

Histologisk Score	
Midtnyre	
Flat Score	Vektet Score
1.45	2.1
Baknyre	
Flat Score	Vektet Score
0.9	1.2

Uttak 3

Det tredje uttaket på lokalitet 1 ble gjort den 19.03.19. Det ble tatt ut prøver av totalt 20 fisk.

Gjennomsnittsvekten var på 115.8 gram.

Makroskopisk Score	
Nyrescore	Antall fisk
0	17
1	3
2	0
3	0

Histologisk Score	
Midtnyre	
Flat Score	Vektet Score
2.2	4.45
Baknyre	
Flat Score	Vektet Score
1.95	4.1

Uttak 4

Det fjerde uttaket på lokalitet 1 ble gjort den 10.04.19. Det ble tatt ut prøver av totalt 20 fisk.

Gjennomsnittsvekten var på 135.6 gram.

Makroskopisk Score	
Nyrescore	Antall fisk
0	19
1	0
2	1
3	0

Histologisk Score	
Midtnyre	
Flat Score	Vektet Score
1.7	3.2
Baknyre	
Flat Score	Vektet Score
1.45	2.6

Lokalitet 2

Uttak 1

Det første uttaket på lokalitet 2 ble gjort den 16.01.19. Det ble tatt ut prøver av totalt 20 fisk.

Det ble ikke registrert gjennomsnittsvekt på fisken på dette uttaket av ukjente grunner.

Makroskopisk Score	
Nyrescore	Antall fisk
0	16
1	3
2	0
3	1

Histologisk Score	
Midnyre	
Flat Score	Vektet Score
2.15	4.75
Baknyre	
Flat Score	Vektet Score
1.6	3.35

Uttak 2

Det andre uttaket på lokalitet 2 ble gjort den 11.02.19. Det ble tatt prøver av totalt 20 fisk.

Gjennomsnittsvekten på fisken var da 99.7 gram.

Makroskopisk Score	
Nyrescore	Antall fisk
0	16
1	1
2	3
3	0

Histologisk Score	
Midnyre	
Flat Score	Vektet Score
0.85	1.3
Baknyre	
Flat Score	Vektet Score
0.85	1.3

Uttak 3

Det tredje uttaket på lokalitet 2 ble gjort den 11.03.2019. Det ble tatt prøver av totalt 20 fisk. Gjennomsnittsvekten på fisken var da steget til 106 gram. Det må nevnes at på dette uttaket ble det selektert for syk fisk. Dette ble gjort uten at vi ble informert om det forhånd. Det er gjort i aller beste hensikt for å få nok materiale til analyse av nyreforkalkningene, men påvirker naturlig analysen og statistikken av resultatene.

Makroskopisk Score	
Nyrescore	Antall fisk
0	11
1	1
2	4.5
3	3.5

Histologisk Score	
Midtnyre	
Flat Score	Vektet Score
4.1	9.2

Baknyre	
Flat Score	Vektet Score
4.2	9.5

Beskrivelse av histologiske funn

På begge lokaliteter har vi jevnt over fått ganske lav score både makroskopisk og histologisk. Vi har allikevel fått et brukbart spekter av histologiske forandringer som beskriver utviklingen av nefrokalsinose. I dette avsnittet kommer en oppsummering av histologiske funn fra hver lokalitet og hvert uttak. Etterfulgt kommer et representativt antall histologiske bilder fra begge lokaliteter som beskriver både milde, moderate og omfattende forandringer, og som beskriver hvordan vi bruker histologi til å diagnostisere nefrokalsinose.

Lokalitet 1

Ved det første uttaket på lokalitet 1 var gjennomsnittlig histologisk score for uttaket 2.9 for midtnyre og 3.0 for baknyre. For midtnyre var 11 av nyret uten anmerkninger, 8 nyrer hadde totalt sett milde forandringer og en nyre hadde omfattende forandringer. Tilsvarende for baknyre var 11 nyrer uten anmerkninger, 7 nyrer hadde milde forandringer, en nyre moderate forandringer, og en nyre omfattende forandringer forenelig med nefrokalsinose. Det ser ut som om utviklingen av nefrokalsinose er i en tidlig fase.

Det andre uttaket fra lokalitet 1 hadde funn av forandringer forenelig med nefrokalsinose hos 17 av 20 individer. Gjennomsnittlig score for uttaket var 2.1 for midtnyre og 1.2 for baknyre. For midtnyre var 3 av 20 individer uten anmerkning, mens 16 hadde milde forandringer forenelig med sykdommen og 1 fisk hadde moderate forandringer. Tilsvarende for baknyre var 10 nyrer uten anmerkning, 9 hadde milde forandringer og 1 fisk hadde moderate forandringer. Det ser ikke ut til at tilstanden har utviklet seg siden forrige uttak.

Ved det tredje uttaket var det funn forenelige med nefrokalsinose hos 16 av 20 individer. Gjennomsnittlig score for uttaket var 4.5 for midtnyre og 4.1 for baknyre. For midtnyre var fire av nyret uten anmerkninger, 15 midtnyrer hadde totalt sett milde forandringer og en midtnyre hadde moderate forandringer. Tilsvarende for baknyre var 7 nyrer uten anmerkninger, 10 baknyrer hadde milde forandringer og to baknyrer hadde moderate forandringer. Et gjennomgående funn var at det var liten forekomst av utfellinger, men i de tilfellene hvor man fant nefrokalsinose-utfellinger var det betydelige vevsreaksjoner i tilstøtende vev. Det kan ikke utelukkes at dette kan settes i sammenheng med kjemisk sammensetning av utfellinger. Det var ingen økning i forekomst av nefrokalsinose i forhold til de to foregående uttakene. Det var forekomst av alle de fire kategoriene både for midtnyre og

baknyre. Dette indikerer at utviklingen er på vei inn i en kronisk fase for fisk med sykdommen.

Det fjerde og siste uttaket fra lokalitet 1 hadde funn forenelig med nefrokalsinose hos 14 av 20 individer. Gjennomsnittlig nefrokalsinose-score for uttaket var 3.2 for midtnyre og 2.6 for baknyre. For midtnyre var 6 av nyrene uten anmerkninger, 13 midtnyrer hadde totalt sett milde forandringer og en hadde moderate forandringer. Tilsvarende for baknyre var 7 nyrer uten anmerkninger, 12 baknyrer hadde milde forandringer og en baknyre hadde moderate forandringer. Nyrer med moderate forandringer stammer fra samme fisk og dette var den eneste fisken med anmerkninger på makroskopisk score (score 2). I motsetning til de andre uttakene hvor forholdet mellom score på midtnyre og baknyre har vært jevn fant man her noe høyere forekomst av forandringer i midtnyre sammenlignet med baknyre. Dette antas å skyldes tilfeldig variasjon og det var ingen systematikk i forskjellene på individ-nivå. Et gjennomgående funn var at det var liten forekomst av utfellinger, men i de tilfellene hvor nefrokalsinose-utfellinger forelå var det betydelige vevsreaksjoner i tilstøtende vev. Dette tilsvarer det som ble observert i forrige uttak. Det var ingen økning i forekomst av nefrokalsinose i forhold til de tre foregående uttakene, og totalt sett vurderes forekomsten som lav. Det var noe forekomst av score kategori 4, men hovedsakelig ble fisken scoret i kategori 1 og 2. Dette indikerer at en andel av forandringene var av kronisk karakter.

Lokalitet 2

Ved et første uttaket på lokalitet 2 var det funn av forandringer forenelig med nefrokalsinose hos 12 av 20 individer. Gjennomsnittlig nefrokalsinose-score for uttaket var 4.8 for midtnyre og 3.6 for baknyre. For midtnyre var 8 av nyrene uten anmerkninger, 9 nyrer hadde totalt sett milde forandringer, en nyre hadde moderate forandringer og to nyrer hadde omfattende

forandringer. Tilsvarende for baknyre var 12 nyrer uten anmerkninger 6 nyrer hadde milde forandringer og 2 nyrer hadde omfattende forandringer forenelig med nefrokalsinose. Det var noe høyere forekomst av forandringer i midtnyre i forhold til baknyre. Det ser ut som om utviklingen av nefrokalsinose er forbi tidlig fase hos rammede individer. Det var relativt lik forekomst av de ulike kategoriene for både midtnyre og baknyre.

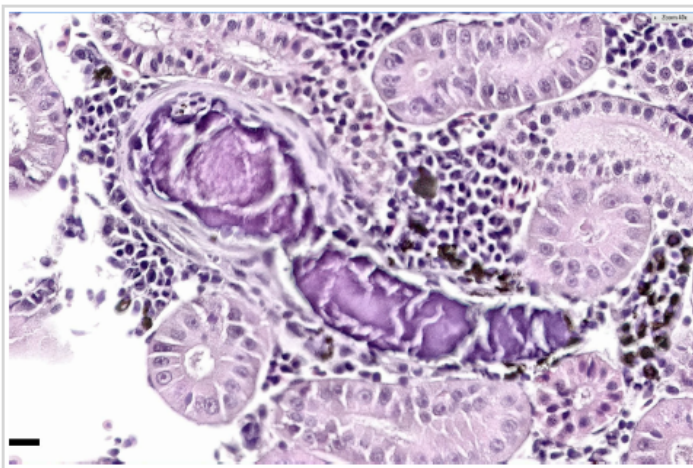
Det andre uttaket på lokalitet 2 hadde funn forenelig med nefrokalsinose hos 9 av 20 individer. Gjennomsnittlig score for uttaket var 1.3 for både midtnyre og baknyre. For midtnyre var 11 nyrer uten anmerkning mens 9 nyrer hadde totalt sett milde forandringer. Tilsvarende for baknyre var 13 nyrer uten anmerkning, mens 7 nyrer hadde milde forandringer. Til sammenligning var forekomsten av nefrokalsinose mindre i dette uttaket enn i første uttak. Det var relativt lik forekomst mellom midtnyre og baknyre. Det var i hovedsak forekomst av kategori 1 og 2 i både midtnyre og baknyre. Dette indikerer at utviklingen av nefrokalsinose i gruppen er i tidlig fase hos individer med nefrokalsinose.

Ved det tredje og siste uttaket på lokalitet 2 var det funn forenelig med nefrokalsinose hos 16 av 20 individer. Gjennomsnittlig score for uttaket var 9.2 for midtnyre og 9.5 for baknyre. For midtnyre var 7 av nyrene uten anmerkninger, 5 nyrer hadde totalt sett milde forandringer, 3 nyrer hadde moderate forandringer og 5 nyrer hadde omfattende forandringer. Tilsvarende for baknyre var 6 nyrer uten anmerkninger, 6 hadde milde forandringer, 4 nyrer hadde moderate forandringer og fire hadde omfattende forandringer forenelig med nefrokalsinose. Det var relativt lik forekomst av forandringer mellom midtnyre og baknyre. Det var relativt lik forekomst av de fire ulike kategoriene både for midtnyre og baknyre. Dette indikerer at utviklingen er i en kronisk fase. Det bemerkes at det var svært stor spredning i forekomst av nefrokalsinose i det undersøkte materialet, alt fra ingen forekomst til omfattende skader.

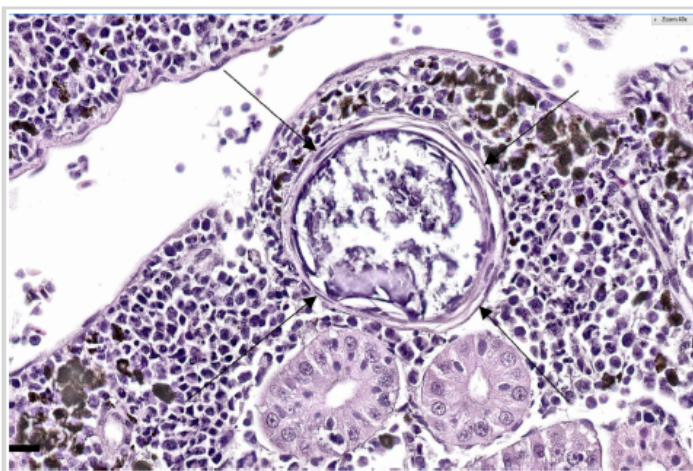
Økning i forekomst av nefrokalsinose i forhold til de to foregående uttakene var markant. I ettertid fikk vi vite at de hadde gjort et selektert uttak ved dette uttaket. De hadde altså selektert for typiske nefrokalsinose-fisk som nevnt tidligere, og dette er da naturligvis årsaken til den markante økningen i tilfeller.

Histologiske bilder

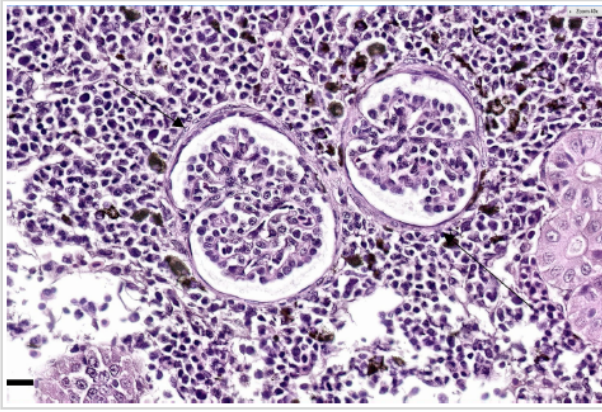
Først vil jeg presentere noen typiske bilder for de ulike kategoriene vi scorer nefrokalsinose etter. Bilde 7 er typisk kategori 1 med utfellinger. Bilde 8 viser både kategori 1 og 2 med utfellinger og nedbrutt tubuli med fibrose. Bilde 9 viser kategori 3 med fortykket glomeruli. Bilde 10 representerer kategori 4, her ser man omfattende granulomatøs betennelse.



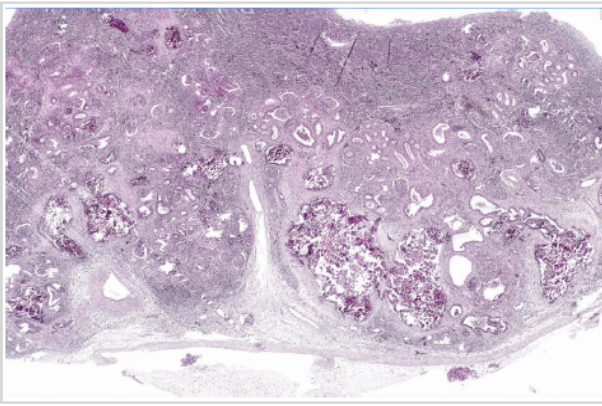
Bilde 8 – Midtnyre
Blålige, strukturløse utfellinger i tubuli typisk for nefrokalsinose. Merk at tubuli-epitelet er nedbrutt og det er moderat grad av fibrose rundt utfellingen.



Bilde 9 – Midtnyre
Piler peker mot rester av tubuli hvor det sees blålig, strukturløs utfelling i lumen og hvor tubuli-epitelet er fullstendig nedbrutt. Det sees moderat fibrose som avgrenser utfelling fra omliggende interstitielt nyrevev.

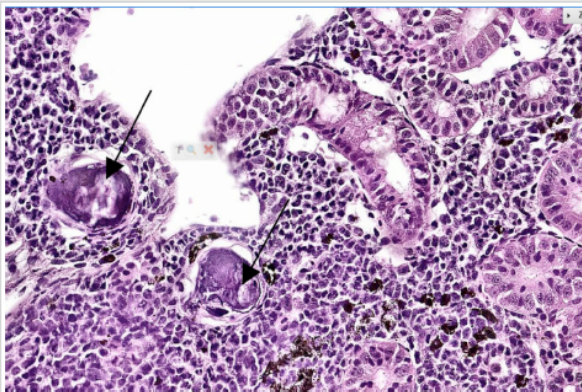


Bilde 10 – Midtnyre
Piler peker mot glomeruli hvor kapselen (Bowman's kapsel) er fortykket på grunn av fibrose. Merk også at preurin-rommet er tydelig dilatert, trolig på grunn av stagnasjon av urin, forårsaket av utfellinger lenger ut i systemet.

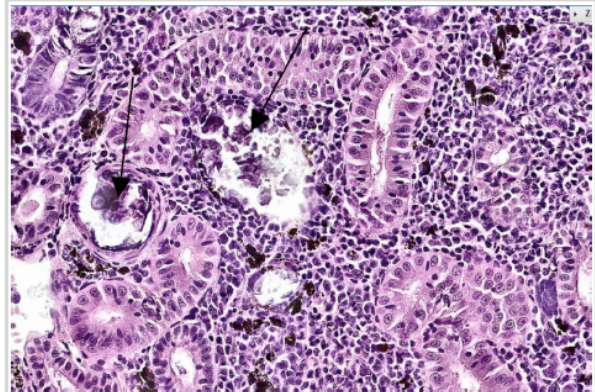


Bilde 11 – Baknyre
Omfattende granulomatøs betennelse (øvre del av bildet) og fibrose (nedre del av bilde) i snittflaten.

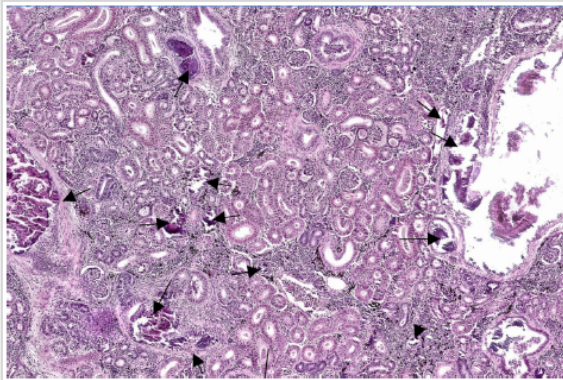
Blant uttakene gjort på begge lokalitetene ble det funnet alt fra milde til omfattende forandringer, og de neste seks bildene representerer de ulike omfangene.



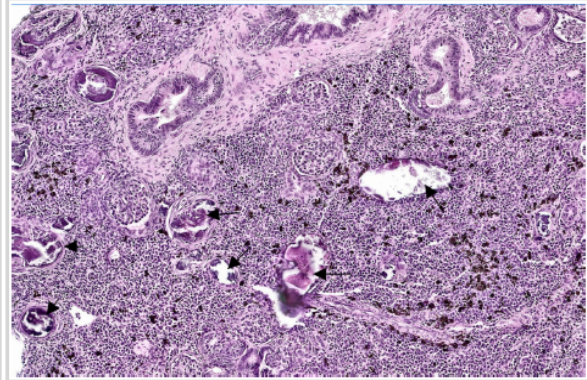
Bilde 12
Milde forandringer i midtnyre. Blålige, strukturløse utfellinger i tubuli typisk for nefrokalsinose. Merk at tubuli-epitelet er nedbrutt og det er moderat grad av fibrose rundt utfellingen.



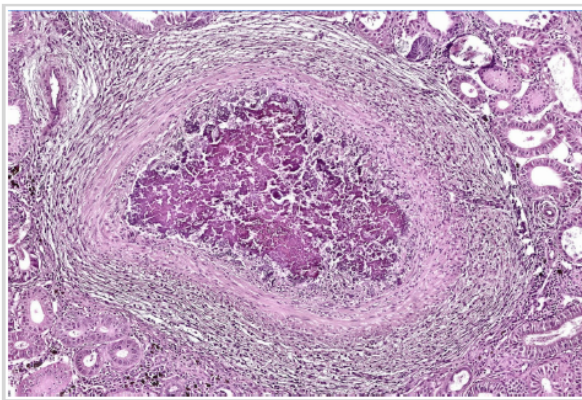
Bilde 13
Milde forandringer baknyre. Blålige strukturløse utfellinger i tubuli. Merk at tubuli-epitelet er nedbrutt og det er mild grad av fibrose rundt utfellingen.



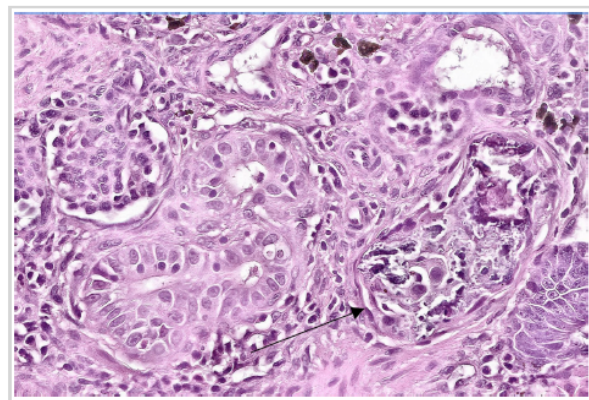
Bilde 14 – Mittdnyre
Moderate forandringer i tubuli med nekrose av epitel, mer uttalt fibrose og større ansamlinger av blålige strukturløse utfellinger i tubuli.



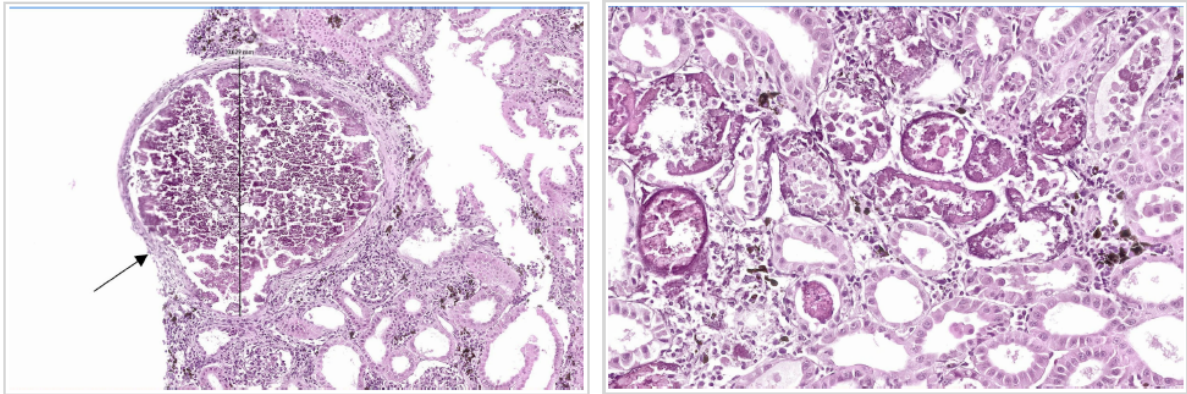
Bilde 15 – Baknyre
Moderate forandringer i tubuli med nekrose av epitel, mer uttalt fibrose og større ansamlinger av blålige strukturløse utfellinger i tubuli.



Bilde 16 – Baknyre
Omfattende granulomatøs betennelse som omslutter samlerør med store mengder utfellinger.



Bilde 17 – Baknyre
Det sees omfattende fibrose i nyreinterstitiet som omgir nedbrutte tubuli. Pil peker mot et nedbrutt tubuli som inneholder utfellinger sammen med nekrotisk vev.



Bilde 18 – Midtnyre

Utfelling i et kraftig dilatert samlerør (pil). Lengden på strek: 0.63mm. Slike utfelling vil på sikt gi tilstopping av samlerør og opphopning av urin, og det sees dilatasjon av tubuli i vevet rundt samlerør.

Bilde 19 – Baknyre

Omfattende forekomst av nedbrutte tubuli, og det sees betennelse og nekrose i omliggende interstitielt vev.

Analyser av utfelling

Som nevnt blir utfellingene ute i felt kategorisert i tre former; bløt, kornete og hard, noe som ga grunnlag for å mistenke at alle utfellingene ikke består av de samme materialene.

Analysene ble gjennomført ved AHUS hvor det jobbes mye med karakterisering av nyrestein hos menneske. Metodene som er anvendt her er de samme som anvendes på mennesker.

Disse analysene viste at det er en spredning i type materiale disse utfellingene består av. Det er mest av et fosfatmineral, kalt Dahllitt. Det er to ulike forbindelser som begge går under dette navnet. Materialet kalt amCAP (Amorphous carbonate apatite), var det som det ble funnet mest av, etterfulgt av CAP (carbonate apatite). Det neste på listen er også ett fosfatmineral, kalt struvitt (magnesium ammonium phosphate – MAP). Til sist fant vi, kun på lokalitet 1 (regnbueørret), også Brushitt og Whitlockitt. Når man finner Dahllitt hos menneske

indikerer det ofte at det er en infeksjon tilstede. Brushitt og Whitlockitt fant man kun på lokalitet 1, hvor det oppdrettes regnbueørret. Da kan man stille seg spørsmål om dette er type steiner som kun regnbueørret kan utvikle, og at laks ikke utvikler disse typene.

Dette antyder at det er en tilsynelatende forskjell mellom de ulike formene både morfologisk og kjemisk. Hos kjæledyr er identifisering av type urinstein avgjørende for forebygging og behandling. Det er et behov for større undersøkelser rundt typer steiner, forekomsten av disse og hvordan de bidrar til utvikling av nefrokalsinose videre i prosessen for å ordentlig kartlegge sykdommen og for å kunne komme med gode, velbegrunnede råd til oppdrettere.

	CAP	amCAP	MAP	Brushitt	Whitlockitt	Newberyitt	Ca-oxalate	Nyretev	Kommentarer
Lokalitet 1									
Prøve F9		18 %		9 %	53 %			20 %	Poor spectrum
Prøve F9		16 %		16 %	56 %			12 %	Poor spectrum
Prøve F9		36 %		13 %	27 %			24 %	
Prøve F19		36 %	19 %	16 %				29 %	
Prøve F19	15 %	50 %	14 %					21 %	
Prøve F10	33 %	42 %	15 %					10 %	
Prøve F3	50 %	29 %						21 %	Very high carbonate content
Prøve F5	48 %	34 %						18 %	Very high carbonate content
Prøve F14	40 %	33 %	27 %						
Prøve F14	40 %	31 %	29 %						
Lokalitet 2									
Prøve F1	40 %	34 %	26 %						
Prøve F2		45 %	19 %					36 %	Lipid tissue
Prøve F2	50 %	35 %						15 %	
Prøve F5		39 %	28 %					33 %	
Prøve F5		47 %	24 %					29 %	
Prøve F6		46 %	24 %					30 %	
Prøve F19		46 %	20 %					34 %	
Prøve F12		48 %	19 %					33 %	
Prøve F12	47 %	38 %						15 %	
Totalt Lok1									
	226 %	325 %	104 %	54 %	136 %			155 %	
Totalt Lok 2									
	137 %	378 %	160 %					225 %	

Bilde 20

Bildet viser en oversikt over prosentandel av de ulike materialene i de ulike prøvene fra begge lokaliteter. Det viser også hvor mye nyrevev utgjorde av prøven. I to av prøvene var spektra dårlig og to hadde veldig høyt karbon-innhold. I en prøve fant man mye fettvev.

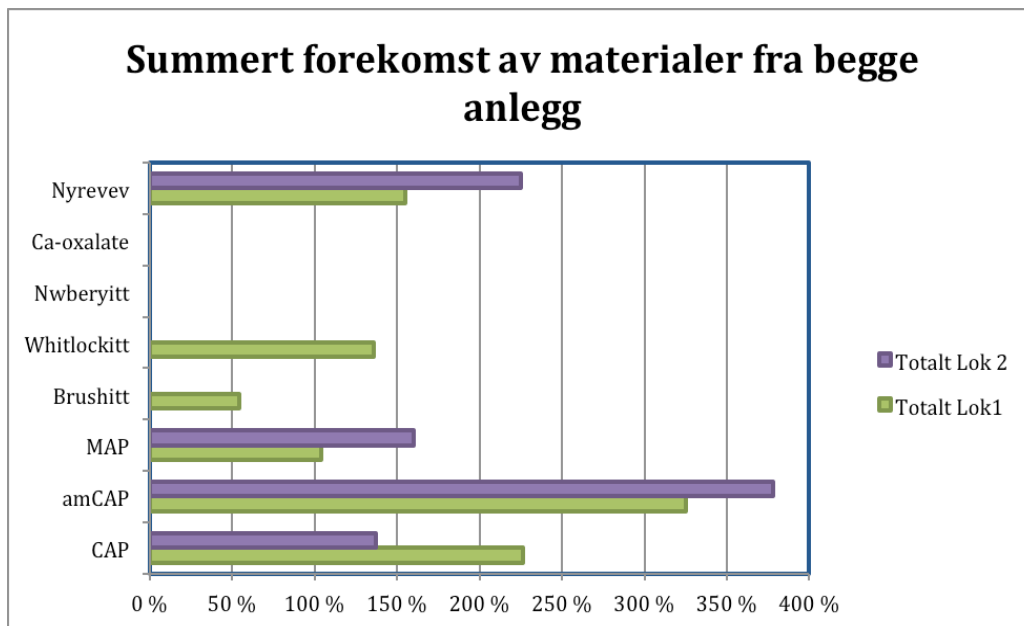


Fig. 1
Her ser vi en oversikt over funnene på de to ulike lokalitetene.

Statistikk

Hovedfokuset statistisk i denne oppgaven var å se på korrelasjonen mellom makroskopisk score og histologisk score. Dette for å kunne si noe om verdien av en vektet histologisk score i praksis. Ønsket med den histologiske scoren er å kunne se små endringer tidlig slik at man kan sette inn tiltak så snart man ser en utvikling.

Det første vi gjorde var å lage en enkel fordeling av resultatene fra den makroskopiske scoringen. Figur nr. 2 viser den totale makroskopiske fordelingen fra begge anleggene mens figur nr. 3 viser total makroscore fordelt etter anlegg.

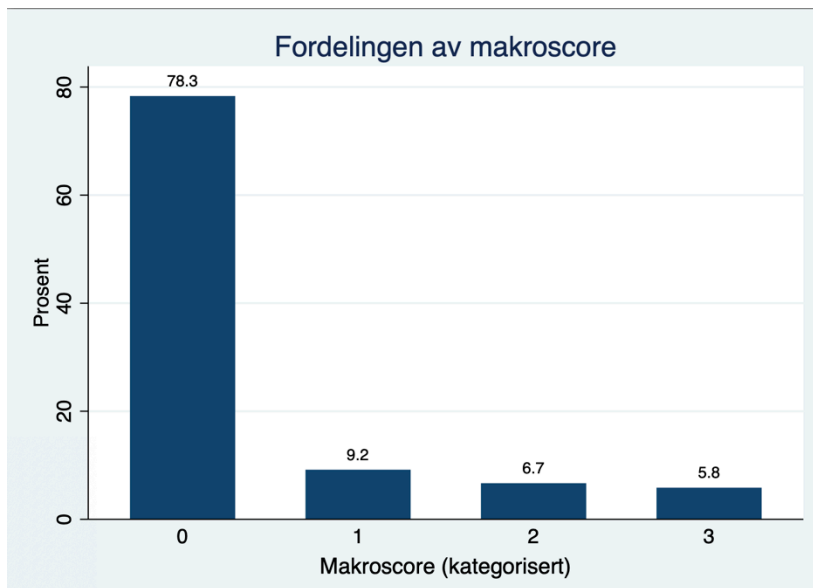


Fig. 2
Her ser vi en fordeling av den totale makroskopiske scoringen fra begge anleggene med en overbærende vekt på score 0 (78.3%).

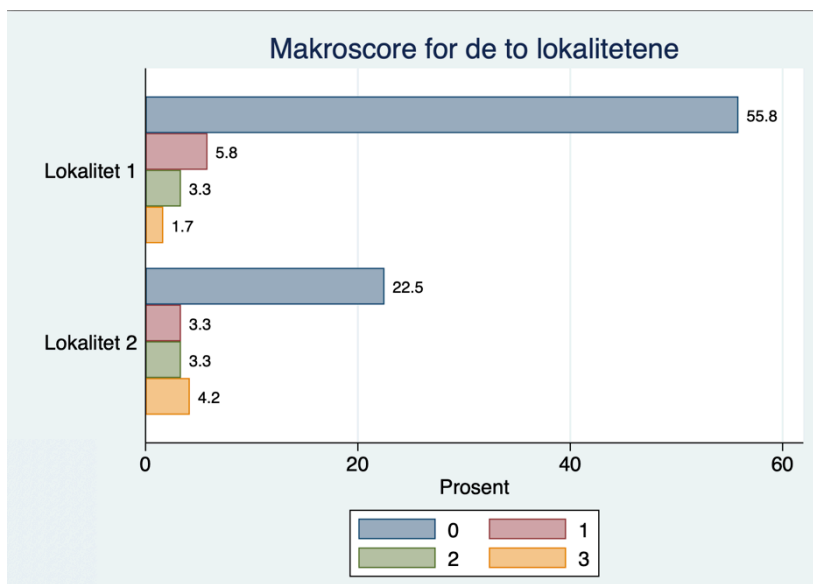


Fig. 3
Her ser vi total makroskopisk score (nyre) fordelt på de to lokalitetene.

Vi ser ut fra disse tabellene at hovedvekten av fisken gis score 0. De andre scorene ligger forholdsvis jevnt fordelt, spesielt for lokalitet 2. Disse figurene viser den makroskopiske scoringen for alle uttakene samlet, og viser at prosent affisert fisk generelt er lavt.

Fig. 4

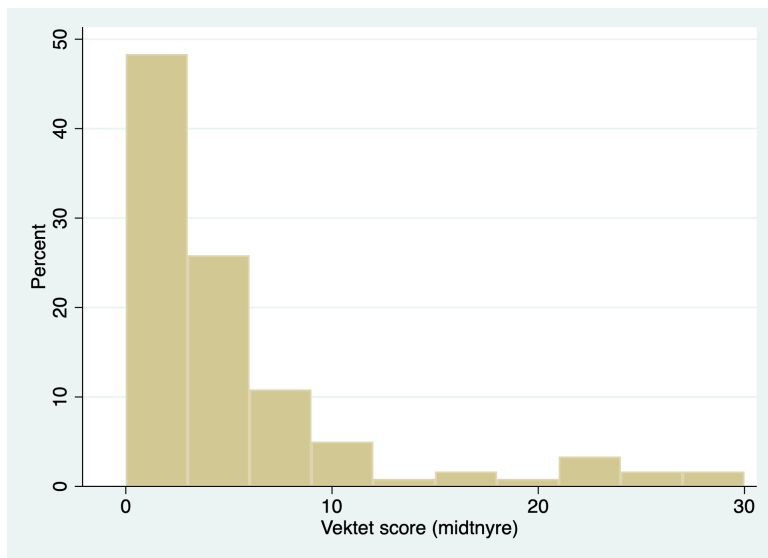
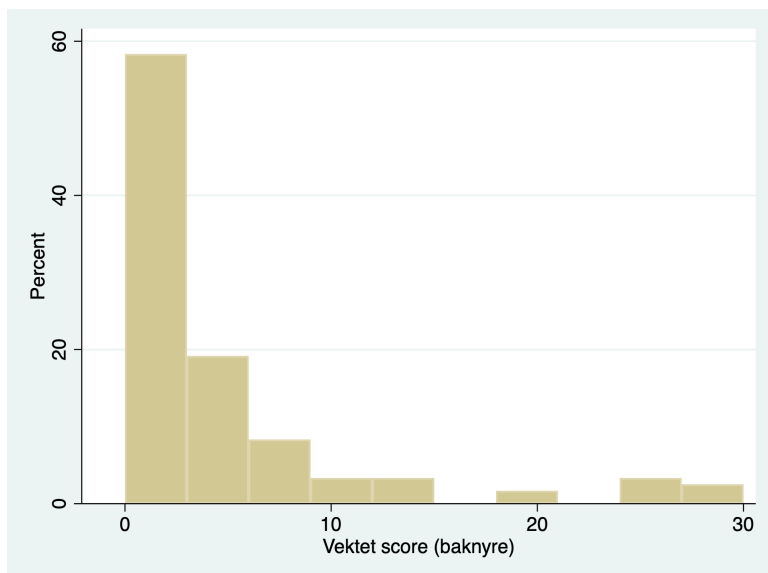


Fig. 5



Etterfulgt av makroskopisk score så vi på den totale vektete histologiske scoren for begge anleggene samlet. Her er midtnyre presentert i figur 4 og baknyre presentert i figur 5.

Hovedvekten av fisken har score 0, og ellers er det lave score med et lavt antall fisk med score over 20. Makroskopisk og histologisk scoring har lignende fordeling.

Fig. 6

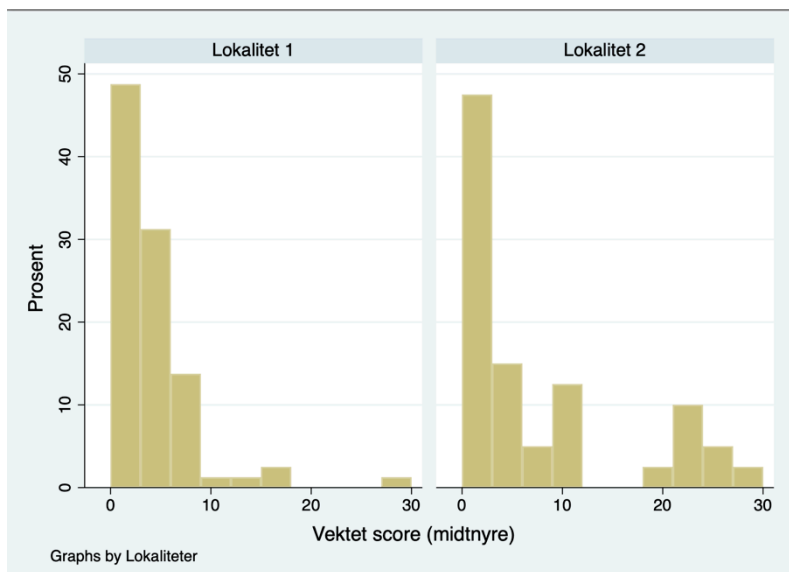
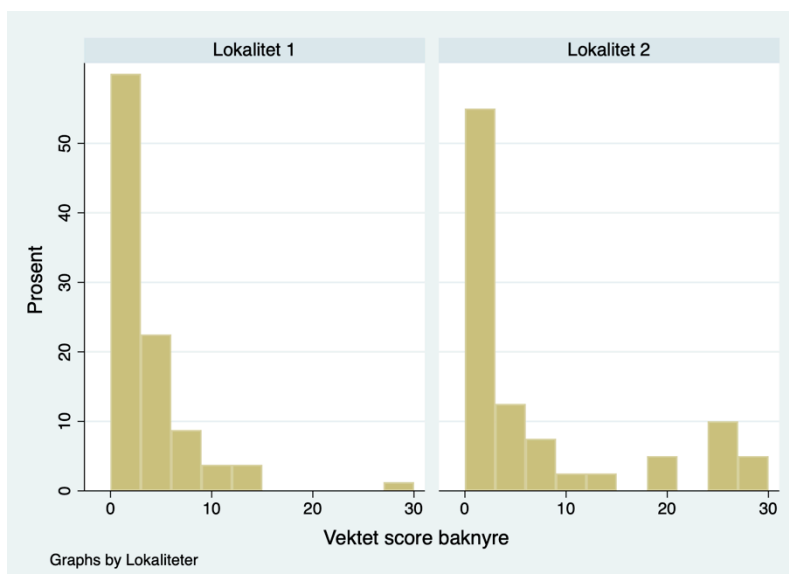


Fig. 7



Vi har også sett på vektet score av midtnyre og baknyre for de to lokalitetene separat (Figur 6 og 7). Her kan man se at det er flere høyere scoringer på lokalitet 2 enn lokalitet 1. Dessverre er det sannsynlig at dette kommer av at det selektive uttaket som ble gjort ved det siste uttaket på lokalitet 2.

-> tabulation of ma by site

ma	anl		Total
	Lokalitet 2	Lokalitet 1	
0	27	67	94
1	4	7	11
2	4	4	8
3	5	2	7
Total	40	80	120

Tabell 2

Dette er en enkel tabelloversikt over den makroskopiske scoren for de to lokalitetene.

-> tabulation of vs1 by site

Vektet score (midtnyre)	anl		Total
	Lokalitet 2	Lokalitet 1	
0	15	24	39
1	4	15	19
3	3	24	27
4	3	1	4
6	1	2	3
7	0	9	9
8	1	0	1
10	2	1	3
11	3	0	3
13	0	1	1
16	0	1	1
17	0	1	1
19	1	0	1
22	3	0	3
23	1	0	1
25	2	0	2
29	1	0	1
30	0	1	1
Total	40	80	120

Tabell 3

-> tabulation of vs2 by site

Vektet score (baknyre)	anl		Total
	Lokalitet 2	Lokalitet 1	
0	18	34	52
1	4	14	18
3	3	16	19
4	2	1	3
5	0	1	1
6	1	1	2
7	1	6	7
8	1	0	1
10	1	2	3
11	0	1	1
12	0	1	1
13	0	2	2
14	1	0	1
19	1	0	1
20	1	0	1
24	1	0	1
25	2	0	2
26	1	0	1
27	1	0	1
29	1	0	1
30	0	1	1
Total	40	80	120

Tabell 4

Disse to tabellene gir en oversikt over den vektete histologiske scoringen for begge lokalitetene. I tabell 3 ser vi scoringen for midtnyre og i tabell 4 for baknyre. Disse tallene analyserte vi med ordinal regresjon. Fordelingen av vs1 og vs2 er så langt fra normalfordelt at vi endte opp med å lage kategorier med «steg» på 5 (vs1 eller vs2 score, benevnt 'cat'). Cat er satt som uavhengig variabel og med makroscore og anlegg som forklaringsvariabler og da framkommer følgende:

Fig. 11

```

1 . ologit catavg ma site

Iteration 0:  log likelihood = -118.49593
Iteration 1:  log likelihood = -106.3361
Iteration 2:  log likelihood = -99.031862
Iteration 3:  log likelihood = -96.214695
Iteration 4:  log likelihood = -96.178566
Iteration 5:  log likelihood = -96.178526
Iteration 6:  log likelihood = -96.178526

Ordered logistic regression          Number of obs   =      120
                                   LR chi2(2)         =      44.63
                                   Prob > chi2        =      0.0000
                                   Pseudo R2         =      0.1883

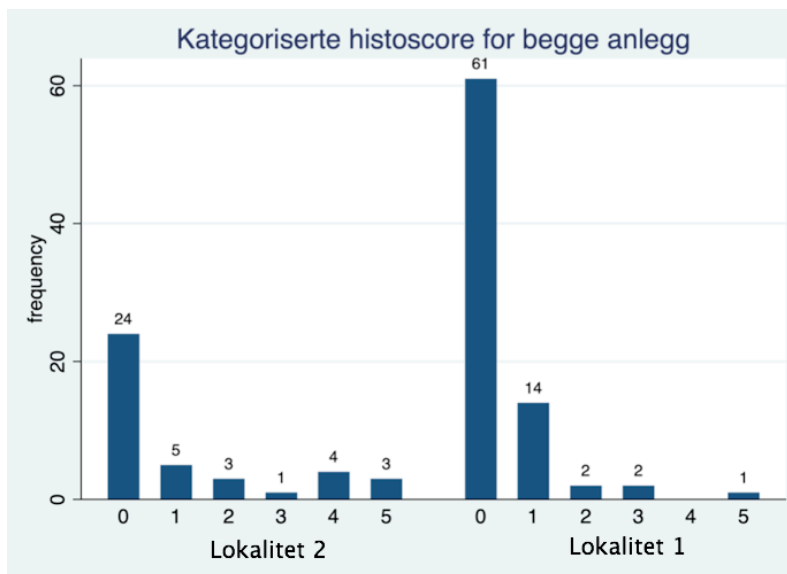
Log likelihood = -96.178526

```

catavg	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
ma	1.516428	.2624395	5.78	0.000	1.002056 2.0308
site	-.4666917	.4559591	-1.02	0.306	-1.360355 .4269718

Denne figuren gir en oversikt over hvordan vi har utført den logistiske regresjonen. Her får vi altså en statistisk forskjell med effekt av makroskopisk score, men ingen av 'site' (anlegg).

Fig. 12

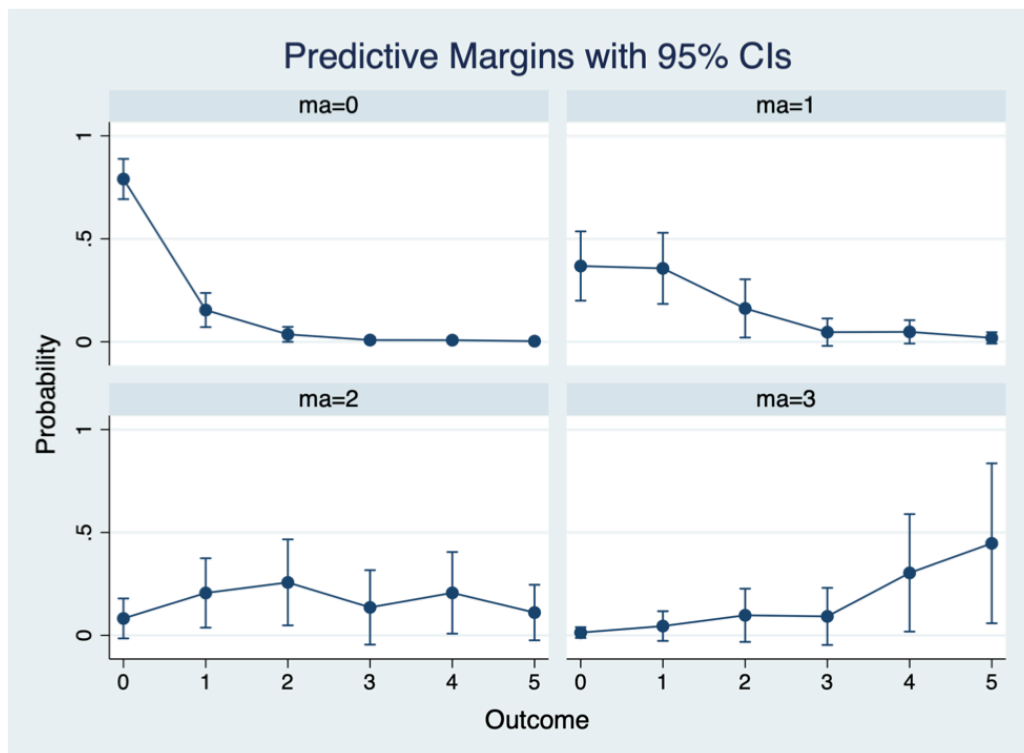


Figur 12 viser hvordan fordelingen av den histologiske scoren blir etter at vi har satt den vektete scoren inn i kategorier.

Kategoriene er som følger;

- $\leq 5 \rightarrow 0$
- 6-10 $\rightarrow 1$
- 10-15 $\rightarrow 2$
- 15-20 $\rightarrow 3$
- 20-25 $\rightarrow 4$
- $> 25 \rightarrow 5$

Fig. 13



Figur 13 er basert på en prediksjon gitt av regresjonsanalysen vist ovenfor. Det er vist en prediksjon for sannsynlig 'histoscore' med makroskopisk score som prediktor, inndelt i 3 kategorier makroscore, ma=1 til ma=3. Figuren kan tolkes slik at det er høy sannsynlighet for at en makroscore på 0 (ma=0), gir en histocat på 0, mens ma=1 og 2 ikke gir noen klare indikasjoner om hvordan histologien ser ut. En høy makroscore (ma=3) gir høyest sannsynlighet for høy histoscore, men siden vi har så få fisk med høy score blir konfidensintervallet veldig høyt og predikasjonen dårlig. Dette viser at ingen synlige makroforandringer gir indikasjoner om at fisken ikke er syk, men alt annet er veldig usikkert.

Fig. 14

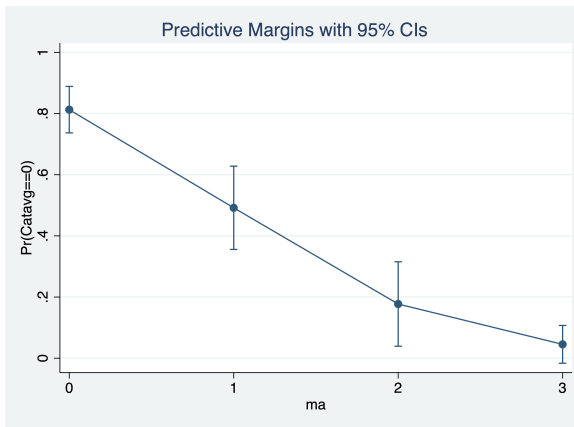
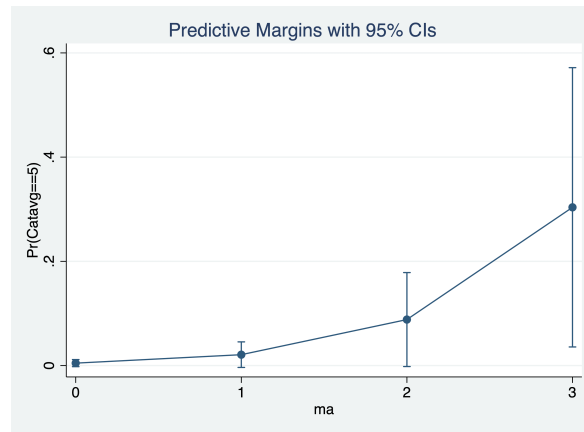


Fig. 15



Figur 14 og 15 viser henholdsvis sannsynligheten for histologi score I kategori 0 (Catavg=0) og kategori 5 (catavg=5).

Fig. 16

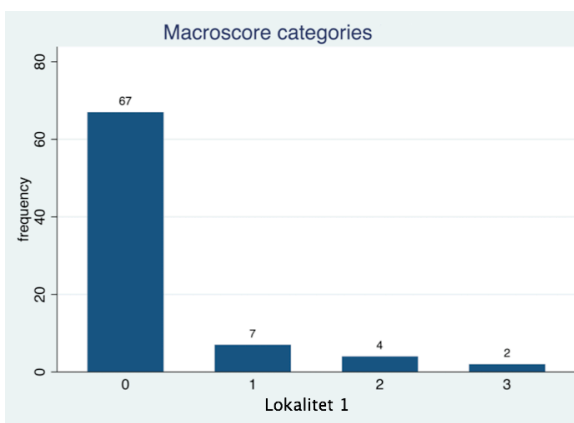


Fig. 17

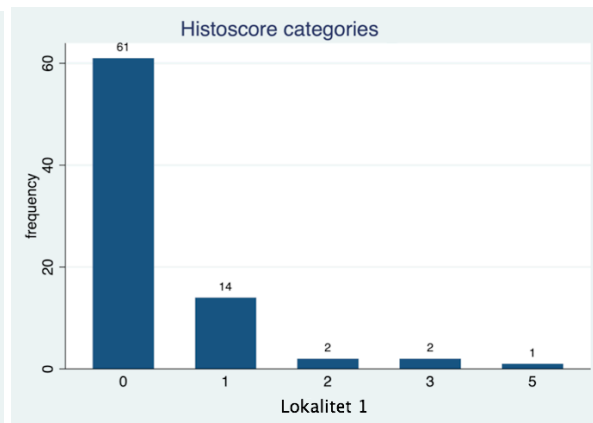


Fig. 18

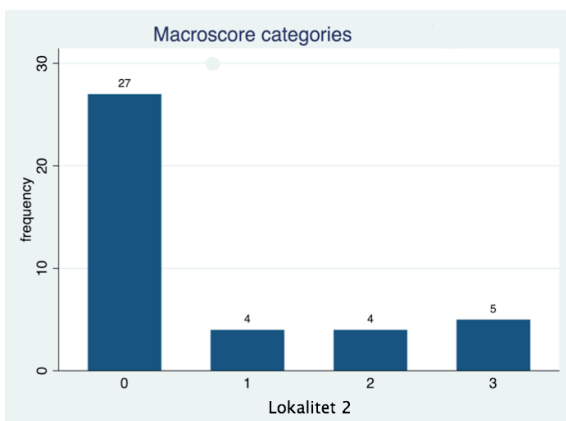
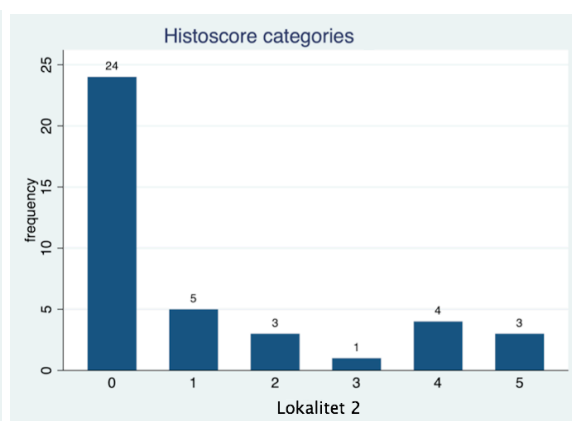
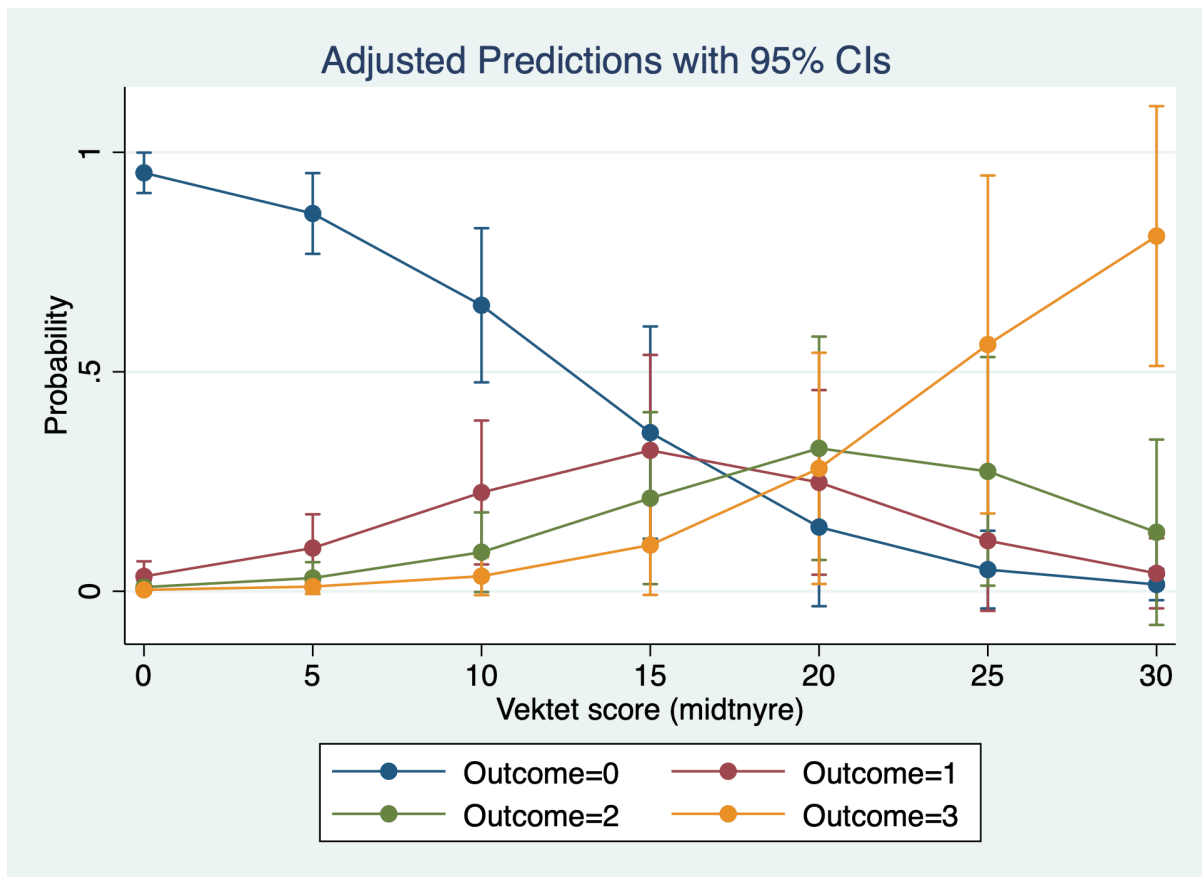


Fig. 19



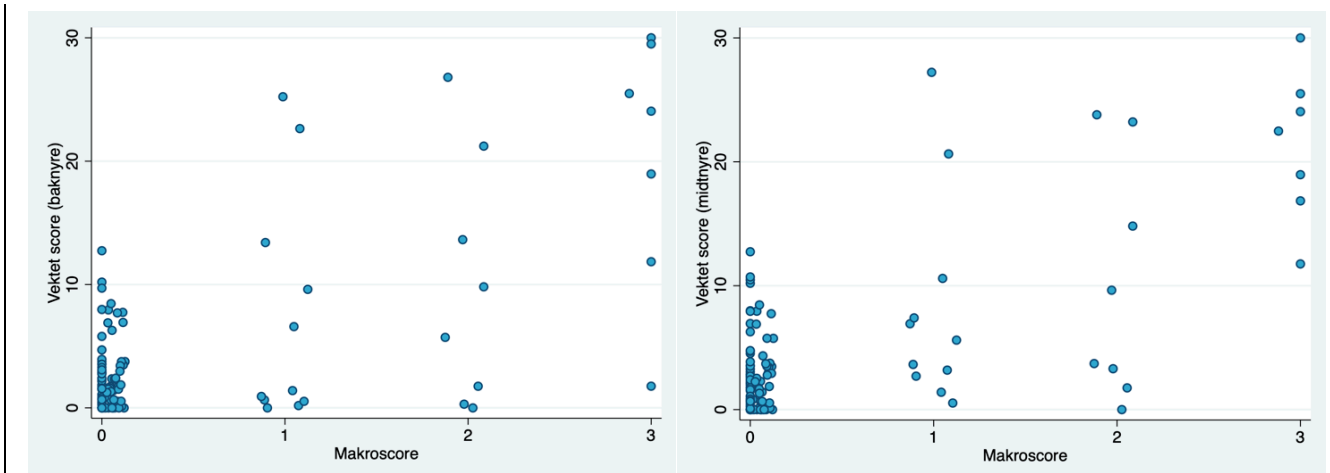
Figur 16, 17, 18 og 19 gir en oversikt over makroskopisk og histologisk score, hvor den histologiske scoren er representert med kategorier i stedet for vektet score. Vi ser her at fordelingen ikke blir så ulike den vektete histologiske scoren.

Fig. 20



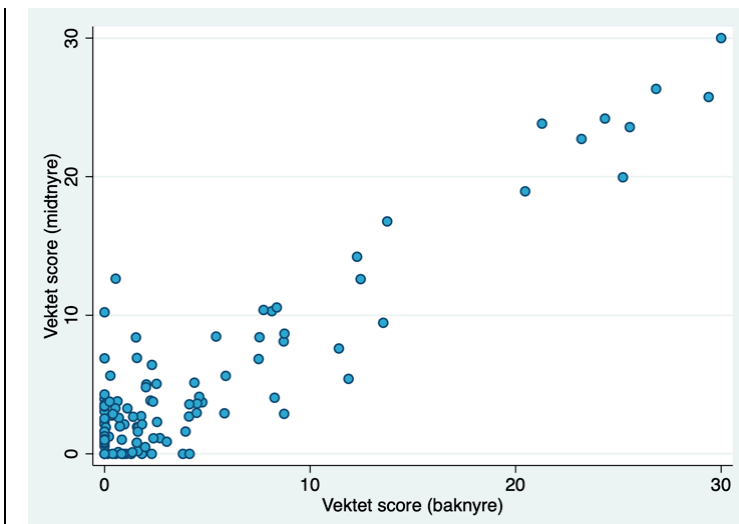
Dersom vi snur om på problemstillingen og beregner sannsynligheten for opptreden av makroforandringer basert på histologisk score, får vi resultater som vist i figur 20 (basert på vektet score for midtnyre). Dersom vi sammenligner dette med grafene fra figur 13 ser vi at vi får ganske like resultater også ved snudd problemstilling, og igjen slik at høy histologisk score gir høy prediksjon for høy makroskopisk score, og omvendt.

Fig. 21



En scatterplot for histologisk score basert på makroskopisk score er vist I figur 21, for henholdsvis makro/midtnyre og makro/baknyre. Figuren viser hvordan histologisk score fordeler seg for de ulike kategoriene av makroskopisk score. Baknyre og midtnyre referer til de histologiske vurderingene.

Fig. 22



Scatterplot for vektet score i bak- og midtnyre avlest histopatologisk. Det er godt samsvar hva angår forandringer/score for de to områdene, med noe større avvik ved lave score.

Diskusjon

Makroskopisk vs. Histologisk vurdering

Et av målene med denne oppgaven var å få et innblikk i forekomst av nefrokalsinose på to anlegg som i tidligere produksjoner hadde fått påvist sykdommen. I tillegg var det en målsetting å gjøre en pilotstudie hvor vi så på sammenhengen mellom makroskopisk score og den histologiske score/kategorisering som har blitt utviklet. Dette har vi gjort ved å avgjøre i hvilken grad den samstemmer med den makroskopiske scoren.

Det som klart framkommer er at høy makroskopisk score også gir høy sannsynlighet for at det foreligger histopatologiske forandringer (og omvendt). På samme måte gir fravær av makroskopiske forandringer en god indikasjon for at det ikke er histopatologiske forandringer i nyret. Ut over dette er det noe dårlig sammenheng mellom lave makroskopiske score (1 og 2) og histopatologiske forandringer (Figur 13 og 21). Som det framkommer av Figur 21, er det flere individer med makroskopisk score 2 hvor det ikke er blitt påvist forandringer i midt- eller baknyre ved histopatologisk undersøkelse. Et spørsmål blir om uttaket av prøver fra individer med lav makroskopisk score (1 og 2) var representativt, dvs. tatt fra et område med tydelige makroskopiske forandringer. Det området som inngår i et vevssnitt er nødvendigvis avgrenset og gitt at forandringene er fokale vil metoden anvendt for uttak være av betydning for resultatet av den histopatologiske vurderingen. Siden flere individer som hadde makroskopisk score 1 og 2 også hadde høy histologisk score, kan det tyde på at utvelgelsen av området for prøvetaking kan være av betydning, altså at forekomsten av nefrokalsinose i tidlig stadium av sykdommen ikke er jevnt fordelt i vevet. På den annen side kan det også være en mulighet for at den makroskopiske vurderingen har for lav oppløsning, og at fokale, men utbredte (multifokale) forandringer ikke gir makroskopisk, påviselige (synlige) forandringer. Her skal det også legges til at forandringer i interstitiet i form av

betennelsesforandringer/granulomer gir høy vekt i den metoden som er utviklet og det kan være at denne typen endringer ikke er synlige med det blotte øye. Av den grunn kan det være mangel på samsvar mellom makroforandringer og histopatologiske forandringer.

Vi har i tillegg til å sammenligne makroskopisk score med histologisk score også sammenlignet histologisk scoring av midt- og baknyre (Figur 22). Hensikten var å avgjøre hva som er det beste prøvetakingsområdet i nyret, og om det er stor variasjon av nefrokalsinose-forandringer ulike steder i nyren. Når vi ser på statistikken kan man muligens si at det ser ut som om midtnyre har en noe høyere score jevnt over enn baknyre, men de har på alle uttakene ligget veldig tett opp til hverandre, og man hadde nok ikke funnet noen statistisk forskjell mellom dem. Det kan synes som at det ikke er nødvendig å ta prøver fra begge steder og man kan holde seg til f. eks midtnyre.

Analyser av utfellingene

I følge kvantemekanikken kan en kjemisk binding kun befinne seg i helt bestemte energitilstander. Når en binding går fra en vibrasjonell energitilstand til en annen (og høyere) kreves det en spesiell energimengde for at det skal kunne skje. Dersom det sendes fotoner mot molekylet med for lav energi, skjer det ingenting med bindingen. Har fotonene for høy energi skjer det heller ingenting. Det er bare når fotoner med en energimengde nøyaktig lik vibrasjonsenergien til bindingen at bindingen blir vibrasjonelt eksitert.

Energien til et foton er gitt ved $E=h\nu$ (Plancks konstant \times fotonets frekvens). Vibrasjons- og rotasjonsenergien til en binding vil være påvirket av naboatomene til atomene som utgjør bindingen, og disse små forskjellene gjør at hvert eneste molekyl vil ha sitt helt unike IR spektrum. IR lys som sendes inn mot en prøve som har energi nøyaktig lik energien til en binding vil bli absorbert.

I tillegg til å gjennomføre en pilotstudie av det histologiske scoringssystemet ble det også gjort et forsøk på å analysere innholdet i utfellingene som oppstår ved nefrokalsinose. Dette for å undersøke om disse alltid bestod av likt materiale eller om vi faktisk kunne finne forskjeller ut over de morfologiske. Undersøkelsene viste at det faktisk er et ganske bredt spekter av materialer utfellingene består av. Det er også noen utfellinger som vi kun har funnet på regnbueørret. Det vil være interessant å gå enda mer i dybden av analysen av disse utfellingene og kartlegge fordelingen mellom arter og stadier av sykdommen. Hvorvidt det kan være en prediktiv verdi i å gjennomføre disse analysene, gjenstår å se. Det er kjent prosedyre hos smådyr (hund/katt) at man analyserer steiner for å best kunne avgjøre behandling og videre forebygging. Funnene fra oppgaven indikerer at dette er et interessant fagfelt som bør utredes videre som en del av diagnostikken rundt nefrokalsinose. Ved uttak ble ikke konsistensen av utfellingene vurdert (myk, kornete eller hard), og i videre studier bør konsistensen av utfellinger vurderes opp mot kjemisk sammensetning.

Veien videre diagnostisk?

Per dags dato er gullstandarden for å stille diagnosen nefrokalsinose basert på histopatologi. Selv om dette er en god metode så er den tidkrevende og man kommer ikke utenom å måtte avlive fisken for å stille diagnosen. I løpet av dette studiet har vi diskutert flere ulike fremtidige metoder for diagnosestilling av nefrokalsinose. Her kan blodprøvetaking være aktuelt og målsettingen må være å sammenholde endringer i definerte parametere som kan gi indikasjoner om stadium prognose og risiko for eksempel ved sjøsetting. Spørsmålet er om man klarer å se endringer tidlig nok til at man kan ta ut sykdommen tidlig og dermed også

forebygge og/eller behandle i tide. Vi har heller ingen markører for PCR per dags dato, og dette er noe man så absolutt burde se på videre.

Hva trenger vi å kunne mer om?

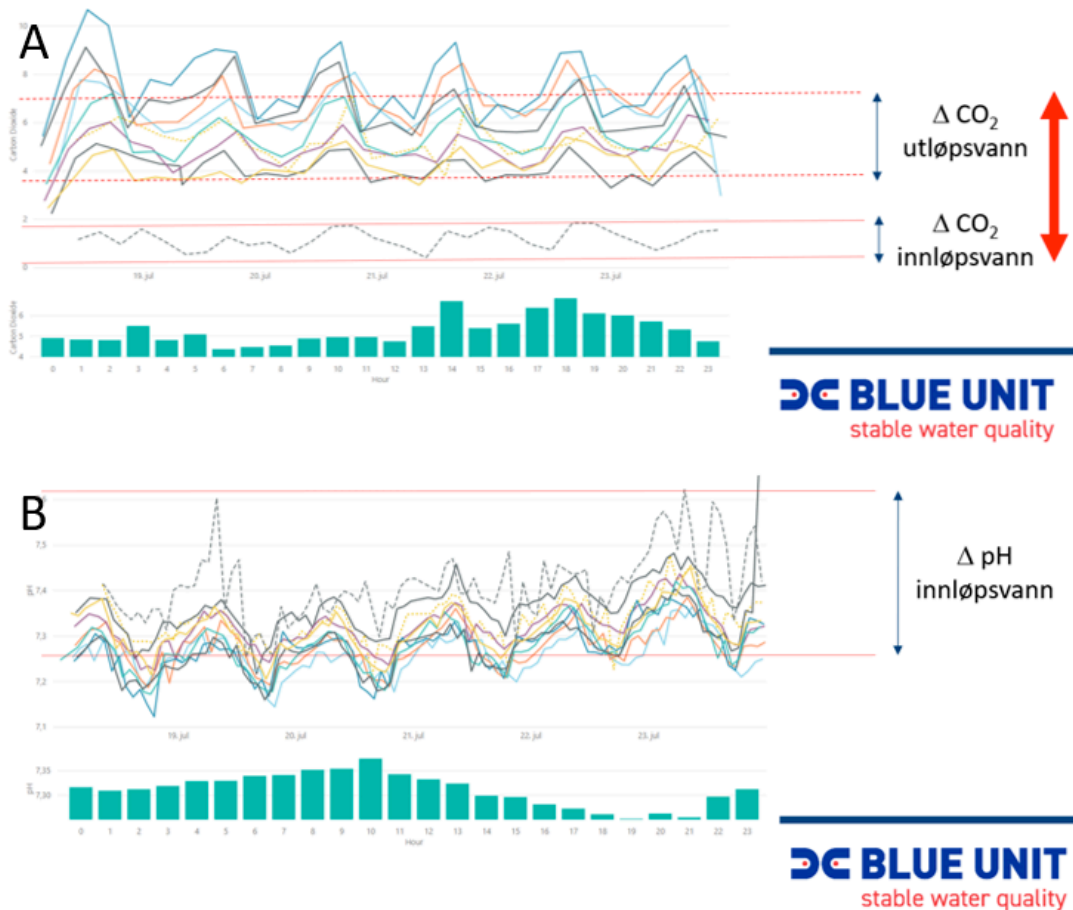
Nefrokalsinose er en kompleks sykdom med mange faktorer som kan spille inn og det er muligens flere underkategorier av selve sykdommen. Det har også kommet fram at vi har forholdsvis lite kunnskap om denne sykdommen. En av faktorene som har vært mye omdiskutert om har en effekt på nefrokalsinose er nivået av CO₂. Hvilke effekter CO₂ har på utviklingen av nefrokalsinose er fortsatt noe usikkert, og det er enda mer usikkert er hvilken effekt svingninger i CO₂ har å si.

En annen noe ukjent faktor er fôring. Da nefrokalsinose hadde sitt forrige ”utbrudd” oppdaget man en ubalanse mellom fosfor, selen og magnesium i fôret. Da man rettet opp i dette gikk tilfellene av nefrokalsinose betraktelig ned. Dette til tross er det fortsatt mulighet for at ulike fôrkomponenter og fôrsammensetninger kan være med og bidra til utvikling av sykdommen, ikke minst i samvirke med miljøfaktorer. Det er kanskje ikke hovedårsaken, men dersom nefrokalsinose er så sammensatt som man får inntrykk av så burde man absolutt gjøre ytterlige undersøkelser for å avgjøre hvilken betydning fôr/fôrkomponenter har for opptreden av sykdommen. Den brått innsettende og epizootiske utbredelsen av tilstanden indikerer at det foreligger en fellesnevner for tilstanden slik vi ser utbredelse av den i dag. Det har i enkelte fagmiljøer blitt diskutert at den høye forekomsten av plantebaserte fôrkilder i forhold til marint fosfor kan spille inn, men det er ikke gjort systematiske studier for å kartlegge dette. Vi er allerede rimelig sikre på at vannkvalitet og fôring er faktorer som påvirker sykdom, men det er trolig flere andre faktorer som vi foreløpig ikke vet noe om.

Mattilsynet setter krav til at vannkvalitet skal måles, loggføres og rapporteres etter fastsatte retningslinjer (9). Likevel er disse kravene framsatt av tilsynsmyndighetene å betrakte som et minstemål, og man kan også diskutere om kravene som stilles i dag er tilpasset den stadig økende bruken av RAS; med økt gjenbruksgrad av vann økes kravet til kontroll med vannkvalitet. Et annet viktig poeng er at fisk ofte kan tilpasse seg suboptimale vannkvaliteter så lenge forholdene holdes konstant. Aller mest skadelig for fisken er varierende vannkvalitet (10).

I dag foreligger det svært på muligheter for kontinuerlig måling av vannkvalitet, og de fleste settefiskanlegg opererer med måling av vannkvalitet en gang om dagen i henhold til fastsatte retningslinjer. Dersom man likevel velger å måle ulike vannparametere kontinuerlig vil man i de fleste anlegg se en del betydelige variasjon i vannkvalitet gjennom et døgn, og det gjennomgående mønsteret er at for eksempel CO₂ og pH henholdsvis stiger og synker når fisken føres, for så å falle tilbake til nivåene som før føring når biofilter og CO₂ luftere klarer å motvirke ubalansen (Bilde 21).

Disse svingningene i vannkvalitet vil vedvare gjennom produksjonssyklusen, og i mange tilfeller tilta med økende biomasse i anlegget. Det hele kulminerer rett før utsett av fisk hvor mest omfattende svingninger i vannkvalitet skal kombineres med at fisken skal gjennomgå adaptasjon til sjøfase (smoltifisering). Vannkvalitet er fra tidligere ansett som en risikofaktor for utviklingen av nefrokalsinose, og vi mener at også svingninger i vannkvalitet bør undersøkes som en mulig risikofaktor for denne tilstanden. Felles for de fleste forskningsprosjekter som har vurdert effekt av CO₂ på utvikling av nefrokalsinose er at de har blitt gjennomført i relativt stabile omgivelser med lav fisketetthet.



Bilde 21

Grafer som viser svingninger i vannparameterne CO₂ (A) og pH (B) over en periode på seks døgn. Det er viktig å understreke at lignende svingninger også sees for andre vannparametre, og CO₂ og pH er kun ment som relevante, illustrative eksemper. Grafen er hentet fra Blue Unit etter tillatelse fra David Owen.

Begrensninger og generaliserbarhet

Denne studien har helt klart flere tydelige begrensninger. For det første er studien gjort over et relativt kort tidsrom. Det hadde også vært interessant å følge fisken etter sjøsett for å se hvor godt de takler overgangen til sjøfase, men på grunn av tidsmessige begrensninger ble ikke dette gjennomført. Det hadde også vært interessant å inkludere enda flere fisk, og enda flere

lokaliteter slik at man i større grad kunne ha sammenlignet forskjeller mellom regnbueørret og laks, samt fiskens prestasjon i sjø ved ulike alvorlighetsgrader av sykdommen.

Det begrensede antall prøver gjør også de statistiske analysene usikre. I tillegg var det foretatt en seleksjon ved det siste uttaket på lokalitet 2, dvs. en direkte seleksjonsfeil (selektert uttak). Hadde disse tallene faktisk vært reelle ville det vist en veldig spennende utvikling.

Det vil også alltid være en viss klassifikasjonsfeil/tolkningsfeil i slike deskriptive studier der ulike personer gjerne ville scoret noe ulikt, men hvor mye vekt man skal legge på denne typen feil er vanskelig å si noe om. Det er tydelig at det er mange faktorer som spiller inn på utviklingen av denne sykdommen og selv om det kanskje ikke er så aktuelt i denne studien så vil både konfundering og interaksjon være viktige faktorer å være bevisst på i videre forskning.

Det er vanskelig å si noe konkret om gyldigheten utenfor studiepopulasjonen. Populasjonen utgjøres av en liten gruppe fisk studert innenfor et avgrenset tidsrom. Hvor god kontroll de ulike anleggene har med vannkvalitet, hvilken opprinnelig vannkilde som brukes, hva man fører med og ellers andre driftsfaktorer som kan påvirke sykdommen er trolig nokså varierende. Det hadde vært interessant å kjøre en større studie med flere anlegg, både med og uten kjente problemer med nefrokalsinose for å se enda nærmere på utviklingen av sykdommen. Man kunne også gjort undersøkelser på vannkvalitet og andre faktorer som påvirker sykdommen, og fulgt fisken til sjø for å undersøke forskjeller i dødelig etter sjøsett-Samtidig kunne man kartlagt hvor stort omfang nefrokalsinose har i landet i et epidemiologisk studie.

Konklusjon

Den histopatologiske scoringen vår viser en grad av samsvar med den makroskopiske scoringen, men vi har oppdaget enkelte utfordringer rundt den histologiske scoren, muligens også med representativitet ved prøveuttaket, og dette gjelder spesielt for de tilfeller hvor forandringene er fokale. Blant annet ser vi at den vektete scoren ikke presenterer seg så ulikt til den kategoriserte scoren. Da kan man stille seg spørsmål om det å vekte scoringen faktisk utgjør en forskjell eller ikke.

Målet med scoringsmodellen var jo at den skulle være en hjelp til å detektere forandringer i utvikling av sykdommen tidlig slik at man kunne sette inn tiltak. Det begrenser seg hvor mye vi kan si om hvor scoren fungerer basert på det forholdvis lille forsøket vi har gjort, som også har gått over ganske kort tid. Det har heller ikke vært helt de store endringene og det er ikke godt å si om den vektete scoren kan være med å predikere endring tidligere enn den kategoriserte scoren dersom det er større utviklingsendringer i gjære. Men man kan spørre seg om det skulle vært gjort endringer på selve score, kanskje man f. eks skulle vektet annerledes.

Jeg tror at de ulike typene utfellinger kan si oss mye om nefrokalsinose. Dersom man kan finne ut om ulike typer utfellinger er knyttet til ulike produksjonsfaktorer kan man gi mye bedre råd til oppdrettere om håndtering og forebygging av sykdommen.

Videre i arbeidet med nefrokalsinose tror jeg det er viktig å få utviklet en bedre, ikke-dødelige metode for å stille diagnosen tidlig. Jeg tror også det er viktig å få ordentlig kartlagt både omfanget av nefrokalsinose og hvilke faktorer som er med å bidra til utvikling av sykdommen. Dersom vi skal kunne gi gode, velbegrunnede råd til oppdrettere må vi ha god kontroll på hva som påvirker utviklingen av nefrokalsinose, samt hvordan vi kan forebygge og/eller behandle det. Vi trenger mer forskning, enkelt og greit.

Takk til bidragsytere

Jeg vil gjerne takke mine to veiledere Øystein Evensen og Alf Seljenes Dalum. Jeg vil også takk Pharmaq Analytiq for hjelp til analyser og histologisk vurdering. Jeg vil takk Asgeir Østvik for god hjelp med uttak og makroskopisk scoring. Til sist, men ikke minst vil jeg takke Morten K. Moe ved Ahus for hans gode hjelp med analyser av utfellingene.

Summary

In this study we have looked at the comparison between macroscopic score and our own histopathologic score-model. Even though the macroscopic and histologic score follow each other quite well, we have seen several challenges with our score-model. Some of the challenges could be linked to representativeness in our sampling of fish, how the different histopathologic changes are weighted and the resolution in the macroscopic evaluation. We have also seen that our weighted score does not give too different results from a more categorized score.

There has been done an analysis of the calculus that are produced in the fish kidney during nephrocalcinosis, and found that it is not just morphologic differences between the calculi, but also differences concerning their content. We found most of two different variants of one of the phosphate minerals, called Dahlitt. We also found three other types of material, whereas two of them were only found in rainbow trout.

This study has clearly shown that there is room for improvement when it comes to diagnosing nephrocalcinosis, both the histopathologic golden standard that we use to this date, but also development of better, non-lethal methods for the future. We also have a way to go when it comes to the epidemiologic mapping of the disease, and development of good advice concerning prevention to fish-breeders.

Tittel: Forekomst av nefrokalsinose hos atlantisk laks (*Salmo salar* L) og regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*); et klinisk studie

Forfatter: Hanne Marie Thomsen

Veiledere: Øystein Evensen (Institutt for basalfag og akvamedisin), Alf Seljenes Dalum
(Pharmaq Analytiq)

Referanser

1. HW F. Systemic pathology of fish; a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Scotion Press. 2006(2nd edition):101.
2. Hicks BD, Hilton, J.W & Ferguson, H.W. Influence of dietary selenium on the occurrence of nephrocalcinosis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of fish biology. 1984;7:379-89.
3. Veterinærinstituttet. Fiskehelse rapporten 2018. 2018:24,5.
4. Sveinung Fivelstad ABO, Torbjørn Åsgård, Grete Bæverfjord, Tim Rasmussen, Tore Vindheim, Sigurd Stefansson. Long-term sublethal effects of carbon dioxide on Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.): ion regulation, haematology, element composition, nephrocalcinosis and growth parameters. ScienceDirect. 10.01.2003;215(1-4):301-19.
5. Sveinung Fivelstad CDH, Reidunn Aathe Medhus, Anne Berit Olsen, Kristin Kvamme. Growth and nephrocalcinosis for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolt exposed to elevated carbon dioxide partial pressures. ScienceDirect. 01.01.2018;482:83-9.
6. Gillespie DC ER. Composition of granules from kidneys of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with nephrocalcinosis. J Fish Res Board Can. 1979(36):683-5.
7. Harrison JG RR. The pathology and histopathology of nephrocalcinosis in rainbow trout *Salmo gairdneri* in fresh water. Journal of fish diseases. 1979(2):1-12.
8. Bancroft JDG, M. Theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone/Elsevier 2008(6. ed Philadelphia).
9. Lovdata. Akvakulturdriftsforskriften. 01.01.2011.
10. RJ R. Fish Pathology. 2012(4th ed).

Vedlegg

Utskrift av databasen

Her legges ved skjemaer for makro-score, samt skjema for histopatologisk score for samtlige uttak på begge lokaliteter.

FOLLAFOSS

	U25/U27	16.01.2019 Follafooss
	Nyre	anmerkning
1	0	
2	0	
3	0	
4	0	
5	0	
6	0	sår
7	0	
8	0	
9	3	
10	0	10: ødem hud, ascites, bløtvevs fork. øye
11	0	Svullen nyre
12	1 ?	
13	0	
14	0	
15	0	
16	0	
17	0	Risttap
18	0	
19	1	Bløtvevs fork. øye, ascites, svullen nyre
20	1	— " —

Prosjekt nyreforkalkning, SalMar settefisk AS + Pharmaq Analytiq AS

Anlegg: Folla foss Kar nr: UZS/17 Dato: 11.03.2019

Fisk nr.	Vekt	Lengde	Speilberg skår	Lok.	Melanin organer	Melanin bukvegg	Nyre-skår	An-merkn.
1	128	22,5	1,5	3	1	1	3	FR0 + asites
2	147	23,5	2	2/3	2	1	3	FR0 + asites
3	204	25,5	1	3	0	1	3	FR0 + asites
4	119	21,5	1,5	3	1	1	0	BU2
5	129	23,0	2,0	3	1	2	2	FR0
6	141	23,0	1,5	3	1	1	2-3	FR0 asites
7	134	22,0	2,5	3	1	0	0	UA
8	100	20,5	1,5	3	1	1	1	UA
9	134	22,5	1	3	0	0	2	Pakkelnyss
10	125	22,0	3	3	1	1	2	BR2
11	93	19,5	1,5	3	1	1	0	UA
12	107	21,0	1,5	3	1	1	2	FR0
13	70	18,0	1,5	3	1	0	0	BU2 BR2
14	97	21,5	1,5	3	1	1	0	RI BR2
15	51	17,0	1,0	3	1	0	0	
16	52	16,5	1,0	3	1	0	0	RI
17	62	17,5	1,0	3	0	0	0	BR2 Utnærlig BU1
18	79	19,0	1,5	3	1	1	0	BU2
19	73	19,5	1,0	3	1	0	0	BR3 Hale fjernstøtasje
20	66	18,0	2,0	3	1	1	0	BU3

FR0
Forkalkning under
øst

~~21 89 20,0~~
~~22 105 20,5~~
23 102 20
24 200 25,5
25 134 23,5

~~103 20,5~~

Prosjekt nyreforkalkning, SalMar settefisk AS + Pharmaq Analytiq AS

Anlegg:

Follafos

Kar nr:

LR25/27

Dato:

11.02.2019

Fisk nr.	Vekt	Lengde	Speilberg skår	Lok.	Melanin organer	Melanin bukvegg	Nyre-skår	An-merkn.
1	122		1.5	3	0	1	2	Generelt Bui 1-2 med gult belegg
2	106		1.5	3	0	0	0	4
3	91		1	3	1	0	0	4
4	109		1.5	3	1	0	1	4
5	89		1	3	0	1	0	4
6	108		1.5	3	0	0	0	4
7	89		1.5	3	0	1	0	4
8	138		1	3	0	0	0	6
9	81		1.5	3	1	0	0	4
10	108		2	23	1	1	0	4
11	106		1.5	3	1	0	2	4
12	130		1.5	3	1	1	0	4
13	92		1.5	3	1	0	0	4
14	93		1.5	3	0	0	0	4
15	96		2	3	1	0	0	4
16	114		1.5	3	0	1	2	4
17	75		1.5	3	0	0	0	4
18	74		1.5	3	1	1	0	4
19	64		1	3	0	0	0	4
20	109		2	3	1	1	0	4

- 78-0 -66-0 - 5 svimere w/ sæi hale + f
 - 81-N1 -84-0
 - 62-0 -78-0
 - 59-0
 - 66-0
 ↘ 1x N1
 1x N2

u

SÆTRAN

	Kon	58	23.01.2019				Nytre	Ann.
	VEKT	LENGDE	Speilbergshår	Loke.	Met. sky			
1	126	22	2.5	3	0-0	0	Grav.	
2	128	22	2	3	0-0	0		
3	146	22	2.5	3	0-0	1		
4	126	21	2.5	3	0-0	0		
5	114	20.5	2	3	0-0	0		
6	90	19.5	1	3	0-0	0		
7	138	22	2.5	1+3	0-0	0		
8	118	20.5	2	3	0-0	0	"Noc i huden"	
9	140	21.5	2	3	0-0	0		
10	82	18.5	1.5	23	0-0	3	trudt hode	
11	144	22	2	3	0-0	1	vekkene	
12	118	22	1.5	3	0-0	0		
13	122	20.5	2.5	3	0-0	1-2=0	lartilen komme foran til gode	
14	110	20.5	2	3	0-0	0		
15	116	22.5	1.5	3	0-0	0	mager	
16	136	22.5	2.5	13	0-0	0		
17	100	20.5	1.5	3	0-0	0		
18	140	22.5	1.5	3	0-0	0		
19	120	22	1.5	3	0-0	0		
20	112	20.5	2	3	0-0	0		
21	70	15.5	1.5	3	0-0	0	puddelmyg	

119g
 K=1,29
 1,93
 2/21=1
 Nyreskåp:
 27/1
 1x3

Prosjekt nyreforkalkning, SalMar settefisk AS + Pharmaq Analytiq AS

Anlegg:

Setran

Kar nr:

58

Dato:

19.03.2019

Fisk nr.	Vekt	Lengde	Speilberg skår	Lok.	Melanin organer	Melanin bukvegg	Nyre-skår	An-merkn.
1	118	22.5	2	3	0	0	0	
2	152	23	1.5	3	0	0	0	1
3	90	20	1.5	3	0	0	0	
4	118	22.5	3	3	0	0	0	
5	124	22.5	1.5	3	1	0	0	
6	132	22.5	2	3	0	0	0	
7	104	21	2	3	0	0	0	
8	90	20.5	2.5	3	0	0	0	
9	110	21.5	2	1+2+3	1	0	0	
10	118	22.5	1	3	0	0	0	
11	74	18.5	2	3	0	0	0	Pukkelygg
12	162	23.5	2	3	1	0	1	
13	122	22	2	3	0	1	0	
14	142	22.5	2.5	3	0	0	0	
15	118	21.5	2	3	0	0	0	
16	62	19	1	3	0	0	0	
17	128	22	1.5	3	0	0	0	
18	116	21.5	2	3	0	0	0	
19	128	22	3	3	0	0	0	
20	108	21	2	3	1	1	1	

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Prosjekt nyreforkalkning, SalMar settefisk AS + Pharmaq Analytic AS									
2	Anlegg:		Setran		Kar nr:	58	Dato:	10.04.19		
3										
4	Fisk nr.	Vekt	Lengde	Speilberg skår	Lok.	Melanin organer	Melanin bukvegg	Nyre-skår	An-merkn.	
5	1	122	22,5	2	3	1	0	0		
6	2	174	23,5	2	3	0	0	0		
7	3	98	20,5	1,5	3	0	0	0		
8	4	164	24	2	3	0	0	0		
9	5	122	22	1,5	3	0	0	0		
10	6	174	24,5	2	3	0	0	0		
11	7	154	23,5	2,5	3	1	0	0		
12	8	114	21,5	1,5	3	0	0	0		
13	9	136	23	2	2,3	0	0	0		
14	10	156	23	2	2,3	0	0	0		
15	11	108	22	1,5	3	0	0	0		
16	12	164	24	1,5	2,3	0	0	0		
17	13	100	20	1	3	0	0	0		
18	14	182	24	2,5	3	1	0	2		
19	15	96	20,5	2	3	0	0	0		
20	16	134	21,5	1,5	3	1	0	0		
21	17	144	22,5	1,5	2	1	0	0		
22	18	116	21,5	3	1,3	0	0	0		
23	19	154	23,5	2	3	0	0	0	forsnevring svømmeblære	
24	20	100	20,5	2	3	0	0	0		
25		135,6	22,4	1,88						
26		1,2065								
27										

Prosjekt nyreforkalkning, SalMar settefisk AS + Pharmaq Analytiq AS

Anlegg:

Setran

Kar nr:

58

Dato:

21.02.2019

Fisk nr.	Vekt	Lengde	Speilberg skår	Lok.	Melanin organer	Melanin bukvegg	Nyre-skår	Anmerkn.
1	120	21	1	3	0	0	0	tydelig urinleder
2	104	20,5	2	3	0	0	0	
3	156	23	1,5	3	1	0	2	
4	146	24	1,5	3	0	1	0	tydelig urinleder
5	174	24	3	3	0	1	2	
6	110	21	2	3	0	0	0	tydelig urinleder
7	130	22	1	3	0	0	0	tydelig urinleder
8	100	19,5			0	0	0	tydelig urinleder
9	100	20	1,5	3	0	0	2	
10	166	23,5	1,5	3	0	0	0	
11	98	20,5	2	3	0	0	0	tydelig urinleder
12	112	21,5			0	0	0	
13	102	19	2	3	0	0	1	skoliose, uttalt
14	106	20,5	2	3	0	0	3	
15	84	19	2	3	0	0	0	tydelig urinleder
16	116	21,5	2	3	1	1	0	
17	66	17,5	1,5	3	0	0	0	
18	92	19,5	2,5	3	0	0	0	
19	96	20,5	1,5	3	0	0	0	tydelig urinleder
20	90	20	1	3	0	0	0	
	113,4	20,9	1,75		0,1	0,15	0,5	

Forekomst av nefrokalsinose
Hanne Marie Thomsen

MIDTYRE													BÅKNYRE								
1	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
2	Merkning	IDEXX	Score kategori 1	Score kategori 2	Score kategori 3	Score kategori 4	Flat score	Veitset score	Score kategori 1	Score kategori 2	Score kategori 3	Score kategori 4	Flat score	Veitset score	Score	Beskrivelse					
3	PAID 260219-4 F1	1005379745	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
4	PAID 260219-4 F2	1005379746	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
5	PAID 260219-4 F3	1005379747	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
6	PAID 260219-4 F4	1005379748	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
7	PAID 260219-4 F5	1005379749	1	1	0	0	2	3	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
8	PAID 260219-4 F6	1005379750	1	1	0	0	2	3	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
9	PAID 260219-4 F7	1005379751	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
10	PAID 260219-4 F8	1005379752	1	1	0	0	2	3	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
11	PAID 260219-4 F9	1005379753	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
12	PAID 260219-4 F10	1005379754	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
13	PAID 260219-4 F11	1005379755	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
14	PAID 260219-4 F12	1005379756	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
15	PAID 260219-4 F13	1005379757	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
16	PAID 260219-4 F14	1005379758	1	1	0	0	2	3	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0			
17	PAID 260219-4 F15	1005379759	2	1	0	0	3	4	1	1	0	0	2	3	4	3	3	0			
18	PAID 260219-4 F16	1005379760	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
19	PAID 260219-4 F17	1005379761	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
20	PAID 260219-4 F18	1005379762	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
21	PAID 260219-4 F19	1005379763	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
22	PAID 260219-4 F20	1005379764	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0			
23									Gl.snitt:											2,1	
24									Stdevs:											3,7	
25																					2,6477399
26	Generell kommentar til fisken: synes det er en del fisk med fl. påkjente tubuli/utførsels ganger selv om det ikke er så mange tubuli som er affiserte.																				
27																					
28																					
29																					
30																					
31																					
32																					
33																					
34																					
35																					
36																					
37																					
38																					
39																					
40																					
41																					
42																					
43																					
44																					

	Score kategori 1: Utførelser - vektet med faktor på 1	Score kategori 2: Epitel i tubuli og utførsels ganger (degenerasjon og/eller nekroses) - vektet med faktor på 2	Score kategori 3: Forandringer i glomeruli - vektet med faktor på 3	Score kategori 4: Forandringer i hematopoietisk vev - vektet med faktor på 4
Grad 1	Sparssomme mengder i samler og utførsels ganger - nær fraser i tubuli og påbunker mindre enn 10% av utførsels ganger	Påbunker mindre enn 10% av utførsels ganger	Distorsjon av det glomerulære rom (surtegningslinjer), forandringer i mindre enn 10% av glomeruli	Påbunker mindre enn 10% av hematopoietisk vev
Grad 2	Moderate mengder i samler og utførsels ganger - sparssomme mengder i tubuli og påbunker mellom 10% og 50% av utførsels ganger	Påbunker mellom 10% og 50% av utførsels ganger	Pan-glomerulær fibrose/fortykkelse Bowman kapsel - forandringer i mellom 10% og 50% av glomeruli	Påbunker mellom 10% og 50% av hematopoietisk vev
Grad 3	Definerende mengder i samler, utførsels ganger og tubuli i mer enn 50% av utførsels ganger	Påbunker mer enn 50% av utførsels ganger	Tap av struktur - forandringer i over 50% av glomeruli	Påbunker mer enn 50% av hematopoietisk vev

MIDTYRE													BÅKNYRE								
1	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
2	Merkning	IDEXX	Score kategori 1	Score kategori 2	Score kategori 3	Score kategori 4	Flat score	Veitset score	Score kategori 1	Score kategori 2	Score kategori 3	Score kategori 4	Flat score	Veitset score	Score	MAKRO					
3	PAID250319-2 F1	1005448348	1	1	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
4	PAID250319-2 F2	1005448349	1	1	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
5	PAID250319-2 F3	1005448350	1	1	0	0	2	3	1	1	0	0	2	3	0	0	0	0			
6	PAID250319-2 F4	1005448351	1	1	0	0	2	3	1	0	0	0	2	3	0	0	0	0			
7	PAID250319-2 F5	1005448352	1	1	0	0	3	7	1	1	1	0	3	7	0	0	0	0			
8	PAID250319-2 F6	1005448353	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
9	PAID250319-2 F7	1005448354	1	1	1	1	4	10	1	1	1	1	4	10	0	0	0	0			
10	PAID250319-2 F8	1005448355	1	1	0	0	2	3	1	1	0	0	3	7	0	0	0	0			
11	PAID250319-2 F9	1005448356	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
12	PAID250319-2 F10	1005448357	1	1	0	0	1	3	1	1	0	0	3	7	0	0	0	0			
13	PAID250319-2 F11	1005448358	2	2	1	1	6	13	2	2	1	1	6	13	0	0	0	0			
14	PAID250319-2 F12	1005448359	1	1	0	0	1	3	1	0	0	0	1	3	0	0	0	0			
15	PAID250319-2 F13	1005448360	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
16	PAID250319-2 F14	1005448361	1	1	0	0	1	3	1	1	0	0	1	3	0	0	0	0			
17	PAID250319-2 F15	1005448362	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
18	PAID250319-2 F16	1005448363	1	1	0	0	2	3	1	1	0	0	2	3	0	0	0	0			
19	PAID250319-2 F17	1005448364	1	1	0	0	1	3	1	1	0	0	1	3	0	0	0	0			
20	PAID250319-2 F18	1005448365	1	1	0	0	2	3	1	1	0	0	2	3	0	0	0	0			
21	PAID250319-2 F19	1005448366	1	1	0	0	2	3	1	1	0	0	2	3	0	0	0	0			
22	PAID250319-2 F20	1005448367	1	1	0	0	1	3	1	1	0	0	1	3	0	0	0	0			
23									Gl.snitt:												4,1
24									Stdevs:												4,4
25	Uttaksdato:	19.03.19																			
26																					
27																					
28																					
29																					
30																					
31																					
32																					
33																					
34																					
35																					
36																					
37																					
38																					
39																					
40																					
41																					
42																					
43																					
44																					

	Score kategori 1: Utførelser - vektet med faktor på 1	Score kategori 2: Epitel i tubuli og utførsels ganger (degenerasjon og/eller nekroses) - vektet med faktor på 2	Score kategori 3: Forandringer i glomeruli - vektet med faktor på 3	Score kategori 4: Forandringer i hematopoietisk vev - vektet med faktor på 4
Grad 1	Sparssomme mengder i samler og utførsels ganger - nær fraser i tubuli og påbunker mindre enn 10% av utførsels ganger	Påbunker mindre enn 10% av utførsels ganger	Distorsjon av det glomerulære rom (surtegningslinjer), forandringer i mindre enn 10% av glomeruli	Påbunker mindre enn 10% av hematopoietisk vev
Grad 2	Moderate mengder i samler og utførsels ganger - sparssomme mengder i tubuli og påbunker mellom 10% og 50% av utførsels ganger	Påbunker mellom 10% og 50% av utførsels ganger	Pan-glomerulær fibrose/fortykkelse Bowman kapsel - forandringer i mellom 10% og 50% av glomeruli	Påbunker mellom 10% og 50% av hematopoietisk vev
Grad 3	Definerende mengder i samler, utførsels ganger og tubuli i mer enn 50% av utførsels ganger	Påbunker mer enn 50% av utførsels ganger	Tap av struktur - forandringer i over 50% av glomeruli	Påbunker mer enn 50% av hematopoietisk vev

MIDTYRE													BÅKNYRE						
1	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J									



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no