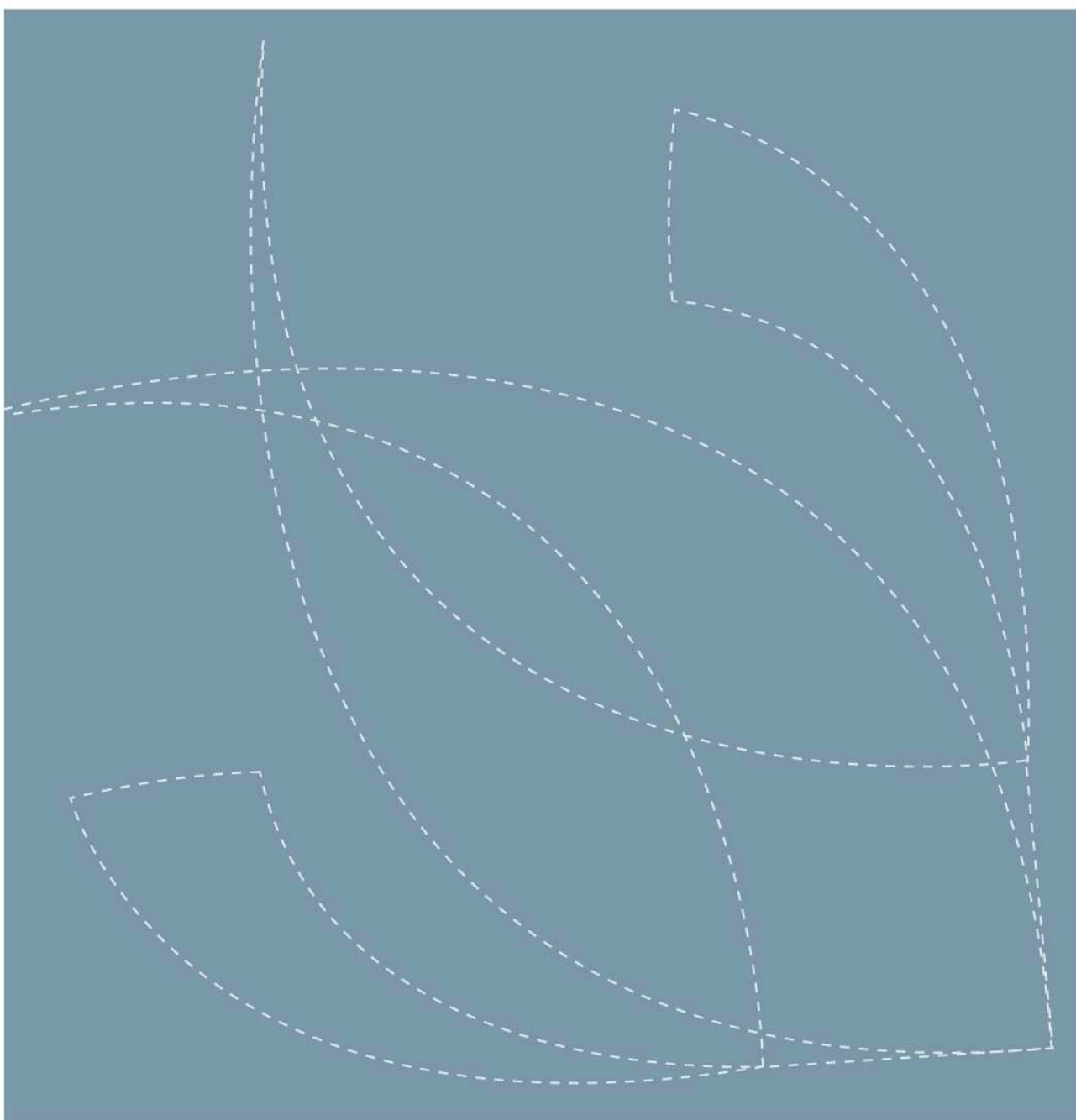


Analyse av sykdomsrelatert risiko forbundet med bruk av villfanget og oppdrettet rensefisk for kontroll av lakselus

Lill-Heidi Johansen, Duncan Colquhoun*, Haakon Hansen*, Sindre Hildre*
(*Veterinærinstituttet), Heidrun Wergeland (Universitetet i Bergen) og Heidi E. Mikalsen





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

Nofima har om lag 350 ansatte.

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

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

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

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5844 Bergen

Sunndalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140

E-post: post@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA

Rapport

	ISBN: 978-82-8296-361-9 (trykt) ISBN: 978-82-8296-362-6 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Tittel:</i> Analyse av sykdomsrelatert risiko forbundet med bruk av villfanget og oppdrettet rensefisk for kontroll av lakselus	<i>Rapportnr.:</i> 9/2016
	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Lill-Heidi Johansen, Duncan Colquhoun*, Haakon Hansen*, Sindre Hildre* (*Veterinærinstituttet), Heidrun Wergeland (Universitetet i Bergen) og Heidi E. Mikalsen	<i>Dato:</i> 19. februar 2016
<i>Avdeling:</i> Fiskehelse	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 51
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF)	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF # 901120
<i>Stikkord:</i> Rensefisk, Patogener rensefisk, Sykdommer rensefisk, Risikoanalyse rensefisk	<i>Prosjektnr.:</i> 11364
<i>Oppsummering:</i> Se side 1-4 for sammendrag på norsk og engelsk.	

Innhold

1	Sammendrag	1
1.1	Sammendrag.....	1
1.2	Summary in English	3
2	Bakgrunn	6
3	Målsetting med prosjektet	7
4	Patogener i rensefisk	9
4.1	Bakterier	9
4.1.1	Bakteriesykdommer hos vill rensefisk.....	9
4.1.2	Bakteriesykdommer hos rensefisk i oppdrett	9
4.1.3	Gjennomgang av de viktigste bakteriepatogenene som er kjent fra rensefiskoppdrett .	10
4.1.4	Smitterisikovurdering bakterier	13
4.2	Parasitter	17
4.2.1	Parasitter hos rensefisk	19
4.2.2	Smitterisikovurdering for parasitter.....	22
4.3	Virus.....	23
4.3.1	Oversikt virus og rensefisk.....	24
4.3.2	Smitterisikovurdering virus	25
4.3.3	Risiko i forhold til virusenes evne til verts-adapting	26
5	Vaksinasjon – status og fremtidig utvikling	28
5.1	Utvikling av vaksiner til rensefisk	28
5.2	Vaksiner som benyttes til rensefisk.....	28
5.3	Når kan fisken vaksineres?	29
5.4	Vaksinasjon av villfanget leppefisk.....	30
5.5	Hvor lang tid etter vaksinasjon kan en levere fisken.....	30
5.6	Andre faktorer som kan virke inn på effekten av vaksinen.....	30
5.7	Risikofaktorer for at fisken smittes før den settes i sjø med laks	31
5.8	Risikofaktorer for at vaksinen ikke virker	31
5.9	Hvorfor dør vaksinert fisk?	31
5.10	Vaksinasjon av villfanget fisk	32
5.11	Begrensinger for vaksineutvikling	32
6	Biosikkerhet	33
6.1	Flytting av rensefisk mellom regioner	33
6.2	Risiko forbundet med bruk av villfanget kontra oppdrettet rensefisk.....	33
6.3	Smitte til ville bestander.....	33
6.4	Gjenbruk av rensefisk på samme eventuelt annen lokalitet.....	35
6.5	Smitte gjennom predasjon	36
6.6	Screeningmetodikk - muligheter og begrensninger	36
6.7	Det vil alltid være risiko for smittespredning ved transport/utsetting av fisk med ukjent helsestatus. Rensefisken kan være bærer uten selv å bli syk, eller den kan være bærer eller ha infeksjon med patogener som også er sykdomsfremkallende hos frisk og/eller svekket laksefisk. Dette er vanskelig å kartlegge ved screening av villfanget rensefisk, da bare utvalg av patogener kan undersøkes, og disse er nødvendigvis ikke representative for annen fisk hverken fra samme område eller ulike områder som er geografisk nær. Økt	

kunnskap om mottakelighet og mulighet for overføring av patogener mellom arter er nødvendig og kan fremskaffes gjennom eksperimentelle forsøk. En bedre kartlegging av patogener/ smittestatus hos villfisk brukt som rensefisk langs hele kysten av Norge er også nødvendig. Smitterisiko fra villfanget kontra oppdrettet stamfisk..... 37

7	Redusere risiko for smittespredning og sykdom - hva er praksis ved bruk av rensefisk i dag?	38
7.1	Undersøkelse hos lakseprodusenter	38
7.2	Undersøkelse hos Mattilsynet.....	42
8	Forslag til felles tiltak for næringen for å redusere smitterisiko forbundet med bruk av rensefisk	44
8.1	Tiltak av generell karakter	44
8.2	Reduksjon av risiko - villfanget kontra oppdrettet rensefisk	44
8.3	Bruk av innfanget kontra oppdrettet stamfisk.....	45
8.4	Risiko for smitte fra rensefisk til ville bestander	45
8.5	Gjenbruk av rensefisk på samme eller annen lokalitet	45
8.6	Smitterisiko i forbindelse med uttak av rensefisk fra merd (ved behandling, sanering, slakting og flytting av laks)	46
8.7	Screening som verktøy for å redusere risiko?	46
8.8	Kan bruk av rensefisk bidra til risiko for pålegg om nedslakting av laks?	47
8.9	Risiko forbundet med bruk av påvekstanlegg for rensefisk	47
8.10	Sporbarhet.....	47
9	Referanser	49

1 Sammendrag

1.1 Sammendrag

Rensefisk brukes i økende grad av laksefiskoppdrettere som ett av flere verktøy for å kontrollere lakselus. I 2014 ble det benyttet ca. 24 millioner villfanget rensefisk og ca. 4 millioner oppdrettet rensefisk i Norge (Fiskeridirektoratet 2015). Det forventes en stor økning i produksjon og bruk av oppdrettet rensefisk, spesielt rognkjeks, i årene som kommer. Målsettingen med prosjektet er å foreta en analyse av risiko for smitte og sykdom forbundet med bruk av både villfanget og oppdrettet rensefisk for kontroll av lakselus. Det skal også utarbeides forslag til og vurdering av mulige tiltak for å redusere smitterisiko, både for laksefisk og rensefisk.

I denne rapporten oppsummeres den kunnskap som finnes om patogener som kan forårsake sykdom hos arter som benyttes som rensefisk og/eller hos laksefisk, og patogener som har potensiale for spredning fra rensefisk til laksefisk og *vice versa*. Videre inneholder rapporten en vurdering av faktorer som kan ha betydning for smitterisiko. Rapporten baserer seg på:

- Nyere forskning utført ved Veterinærinstituttet, Universitetet i Bergen og Nofima og diagnostiske erfaringer, kunnskap og statistikk fra Veterinærinstituttet.
- Gjennomgang av tilgjengelig litteratur, internasjonal og nasjonal, både rapporter og publiserte vitenskapelige arbeider.
- Informasjon fra næringsrepresentanter, fiskehelsetjenester og Mattilsynet.
- Innspill fra næringsaktører i dialogmøtet for FHF's rensefiskprosjekter i Trondheim, november 2015: Workshop om tiltak som kan inngå i en plan for oppdrettsnæringen for å redusere smitterisiko forbundet med bruk av rensefisk.

Det er mangelfull kunnskap om infeksjonsstatus og sykdom hos villfisk som benyttes som rensefisk. Dette medfører blant annet at følgene av eventuell smitteoverføring fra rensefisk til laksefisk og annen villfisk i stor grad er ukjent. Arter benyttet som rensefisk kan bære på hittil ukjente patogener og en samlokalisering av ulike arter over tid vil øke risikoen for overføring og eventuell adaptering av nye patogener. I og med at oppdrett og bruk av rensefisk er en forholdsvis ung næring, kan det forventes at flere nye sykdommer og patogener vil bli identifisert i fremtiden. På bakgrunn av disse momentene vil *føre var prinsippet* måtte gjelde i arbeidet med å redusere smitterisiko. Både under produksjon av rensefisk og i laksemerdene pågår imidlertid en omfattende diagnostisk gransking av sykdom, og nye patogener er blitt identifisert de siste årene. Selv om kunnskapen fortsatt er mangelfull, finnes det etterhvert også noe informasjon om mottagelighet for sykdom hos rensefisk og virulens hos enkelte patogener.

Et økende antall forskjellige bakterier har blitt anerkjent som patogener hos rensefisk. Noen varianter av de sykdomsassosierte bakteriene som nylig har blitt identifisert fra rensefisk er ikke kjent i Norge fra før, e.g. *Pseudomonas anguilliseptica* og en enda ikke navngitt *Pasteurella* sp. Det anses at det er en vesentlig risiko for at smitte av *Vibrio anguillarum* O1 og O2a kan forekomme fra rensefisk til laks, men vaksiner vil mest sannsynlig beskytte laksen mot sykdomsutbrudd. Det er en vesentlig risiko for smitte av atypisk *Aeromonas salmonicida* til vill leppefisk og rognkjeks, men betydningen av dette er ukjent. Nyere utbrudd av sykdom forårsaket av *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* (furunkulose bakterien) i rognkjeks merdsatt sammen med laks indikerer at rognkjeks,

hvert fall i områder med høyt smittepress fra infisert vill-laks, kan utgjøre en betydelig smitterisiko for oppdrettslaks. Selv om den eksponerte oppdrettslaksen foreløpig ikke viser noen tegn til furunkulose, vet vi ikke hvilken effekt en lengre eksponering kan ha på vaksinebeskyttelsen.

Et stort antall parasittarter er påvist hos rensefisk, men kun noen få av disse, e.g. *Paramoeba perurans*, *Nucleospora cyclopteri* og nematoder (flere arter) antas å være viktige i et smitterisikoperspektiv, da disse kan overføres fra rensefisk til laks. *P. perurans* som forårsaker AGD anses som den viktigste å ta hensyn til når det gjelder vurdering av smitterisiko ved bruk av rensefisk, og den kan også forårsake sykdom hos rensefisken selv. Villfanget rensefisk vil kunne være infisert og kunne smitte laks og den vil potensielt også kunne smitte ville bestander. Villfisk som skal brukes som rensefisk bør screenes for *P. perurans* før flytting, og flytting må særskilt unngås til områder som er AGD frie. Det finnes ikke en offentlig tilgjengelig oversikt over utbredelsen til *P. perurans*/AGD siden sykdommen/agenset ikke er meldepliktig.

Antallet undersøkte fisk har vært begrenset og det er derfor store kunnskapshull knyttet til forekomst av virusinfeksjoner og virussykdommer i rensefisk. Per i dag er det ikke påvist virale agens i rensefisk som gir listeført sykdom hos laks. Nylige påvisninger av VHSV i både leppefisk og rognkjeks i henholdsvis Skottland og Island gjør at en må være oppmerksom i forhold til risiko for spredning av dette viruset fra rensefisk til regnbueørret spesielt. Det er også potensiale for spredning av dette viruset fra rensefisk til vill leppefisk og rognkjeks. VHSV er et eksotisk og listeført agens i Norge og det er ønskelig å fortsatt holde norsk oppdrettsfisk fri for dette viruset for å kunne beholde fri-status for VHS.

Blant alle tiltak for å hindre infeksjonssykdommer regnes vaksinasjon som et av de viktigste enkelttiltak. Det er utviklet en stikkvaksine til leppefisk og både dypp og stikkvaksine benyttes til rognkjeks. Nye vaksiner er under utprøving og foreløpige studier tilsier at grunnlaget for å få gode vaksiner til rensefisk er tilstede. Økt kompetanse om immunologien hos rensefisk samt patogener hos rensefisk og mottageligheten deres for ulike sykdommer er også viktig for vaksineutviklingen.

Foreslåtte tiltak for å redusere smitterisiko ved bruk av rensefisk

- Det viktigste tiltaket for å redusere risiko for sykdom og smittespredning er å gå over til å bruke kun oppdrettet, vaksinert rensefisk. Det må være et mål å kunne oppnå dette i løpet av en 3-5 års periode. Dette innebærer også bruk av oppdrettet stamfisk: det bør arbeides aktivt for å kunne innføre bruken av smittefrie, domestiserte stamfiskpopulasjoner i løpet av få år.
- Det bør iverksettes tiltak for mer effektivt å hindre rømming, og en bør ut fra et smitterisikoperspektiv ikke slippe ut rensefisk etter bruk.
- Det anbefales ikke gjenbruk av rensefisk på annen lokalitet, da dette både kan spre uoppdagede sykdommer (rensefisk som mekanisk vektor) og øke risikoen for introduksjon av nye agens/sykdommer. Om gjenbruk skal praktiseres på samme lokalitet må helsestatus være god, man må gjennomføre screening for kjente patogener og ha karantenetid for å øke mulighetene for påvisning av eventuelle patogener. All gjenbruk må gjøres i henhold til gjeldende regelverk og i samråd med Mattilsynet og fiskehelsetjenestene. I forhold til karantenetid må gjeldende regelverk for hold av rensefisk i merd vurderes.
- Vi anbefaler å innføre felles retningslinjer for uttak av rensefisk fra merd i forbindelse med operasjoner som for eksempel behandling, sanering, slakting eller flytting av laksefisk. Rensefisk som rømmer i forbindelse med tømning av merd og rensefisk som står igjen fordi en ikke får

fisket ut alt utgjør en smitterisiko. Erfaringer rundt dette bør samles og det bør utarbeides en felles bransjestandard.

- Det er forbedringspotensialer når det gjelder helseattestasjonen som utføres på rensefisk i forhold til å redusere smitterisiko. Screening ved bruk av PCR-metoder er sensitive og bør benyttes i større grad. En vil imidlertid bare kunne identifisere kjente patogener med disse metodene. Spesielt bør det screenes for *P. perurans* for å hindre utbredelse til usmittede laksepopulasjoner og til AGD frie regioner.
- Karantene i kombinasjon med screening vil øke sjansen for påvisning av kjente patogener, men lovverket er til hinder for bruk av karantene i dag. Ansvarlige myndigheter og brukere av rensefisk må derfor gå sammen for å finne lovmessige og praktiske løsninger på denne utfordringen.
- Ved påvisning av eksotisk listeført agens/sykdom (for eksempel VHSV/VHS) vil nedslakting og sanering være aktuelle tiltak. Det er et behov for en utredning omkring hva som blir konsekvensene for laksefisk ved påvisning av patogener hos rensefisk som regnes som eksotiske.
- Ved sykdomsutbrudd er sporbarhet svært viktig for å kunne begrense og hindre smittespredning. I dag er det vanskelig å spore opphav og distribusjon av rensefisk, egg og larver, noe som er nødvendig for å finne smittetidspunkt. Det er derfor helt nødvendig å innføre gode rutiner både hos produsentene og brukerne av rensefisk for å kunne fremskaffe relevant informasjon.

1.2 Summary in English

Cleaner fish are increasingly being used by salmon farmers as one of several tools for control of salmon lice. In 2014, approximately 24 million wild caught cleaner fish and 4 million farmed cleaner fish were used for this purpose in Norway (Directorate of Fisheries 2015). A large increase in production and use of farmed cleaner fish, particularly lumpfish, is expected in coming years. The aim of the current project was to undertake an analysis of the health risks associated with use of wild and farmed cleaner fish. Following analysis of available information the further aim of the project was to propose measures likely to reduce the risk of infection, both for salmonids and cleaner fish.

This report summarizes available knowledge relating to pathogens known to cause disease specifically in cleaner fish species and in salmonids, as well as pathogens that have the potential to spread from cleaner fish to salmonids and *vice versa*. Furthermore, the report contains an assessment of factors that may affect the risk of infection. The report is based on:

- Recent research conducted at the Norwegian Veterinary Institute, University of Bergen and Nofima and diagnostic experience, knowledge and epidemiological statistics from the Norwegian Veterinary Institute.
- Review of available national and international literature (both reports and published scientific works).
- Information from fish farming representatives, fish health services and the National Food Safety Authority.
- Input from fish farming representatives at the dialogue meeting for Norwegian Research Seafood Fund (FHF) cleaner fish projects in Trondheim, November 2015. Workshop on measures

that could be included in an industry plan to reduce the risk of infection associated with the use of cleaner fish.

There is insufficient knowledge of infection status and disease in wild fish used as cleaner fish. This means that the effects of pathogen transfer from cleaner fish to salmonids and other wild fish are largely unknown. Species used as cleaner fish can be carriers of hitherto unknown pathogens and collocation of different species over time will increase the risk of transmission and possible adaptation of new pathogens. As the farming and use of cleaner fish is a relatively young industry, several new diseases and pathogens are expected to be identified in the future. In light of these factors, the precautionary principle should apply in relation to prevention of pathogen transfer. In cleaner fish, both during production stages and in salmon cages, comprehensive diagnostic investigation of mortality episodes is the norm and new pathogens have been identified in recent years. Although knowledge is still lacking, some information is available on susceptibility to disease in cleaner fish and virulence of some pathogens.

An increasing number of different bacteria have been recognized as pathogens in cleaner fish. Some varieties of disease-associated bacteria that have recently been identified from cleaner fish, were previously unknown in Norway e.g. *Pseudomonas anguilliseptica* and an as yet unnamed *Pasteurella* sp. It is considered that a significant risk exists of transfer of *Vibrio anguillarum* O1 and O2a from cleaner fish to salmon, but vaccines will most likely protect salmon from disease outbreaks. There is a significant risk of transfer of atypical *A. salmonicida* to wild wrasse and wild lumpfish, but the significance of this is unknown. The recent outbreak of disease caused by *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* (the furunculosis bacterium) in lumpfish held in a cage with salmon indicates that lumpfish (at least in areas of high infection pressure from wild salmon) can represent a significant risk of infection of *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* to farmed salmon. Although the exposed farmed salmon population has as yet not shown signs of disease, the effect of prolonged exposure on vaccine protection is unknown.

A large number of parasites have been detected in cleaner fish, but only a few of these, e.g. *Paramoeba perurans*, *Nucleospora cyclopteri* and nematodes (several species) are thought to be important in an inter-species transmission perspective, as these can be transferred from cleaner fish to salmon. *P. perurans*, causing AGD, is considered the most important in terms of risk of infection from cleaner fish to salmon and is also shown to cause disease in cleaner fish. Wild-caught cleaner fish may be infected and may transmit the pathogen to farmed salmon and wild cleaner fish populations. Wild fish intended for use as cleaner fish should be screened for *P. perurans*, and long distance transport must be avoided particularly to areas that are AGD free.

There are large knowledge gaps related to the incidence of viral infections and viral diseases in cleaner fish. At present, no viral pathogens known to cause disease in salmon have been detected in Norwegian cleaner fish. Recent detections of VHSV in both wrasse and lumpfish in Scotland and Iceland do however give rise to concerns regarding the risk of spread of this virus from cleaner fish to rainbow trout. There is also potential for the transfer of VHSV from cleaner fish to wild wrasse and wild lumpfish. VHSV is an exotic and notifiable pathogen in Norway. Maintenance of free status for VHS is highly desirable in Norwegian aquaculture.

Of the various measures related to prevention of infectious disease, vaccination is considered one of the most important. An injectable vaccine has been developed for wrasse, and both dip and injection

vaccines are used for lumpfish. New vaccines are currently being tested and preliminary studies indicate that vaccination is likely to be a successful strategy for control of several diseases in cleaner fish. Increased knowledge of the immunology of cleaner fish, the pathogens of cleaner fish and their susceptibility to various diseases is also important for further vaccine development.

Suggested measures to reduce the risk of infection posed by cleaner fish

- The most important measure for reducing the risk of disease and infection is to use only farmed, vaccinated cleaner fish. The goal must be to achieve this within a 3-5 year period. This also implies the use of farmed brood fish: Intensive efforts should be made towards development and use of pathogen free, domesticated brood stock populations within a few years.
- Action should be taken to more effectively prevent escapes and from an infection perspective, cleaner fish should not be released after use.
- Transport and reuse of cleaner fish on another farm is not recommended, as this can both spread undiscovered diseases (cleaner fish as mechanical vector) and increase the risk of introduction of new agents /diseases. If reuse is to be practiced in the same farm the health status must be good, the fish must be screened for pathogens and quarantined prior to reuse to increase the likelihood of pathogen detection. Any reuse must be done according to legislation and in consultation with the Food Safety Authority and fish health services. The use of quarantine might be hampered by current legislations and these should be evaluated by responsible authorities.
- We recommend the introduction of common guidelines for minimization of escape of cleaner fish, removal of cleaner fish from cages and other procedures as treatment, sanitary measures, slaughter or relocation of salmonids. Such guidelines should be established in cooperation with the industry.
- There is potential for improvement in health attestation performed on cleaner fish in relation to reducing the risk of infection. PCR screening is sensitive and should be used to a greater extent. One will however be able to identify only known pathogens. Specifically, screening for *P. perurans* should be performed to prevent transfer of the pathogen to uninfected salmon populations and to AGD-free regions.
- Upon detection of exotic pathogens/diseases (for example VHSV/VHS), stamping out of the affected cleaner fish population would be an appropriate response. There is, however, a need for the industry and the authorities to decide what would be the appropriate fate for an apparently healthy salmon population co-existing on the same farm.
- As of today, it is difficult to trace the origin and distribution of cleaner fish, eggs and larvae. Upon disease outbreaks, traceability is very important to follow the same group of fish from production to farm stocking and thereby identify the probable time/place of infection. It is therefore necessary to introduce best practices relating to traceability of cleaner fish stocks.

2 Bakgrunn

Lakseoppdrettsnæringen i Norge, og i flere andre lakseproduserende land, bruker i økende grad rensefisk som ett av flere verktøy for å kontrollere lakselus. Historisk er primært villfanget leppefisk (Labridae) blitt benyttet, i hovedsak artene berggyllt (*Labrus bergylta*), bergnebb (*Ctenolabrus rupestris*), gressgyllt (*Centrolabrus exoletus*) og grønngyllt (*Symphodus melops*), men de siste årene er både oppdrettet berggyllt og rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*) tatt i bruk. I 2014 ble det til sammen benyttet ca. 24 millioner villfanget rensefisk og ca. 4 millioner oppdrettet rensefisk (Fiskeridirektoratet 2015). Antall produsenter av rensefisk øker nå raskt og i dag er det et 20-talls aktører som produserer eller er i ferd med å starte produksjon av rognkjeks og to aktører som produserer berggyllt. Det forventes en stor økning i produksjon og bruk av oppdrettet rensefisk, spesielt rognkjeks, i årene som kommer.

Det er kjent at rensefisk kan være bærere av ulike patogener (se bl.a. [1-3]) Noen av disse kan utløse sykdom hos rensefisken selv, andre kan muligens overføres til laks og ørret og kanskje også føre til sykdom hos disse artene. Det vil også være et potensiale for at patogener kan overføres motsatt vei, fra laksefisk til rensefisk.

Det er usikkerhet om hvilken risiko sykdommer hos rensefisk og overføring av sykdommer til og fra rensefisk representerer for oppdrettsnæringen. Dette gjelder i alle ledd, fra fangst av vill rensefisk til oppdrett av rensefisk og laksefisk. Det er gjort mye diagnostisk arbeid for å avklare årsaken til dødelighet på rensefisk både hos fiskehelsetjenestene og Veterinærinstituttet i den senere tid. De årlige statistikkene som genereres i Veterinærinstituttets fiskehelserapporter gir også en viss oversikt over situasjonen. I tillegg er noen kontrollerte smittestudier og screening for bestemte agens blitt gjennomført (se blant annet rapporter fra FHF prosjektet «Rensefisk – tapsårsaker og forebyggende tiltak» som er tilgjengelige via lenken: <http://www.fhf.no/prosjektdetaljer/?projectNumber=900818>). Disse er imidlertid ikke grundig evaluert og satt inn i en større sammenheng, der risikoen og også mulige tiltak for å eliminere eller redusere risikoen for smitte mellom rensefisk og laks er vurdert. På bakgrunn av dette ble det høsten 2015 igangsatt et prosjekt i form av en såkalt «desk-top study» finansiert av FHF (FHF nr. 900120) kalt «Analyse av sykdomsrelatert risiko forbundet med bruk av villfanget og oppdrettet rensefisk for kontroll av lakselus». Prosjektet har blitt gjennomført av Nofima i samarbeid med fagpersoner fra Veterinærinstituttet og Universitetet i Bergen. Prosjektgruppen har bestått av følgende personer:

- Seniorforskerne Duncan Colquhoun, Haakon Hansen og Hilde Sindre, Veterinærinstituttet.
- Professor Heidrun Wergeland, Universitetet i Bergen.
- Seniorrådgiver Heidi E. Mikalsen og Forsker Lill-Heidi Johansen (prosjektleder), Nofima.

Følgende personer utgjorde styringsgruppen for prosjektet:

- Aoife Westgård, Aqua Kompetanse
- Olav Breck, Marine Harvest
- Ragnhild Malkenes, FOMAS
- Observatører: Kjell Maroni og Eirik Sigstadstø, FHF

3 Målsetting med prosjektet

Målsettingen med prosjektet er å foreta en grundig analyse av risiko for sykdom forbundet med bruk av både villfanget og oppdrettet rensefisk for kontroll av lakselus. Det skal også utarbeides forslag til og vurdering av mulige tiltak for å redusere smitterisiko, både for laksefisk og rensefisk.

Problemstillinger som skal belyses er blant annet:

- Hvilke patogener (inkludert sero-/genotyper) er kjent i rensefisk som kan smitte laksefisk, og omvendt? Det fokuseres primært på patogener som er kjent å forårsake sykdom hos rensefisk og laksefisk.
 - Hvilken risiko finnes for salmonider, og der det er relevant; skille mellom laks og regnbueørret.
 - En vurdering av mulig risiko og kunnskapshull i FoU for mer eksotiske agens, som nodavirus og VHSV.
- Hvilken smitterisiko er forbundet med bruk av villfanget kontra oppdrettet rensefisk?
- Hvilken smitterisiko er forbundet med bruk av villfanget kontra oppdrettet stamfisk?
 - Herunder en vurdering av vertikal smitterisiko og i hvilken grad screening, medisinerings mm av stamfisk kan redusere risiko for vertikal smitte
- Hvilken smitterisiko er forbundet med bruk av lokalfanget rensefisk kontra rensefisk importert fra andre regioner?
 - Vil en regionalisering av lakseproduksjon, fangst av rensefisk, produksjon av rensefisk bidra til reduksjon av risiko?
- Hvilken risiko er det for smitte fra rensefisk til ville bestander?
- Hva er smitterisikoen ved gjenbruk av rensefisk på samme eller annen lokalitet?
- Hvilken mulighet er det for å bruke patogenscreening som verktøy for å redusere risiko
 - Er det begrensinger i forhold til PCR som screeningsverktøy alene og/eller sammen med andre metoder?
- Status vaksineutvikling med forventet videre utvikling.
- Kan bruk av rensefisk bidra til risiko for pålegg om nedslakting av laksefisk?
- Hvilken sykdomsrisiko er forbundet med bruk av påvekstanlegg for rensefisk?

I rapporten oppsummeres kunnskap som finnes om patogener som kan forårsake sykdom hos arter som benyttes som rensefisk og også hos laksefisk, og patogener som har potensiale for spredning fra rensefisk til laksefisk og vice versa. Det er spesielt fokusert på de patogenene som er viktige i et smitterisikoperspektiv. Videre inneholder rapporten en vurdering av faktorer som kan ha betydning for smitterisiko. Vurderingene som omhandler helse og sykdomsrisiko i denne rapporten baseres blant annet på nyere forskning utført ved Veterinærinstituttet, Nofima og Universitetet i Bergen og diagnostiske erfaringer, kunnskap og statistikk ved Veterinærinstituttet. Rapporten baseres også på en gjennomgang av tilgjengelig litteratur, internasjonal og nasjonal, både rapporter og publiserte vitenskapelige arbeider. Vi retter i denne sammenheng en spesiell takk til Egil Karlsbakk, Havforskningsinstituttet, for tilgang til utkast til to review-artikler om parasitter, bakterier og virus påvist hos leppefisk og rognkjeks. Videre er rapporten basert på informasjon fra næringsrepresentanter, fiskehelsetjenester og Mattilsynet. Det er også tatt kontakt med fiskehelsetjenester og næringsaktører rundt om i landet for å kartlegge hvorvidt spesielle tiltak for å redusere smitterisiko er foreslått og/eller innført lokalt. Videre er det undersøkt omkring

oppdrettsnæringens og fiskehelsetjenestenes syn på Mattilsynets regelverk og håndheving av regelverk opp mot rensefisk. Det er også gjennomført en undersøkelse hos Mattilsynet for å få informasjon om håndheving av deres regelverk i forhold til rensefisk. Etter innspill fra næringsaktører i en workshop arrangert i forbindelse med dialogmøtet for FHF's rensefiskprosjekter i Trondheim, november 2015, er det i tillegg utarbeidet forslag til tiltak som kan inngå i en plan for oppdrettsnæringen for å redusere smitterisiko forbundet med bruk av rensefisk.

4 Patogener i rensefisk

Det eksisterer for lite kunnskap om infeksjonsstatus og sykdom hos villfisk som benyttes som rensefisk. Helsekontroll i forkant av levering av villfanget rensefisk til lakseanlegg varierer. Mens noen aktører screener for noen utvalgte agens, aksepterer andre aktører en mer overfladisk helsesjekk. Mangfold og forekomst av patogene organismer som er tilstede blant ville rensefiskpopulasjoner er ikke blitt systematisk kartlagt, men i tillegg til en review på patogener hos leppefisk [3] er nå to omfattende review-artikler under utarbeidelse som oppsummerer alle funn som er rapportert frem til i dag av ulike agens hos alle artene som brukes som rensefisk [1, 2]. Det pågår også en omfattende diagnostisk gransking av dødelighet hos rensefisk både under produksjon av rensefisk og i laksemerdene, og nye patogener hos rensefisk er blitt identifisert de siste årene. Selv om kunnskapen fortsatt er mangelfull, finnes det etterhvert noe informasjon om mottagelighet for sykdom hos rensefisk og virulens hos enkelte patogener.

4.1 Bakterier

4.1.1 Bakteriesykdommer hos vill rensefisk

Det finnes en del publikasjoner som omtaler bakterielle sykdommer i vill arter som brukes som rensefisk (se blant annet [3] for review på leppefisk og reviews for både leppefisk og rognkjeks i [1, 2] men vi vet fortsatt for lite om infeksjonsstatus relatert til bakterieinfeksjoner i ville fiskepopulasjoner. I en av få tilgjengelige studier undersøkte Gulla *et al* [4] nylig innfanget, vill leppefisk fra 14 fangstområder fra Østfold i sør til Nordland i nord for systemiske bakterielle infeksjoner ved dyrkning og for *Aeromonas salmonicida* infeksjon med kvantitativ PCR (qPCR) spesifikk for både typiske og atypiske varianter. Det var generelt få tegn til infeksjoner basert på dyrkning, men ca. 4 % av fisken viste lav grad av infeksjon med *A. salmonicida* (qPCR analyser). Dette kan indikere at villfiskbestanden generelt er ganske frisk i utgangspunktet. At noen få fisk bærer med seg *A. salmonicida* infeksjon kan imidlertid få alvorlige konsekvenser for smitte-oppløstring og spredning i laksemerdene.

4.1.2 Bakteriesykdommer hos rensefisk i oppdrett

Det er blitt identifisert nye bakterier hos rensefisk de siste årene og Kochs postulater (det vil si evne til å forårsake sykdom) har blitt oppfylt for flere bakterieisolater ved smitte av rensefisk. Et økende antall forskjellige bakterier har dermed blitt anerkjent som patogener hos rensefisk. For en del andre bakterier er evnen til å fremkalle sykdom mindre tydelig. Disse isoleres fra syk og døende rensefisk, men det er usikkert om disse bakteriene faktisk forårsaker sykdom eller om de bare representerer kolonisering av opportunistiske miljøstammer hos en allerede svak eller døende fisk.

Av de ulike bakteriene som er bekreftet å være patogene, finnes det noen som er patogene for mange rensefiskarter og noen som viser en varierende grad av vertsspesifisitet. Videre kan også spesifikke stammer av en bestemt bakterie være patogene for forskjellige typer fisk. Noen varianter av de sykdomsassosierte bakteriene som nylig har blitt identifisert fra rensefisk er ikke kjent i Norge fra før, e.g. *Pseudomonas anguilliseptica* og en enda ikke navngitt *Pasteurella* sp. I og med at oppdrett og bruk av rensefisk er en forholdsvis ung næring, kan det forventes at flere nye sykdommer og patogener vil bli identifisert i fremtiden.

4.1.3 Gjennomgang av de viktigste bakteriepatogenene som er kjent fra rensefiskoppdrett

Aeromonas salmonicida

Aeromonas salmonicida er en kjent patogen hos mange fiskearter. I laksefisk dominerer subsp. *salmonicida*, såkalte typiske varianter av bakterien. I andre ferskvannsfisk og i marine fisk dominerer de atypiske variantene. Atypisk *Aeromonas salmonicida* er sannsynligvis det viktigste patogenet hos både oppdrettet - og villfanget rensefisk for tiden. Infeksjon med atypisk *A. salmonicida* kan oppstå når som helst i en oppdrettssyklus og kan gi betydelige problemer i settefiskfasen, men den fremtrer som oftest etter utsett i merd. Årsaken til dette er sannsynligvis delvis miljøbetinget, e.g. høy vanntemperatur, økt eksponering for smitte og økte stressnivåer i fisk når de flyttes fra kar til merd. Det samme gjelder for villfanget fisk som er stresset etter fangst og transport.

A. salmonicida subsp. *salmonicida* (ASS) som forårsaker den meldepliktige laksesykdommen furunkulose, er tidligere beskrevet fra leppefisk i Norge [5] og Skottland [6-8]. Leppefiskene hadde da vært holdt sammen med laks som hadde furunkulose. Inntil nylig hadde ASS ikke blitt identifisert i rensefisk i Norge. Sent i 2015 ble imidlertid ASS isolert fra alle undersøkte rognkjeks i et sjøanlegg med forøket dødelighet hos rognkjeksen, men med kun lav dødelighet hos laksen. I skrivende stund viser laksen ingen tegn til sykdom. ASS isolert fra rognkjeksen viste nedsatt følsomhet for kinolon antibiotika. Dette er et kjennetegn for ASS stammer isolert i en årrekke hovedsakelig fra villaks, men som også har blitt påvist i forbindelse med lav dødelighet i oppdrettslaks i samme område. Gulla et al. [9] har ved sekvensering av virulensgenet *vapA* nylig klart å skille ulike *A. salmonicida* isolater i 14 forskjellige klynger (Type I – XIV), hvor furunkulosebakterien *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* er type I. Metoden differensierer mellom alle tidligere beskrevne underarter, men det viktigste resultatet er kanskje at isolatene grupperte ut fra hvilken vert de ble isolert fra. Det vil si at hver gruppe viser en betydelig grad av vertsspesifisitet. Atypiske isolater av *A. salmonicida* fra laksefisk tilhører flere og hovedsakelig andre A-lag (overflateprotein) typer enn de som finnes blant rensefisk. Selv om omfattende sammenligning mellom A-lags grupperinger og fenotypiske egenskaper ikke har blitt gjort enda, er det klart at det er en viss sammenheng her også. Av relevans for norsk rensefisk er at alle isolater av *A. salmonicida* fra leppefiskartene og nesten alle isolater fra rognkjeks tilhører A-lag type V eller VI (hovedsakelig type VI). Nyere resultater viser at denne trenden også gjelder for isolater fra 2015. Gulla et al. [4] viste også at *A. salmonicida* er en viktig patogen hos leppefisk. Bakterien var tilstede i lav - og høy prevalens i henholdsvis nylig innfanget vill leppefisk og i syke/døende villfanget leppefisk som hadde gått en tid i laksemerd.

Vibrio anguillarum

V. anguillarum er en av de viktigste fiskepatogenene i marinfisk, både i oppdrettsfisk og i villfisk. Bakterien gir alvorlig sykdom, en systemisk infeksjon kalt vibriose, i mange fiskearter inkludert laks, regnbueørret og alle aktuelle arter av rensefisk (se blant annet [3, 10, 11]). Utbrudd av sykdommen assosieres gjerne med forholdsvis høye vanntemperaturer. Det finnes 23 beskrevne serotyper [12] og i tillegg mange isolater som ikke lar seg serotype med tilgjengelige antisera [13]. Under norske forhold er serotype O1 og flere subtyper av O2 (se tabell 1) mest aktuelle. *V. anguillarum* kan skilles i flere såkalte O (oligosakkarid) -antigen serotyper og det eksisterer også mange antatt ikke-virulente «miljø» stammer eller stammer av ukjent virulens som ikke lar seg serotype. Fiskepatogene stammer tilhører i alle hovedsak serotypene O1 og O2, med subtypene O2a, O2b og en nylig beskrevet subtype O2a biotype II/O2x. Det eksisterer foreløpig ikke en publisert genetisk sammenligning av populasjonsstrukturen hos fiskepatogene *V. anguillarum* stammer, men upubliserte data (D. Colquhoun, upublisert) av en stor samling av norske og internasjonale referansestammer indikerer at

genotype stort sett henger sammen med serotype, og at visse geno-/serotyper har et forholdsvis bredt vertsregister mens andre har et smalt vertsregister (Tabell 1). *Vibrio anguillarum* infeksjoner er påvist regelmessig i oppdrettet rensefisk (VI's Fiskehelse rapporter). Vibriose var en gang en meget viktig sykdom i norsk oppdrettslaks og regnbueørret, men er nå sjelden påvist i disse fiskeartene på grunn av utstrakt bruk av effektive vaksiner.

Tabell 1 *Vibrio anguillarum* vertsregister (Norge).

Serotype	Mottakelig vert
O1	Laksefisk Rognkjeks (dominerende serotype) Leppefisk
O2a	Laksefisk Torskefisk Leppefisk Rognkjeks (sjelden)
O2b	Torskefisk (eksklusiv til torskefisk)
O2a biotype II /O2x	Torskefisk Leppefisk Rognkjeks (sjelden)

***Pasteurella* sp.**

I mange år har det vært forvirring rundt begrepet «fiske-pasteurellose». Denne sykdommen, forårsaket av en bakterie tidligere kjent som *Pasteurella piscicida*, har vært beskrevet i oppdrettet marinfisk i Middelhavet og Japan [10, 14]. Det har nylig blitt klart at denne bakterien egentlig tilhører slekten *Photobacterium* og den er nå kjent som *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. Bakteriene som gir sykdom i norsk og skotsk akvakultur tilhører derimot familien *Pasteurellaceae* og er dermed i slekt med de 'ekte' *Pasteurella*. Sykdom forårsaket av ekte medlemmer av familien *Pasteurellaceae* ble første beskrevet i laks i Norge [15] og en bakterie isolert fra laks med en lignende sykdom i Skottland ble navngitt *Pasteurella skyensis* [16]. Siden da har det i Skottland blitt påvist sykdom i laks forårsaket av nært beslektede, men ulike varianter av den samme bakterien (skotske og norske varianter av bakterien er ikke identiske). Bakterien er vanligvis ikke forbundet med høy dødelighet i laks, og utbrudd er såpass sjelden at den ikke er vurdert som en alvorlig trussel i laksenæringen eller som vaksinekandidat. I 2013 ble en *Pasteurella* variant forskjellig fra, men forholdsvis nært beslektet med *P. skyensis* isolert i forbindelse med høy dødelighet i oppdrettet rognkjeks i 16 norske anlegg, og den har deretter blitt isolert med jevne mellomrom fra syk rognkjeks fram til dags dato [17]. Det er laget antisera mot de forskjellige fiskepatogene stammene (Gulla, upublisert) og rognkjeksvarianten viser seg å være en egen spesifikk serotype. Kochs postulater har blitt oppfylt for bakterien, det vil si virulens overfor rognkjeks har blitt bekreftet (Wergeland upubliserte data).

Vibrio ordalii

V. ordalii ble først isolert fra syk laks i USA og ble da beskrevet som *V. anguillarum* biotype 2 [18]. Etter hvert ble den skilt ut som egen art og navngitt *V. ordalii* [19]. *V. ordalii* og *V. anguillarum* har klare fenotypiske forskjeller, men er svært like genetisk sett [20]. Det er enda ikke publisert noen omfattende sammenligning av *V. ordalii* fra ulike geografiske områder, men en upublisert studie utført ved Veterinærinstituttet viser at *V. ordalii* isolert fra Stillehavsområdet og norske isolater er

genetisk forskjellige. I Norge er *V. ordalii* utelukkende isolert fra torsk (før 2007) og rognkjeks (fra 2011) (VIs Fiskehelsesrapporter). Utbrudd i rognkjeks er forholdsvis sjeldent, men dødeligheten kan være betydelig. *V. ordalii* er diagnostisert på 0 – 5 lokaliteter årlig (snittet ligger på rundt 2 anlegg per år) hovedsakelig i Trøndelag og Nord-Norge (Veterinærinstituttet diagnostikk).

Pseudomonas anguilliseptica

P. anguilliseptica har blitt assosiert med sykdom i mange fiskearter rundt om i verden, hovedsakelig i sjøvann og brakkvann [21]. Bakterien ble påvist for første gang i Norge i 2011 hos rognkjeks og har siden blitt diagnostisert 8 ganger, hovedsakelig fra rognkjeks, men ett utbrudd ble også registrert hos steinbit i 2013. *P. anguilliseptica* er en anerkjent fiskepatogen som i noen tilfeller kan forårsake betydelig dødelighet i fisk i oppdrett, men den har vanligvis relativt lav virulens og er forbundet med lav eller moderat dødelighet. Minst 2 serotyper eksisterer [22]. *P. anguilliseptica* er beskrevet fra blant annet atlantisk laks, sjøørret, regnbueørret og sik i Finland [23] fra brakvannslokaliteter. Bakterien har også blitt assosiert med sykdom i vill sild [24]. Bakterien kan isoleres både systemisk og fra eksterne overflater, e.g. hud. Den antas å ha en viss grad av vertsspesifisitet. Blant annet beskrev Wiklund og Bylund [23] en høyere mottakelighet i laks sammenlignet med regnbueørret, mens Murago et al [25] viste at japanske isolater hadde høy virulens i ål men ikke i karpefisk. Så langt har serotype O2 bare blitt isolert fra ål [22]. *P. anguilliseptica* har blitt isolert i forbindelse med sykdom hos torsk flere ganger i Skottland og Canada [26].

Moritella viscosa

M. viscosa er vanligvis assosiert med sykdommen vintersår i oppdrettslaks. Kochs postulater relatert til vintersår har blitt oppfylt for *M. viscosa* i laks og regnbueørret [27] [28] [29]. Bakterien er også blitt isolert fra rødspette [30], torsk [31], kveite, [32] rognkjeks fra Island [33] og Norge (VIs Fiskehelsesrapporter, VI diagnostikk) og leppefisk (VIs Fiskehelsesrapporter) men isoleringene fra disse artene har ikke blitt sett i sammenheng med utbredt sykdom i de aktuelle populasjonene.

M. viscosa som art består av to forskjellige genetiske klynger [34]. En genotype som viser veldig lav diversitet er utelukkende forbundet med sykdom i laks i Norge, Skottland og på Færøyene og er betegnet som «typisk». Karlson et al. [29] påviste en høy grad av spesifikk dødelighet i laks smittet med typisk *M. viscosa*. Den andre genetiske klyngen, som viser en vesentlig grad av diversitet, er betegnet som «atypisk» og er identifisert hovedsakelig fra regnbueørret, torsk og andre marine fiskearter i Norge, men også fra laks i Island og unntaksvis fra laks med vintersår i Norge. Det eneste typede isolatet fra rognkjeks (fra Island) tilhører atypisk klynge. En ennå upublisert masteroppgave (Sørgaard 2014) som nylig ble utført ved Veterinærinstituttet, brukte MLVA (Multiple Locus Variable tandem repeats Analyses) analyse til å studere *M. viscosa* isolater fra forskjellige verter, geografiske opprinnelser og isoleringstidspunkter mellom 2008 - 2011. Dessverre var det ikke så mange rensefiskisolater som var tilgjengelig i prosjektperioden. Selv om veldig få rensefiskisolater ble karakterisert, ble et tydelig skille identifisert mellom isolatene fra laks og isolatene fra andre fiskearter.

Vibrio splendidus

V. splendidus er en vanlig forekommende bakterie i mikrobiota i sjøvann i norske farvann som det finnes mange forskjellige varianter av [35]. Den er også et nokså vanlig funn under diagnostisk bakteriologi fra diverse fisk og bløtdyr i oppdrett i sjøvann (se review [36]). Den isoleres fra sår og mindre ofte fra nyre i laks, men er ikke betraktet som klinisk viktig [37]. Bakterien er et veldig vanlig diagnostisk funn i forbindelse med tilsynelatende systemiske infeksjoner i rensefisk i oppdrett (VIs

Fiskehelserapporter), og har blitt beskrevet som patogen i grønngylt og bergnebb [38, 39]. Smitteforsøk utført på villfisk må da tolkes med forsiktighet og totalt sett har ikke smitteforsøk gitt entydig svar på om *V. splendidus* er en primær eller opportunistisk patogen hos leppefisk [40, 41]. Gulla et al [42] utførte en genetisk sammenligning av en samling av *V. splendidus* relaterte stammer isolert i forbindelse med sykdomsutredning i rensefisk, og identifiserte en stor grad av både genetisk og antigenisk diversitet blant stammene isolert fra forskjellige utbrudd, men også innenfor utbrudd. Dette indikerer at direkte smitte fra sjøvann sannsynligvis er mer vanlig enn fisk til fisk smitte. Et lignende infeksjonsbilde med mange forskjellige stammer involvert samtidig har blitt observert i østersoppdrett og noen forskere [43] foreslår at sykdommen er et resultat av et slags 'samarbeid' mellom forskjellige stammer av bakterien. Tilgjengelige bevis sannsynliggjør at *V. splendidus* ikke er primær patogen hos rensefisk eller laks, men reflekterer en kombinasjon av høyt naturlig smittepress, dårlig immunforsvar i en stresset fisk og sub optimale miljøforhold.

Vibrio tapetis

V. tapetis er i nær slekt med *Vibrio splendidus* og er i Norge vanligvis isolert fra syk rensefisk, men også til tider fra kveiteyngel (Gulla, upublisert). Den er kjent internasjonalt som en skalldyrpatogen [44, 45], men har vært beskrevet som patogen hos grønngylt (men ikke hos bergnebb eller laks) i Norge [46]. Veterinærinstituttet (Gulla et al. manuskript under bearbeidelse) har studert en samling av 55 *V. tapetis* isolater dyrket hovedsakelig fra norsk leppefisk, men også internasjonale referansestammer. *V. tapetis* kan inndeles i 3 forskjellige genetiske klynger som også representerer 3 forskjellige serotyper. Et smitteforsøk med representanter fra alle tre serotyper der oppdrettet berggylt ble benyttet, ga ingen indikasjon på virulens i denne fiskearten (Gulla et al. manuskript under bearbeidelse). I likhet med *V. splendidus* peker samlede funn mot et komplisert infeksjonsbilde hvor både bakterien, miljøet og immunstatus i verten antagelig spiller betydelige roller.

***Tenacibaculum* spp.**

Tenacibaculum spp. påvises med jevne mellomrom fra rensefisk med hud/finne- lesjoner, både i produksjonsfasen og i laksemerd. Disse lange, tynne, ubevegelige stavbakteriene finnes som regel i skadet hud/sår. Infeksjonen spres ikke systemisk og bakterien kan som regel ikke dyrkes fra indre organer. Denne bakterieslekten er kjent som medlemmer av den vanlige planktoniske marine mikrobiota, men er forholdsvis dårlig studert og beskrevet og isolater fra fisk i Norge tilhører ikke-navngitte arter. Et nylig publisert arbeid [47] som inkluderte flere norske stammer viser at noen isolater fra norsk laks er i forholdsvis nær slekt med *T. dicentrarchi*, tidligere beskrevet fra havabbor i Spania [48]. Et større arbeid med fokus på norske isolater fra ulike fiskearter (A.B. Olsen pers. med.), inkludert flere fra rensefisk, gjennomføres nå. Selv om det er for tidlig å trekke konklusjoner angående eventuell vertsspesifisitet, kan man allerede nå si at det finnes mye genetisk variasjon blant de studerte isolatene. Igjen kan dette indikere, som med mange andre bakterieinfeksjoner, at miljøet og fiskens immunstatus kan være viktige faktorer i utviklingen av eventuell sykdom.

4.1.4 Smitterisikovurdering bakterier

***Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* (ASS)**

Bricknell et al. [49] sammenlignet mottakelighet for ASS i både laks og bergnebb og fant at laks var langt mer mottagelig enn bergnebb for infeksjon med denne bakterien. Dette indikerer at laks smittet med ASS utgjør en større trussel for leppefisk enn *vice versa*. Denne hypotesen støttes av arbeid utført av Gulla et al. [9] som typet over 300 *A. salmonicida* stammer fra diverse fiskearter isolert fra 1980-tallet og fram til i dag uten å finne ASS assosiert med rensefisk. Som tidligere nevnt

diagnostiserte Veterinærinstituttet i slutten av 2015 ASS infeksjon i samtlige undersøkte rognkjeks der prøver ble tatt i forbindelse med økte dødelighet i et anlegg hvor rognkjeksen ble holdt sammen med laks. Laksen viste ikke forøket dødelighet. Resistenstesting av ASS isolater fra rognkjeksen viste nedsatt følsomhet for kinolonantibiotika som er et kjennetegn for en ASS stamme kjent fra villfisk i samme område. Utbrudd an furunkulose er påvist med jevne mellomrom i vill-laks i dette området. Det er sannsynlig at rognkjeks har blitt smittet direkte fra infisert villaks og funn gjort så langt kan tolkes til at både leppefisk og rognkjeks er noe mottagelig for ASS smitte HVIS smittepresset er høyt nok, men at ASS ikke er vanlig forekommende i disse fisketypene. Hvor smittepress-terskelen går er uvisst, men siden ASS for tiden er nesten utryddet fra norsk lakseoppdrett på grunn av vaksinasjon, antas det (hvert fall i områder hvor det ikke finnes høyt smittepress fra vill-laks) at ASS utgjør en forholdsvis beskjeden smitte risiko for både laks og rensefisk med dagens produksjon.

Atypisk *A. salmonicida*

Av 24 atypiske *A. salmonicida* isolater undersøkt fra laks i årene 1987 – 2015 ble det identifisert 6 forskjellige A-lag grupper, hvorav gruppe VI (leppefisk assosierte) ble identifisert i 3 av 24 tilfeller, senest i 2015 i en gruppe 'taperfisk'. Dette indikerer at laksefisk kan infiseres av rensefisk assosierte varianter og at de er mottakelig for flere varianter av bakterien enn leppefisk. Den relativt lave prevalensen av atypiske varianter av *A. salmonicida* i laks skyldes antagelig en kombinasjon av kryss-beskyttelse fra furunkulosevaksinen og en lavere mottakelighet for infeksjon med atypiske varianter av bakterien. Begge disse forholdene tilsier at sykdomsutbrudd etter overføring av bakterien fra rensefisk til laks er mindre sannsynlig. Risiko for sykdomsutbrudd ved overføring av bakterien fra laks til rensefisk er liten, men tilstede. Vill leppefisk blir ikke vaksinert og etter en periode i laksemerd er det vist en økt prevalens, fra 4 % prevalens rett etter innfangning til 68 % prevalens etter en tid i laksemerd, for atypisk *A. salmonicida* [4]. Det finnes ingen statistikk, men det er likevel nærliggende å tro at de fleste oppdrettede rognkjeks nå vaksineres mot atypisk *A. salmonicida* før sjøsetting. At det fortsatt identifiseres en økende mengde utbrudd av atypisk *A. salmonicida* i oppdrettet rognkjeks, indikerer at utviklingen av vaksiner enda har en vei å gå (se også kapittel 5 om vaksinerings).

Vibrio anguillarum

V. anguillarum serotype O1 isoleres jevnlig fra rognkjeks, mindre ofte fra leppefisk og av og til fra regnbueørret. Utbrudd hos laks er siden introduksjonen av effektiv vaksinasjon praktisk talte ikke-eksisterende, og dagens situasjon kan tolkes slik at infisert rensefisk utgjør en større risiko for laks enn *vice versa*. *V. anguillarum* er en ubikvitær marin bakterie som vaksinert laks møter jevnlig i forholdsvis lave konsentrasjoner i sjøvann. Rensefisk med vibriose vil øke smittepresset mot laksen den holdes sammen med. Om smittepresset er høyt nok vil det være en risiko for at vaksinen ikke vil beskytte godt nok og en kan få utvikling av sykdom i laks. Ingen slike utbrudd har blitt påvist enda, men Veterinærinstituttet har i et enkelte tilfelle påvist vibriose (serotype O1) i leppefisk og isolert *V. anguillarum* serotype O1 fra sår i laks fra samme merd. *V. anguillarum* serotype O2a påvises regelmessige fra leppefisk og kan være patogen for både laks og regnbueørret, men sykdom i laksefisk er som tidligere nevnt meget sjeldent på grunn av vaksinerings. Serotype O2a representerer derfor en lignende, beskjeden trussel mot laksefisk som *V. anguillarum* serotype O1. Serotype O2a biotype II/O2x er isolert med jevne mellomrom fra leppefisk, men bare i enkelte tilfeller fra rognkjeks og aldri i laks. Denne bakterien er også påvist fra syke torskefisk, så den vil kunne utgjøre en smitterisiko innen en populasjon av leppefisk og kanskje mot ville leppefiskbestander og ville torskefiskbestander.

Pseudomonas anguilliseptica

Sykdom forårsaket av *P. anguilliseptica* ble første gang påvist hos oppdrettet rognkjeks i Norge i 2011. Antall utbrudd i årene 2011- 2015 har vært ganske få, henholdsvis 1, 0, 1, 0 og 4 saker er registrert hos Veterinærinstituttet i denne perioden. Infeksjonen er også påvist i rognkjeks på Færøyene. Selv om dødeligheten i oppdrettet rognkjeks har vært ganske lav, indikerer det at man regelmessig finner infeksjonen i rognkjeks at arten er noe utsatt for infeksjon med denne bakterien. *P. anguilliseptica* kan også gi sykdom i laks [23] og regnbueørret. Bakterien er vanligvis ikke særlig virulent i laksefisk, men dødelighet opp mot 50 % er registrert i oppdrettslaks i Finland [23]. Dette betyr at infeksjoner i rensefisk (så langt er *P. anguilliseptica* bare påvist hos rognkjeks i Norge) kan medføre en viss risiko for overføring av infeksjon til laksen den holdes sammen med, men sannsynligheten for at sykdommen skal spres fra rognkjeks til laks i norsk oppdrett er antagelig lav. Det kan ikke utelukkes at rognkjeks i oppdrettsanlegg kan bli smittet av villfisk i området.

Moritella viscosa

For få isolater av *M. viscosa* fra rensefisk har blitt undersøkt med egnet genetiske verktøy for å si sikkert om rensefisk utgjør en risiko for videre infeksjon av oppdrettslaks eller ikke. Vi vet at både rensefisk og laks kan infiseres av *M. viscosa*, men med unntak av en stamme fra torsk som var nært beslektet, men ikke identisk med typiske isolater, har alle typiske isolater som er identifisert så langt blitt isolert fra laks. Dette indikerer at typiske isolater av *M. viscosa* er spesifikk for Atlantisk laks og utgjør en liten fare for infeksjon av andre arter. Vintersår forekommer hovedsakelig i kaldt vann og gjerne under 10°C. Selv om det jobbes med å få flere overvintrende leppefisk og rognkjeks allerede er vist å ha potensiale for overvintring da den er aktiv også ved lave temperaturer, finnes det foreløpig forholdsvis få rensefisk sammen med laksen vinterstid. Ut i fra dagens situasjon er derfor risikoen for overføring av bakterien fra laks til rensefisk lav. I og med at laks av og til kan bære på atypiske isolater av *M. viscosa*, er det kanskje mer sannsynlig at laksen utgjør en mulig infeksjonskilde for rensefisk, men risikoen for smitte fra laks til rensefisk må også anses som lav.

***Pasteurella* sp.**

Vi har ingen indikasjoner i dag på at *Pasteurella* sp. isolert fra rognkjeks i Norge representerer en trussel for oppdrettslaks eller at *Pasteurella* sp. isolert fra oppdrettslaks utgjør en trussel for rognkjeks. Bakterier i *Pasteurella* slekten er så langt ikke påvist fra leppefisk. Ut ifra publisert litteratur [17, 50] kommer det tydelig frem at isolatene fra rognkjeks og laks er både genetisk og antigenisk forskjellige. Flere serotyper/ genotyper ser ut til å infisere laks, mens en homogen (identisk) gruppe er blitt isolert fra rognkjeks. Bakterien virker å være hissig i rognkjeks og man kan tenke seg at en infisert oppdrettspopulasjon kan representere en risiko for ville rognkjeksbestander. Tilgjengelige kunnskapindikerer at en *Pasteurella* infeksjon i rognkjeks eller laks utgjør liten fare for kryss-smitte.

***Tenacibaculum* spp.**

Upublisert arbeid gjennomført ved Veterinærinstituttet (A. B. Olsen upublisert) indikerer at det finnes mange varianter av denne bakterien og at det ikke finnes bare én eller noen få varianter som forårsaker sykdom i oppdrettsfisk. Analysene kan indikere at det finnes noen grupper som er overrepresentert blant *Tenacibaculum* isolert fra rensefisk. Vi vet for lite i dag til å kunne si noe om sannsynligheten for smitteoverføring mellom rensefiskartene og laksefisk.

Tabell 2 og 3 oppsummerer hvilke bakterier som er funnet i vill og oppdrettet rensefisk og laks og angir også om det er en risiko tilstede for smitte mellom artene.

Tabell 2 Bakterieinfeksjoner i leppefisk, rognkjeks og laks samt risiko for smitte fra rensefisk til laks.

Bakterie	Leppefisk	Rognkjeks	Laks	Smitte rensefisk til laks?
<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>	-	+	+	beskjeden [#] til moderat [#] risiko ^{&}
Atypisk <i>Aeromonas salmonicida</i>	+	+	+	lav risiko
<i>Vibrio anguillarum</i> serotype O1	+	+	+	lav risiko ^{&}
<i>Vibrio anguillarum</i> serotype O2a	+	-	+	lav risiko ^{&}
<i>Vibrio anguillarum</i> serotype O2a biotype II	+	(+)	-	veldig lav risiko
<i>Vibrio ordalii</i>	-	+	-	veldig lav risiko
<i>Pasteurella</i> sp.	-	+	+*	veldig lav risiko
<i>Pseudomonas anguilliseptica</i>	-	+	-	lav risiko
<i>Moritella viscosa</i>	+	+	+	veldig lav risiko
<i>Tenacibaculum</i> spp.	+	+	+	ukjent risiko

* *Pasteurella* sp. forårsaker også infeksjon i laks, men bakterien er forskjellig fra rognkjeks varianten.

Risiko for smitte fra rensefisk til laks i områder utenfor 'endemisk infisert vill-laks' områder anses som beskjeden

[#] Vaksiner virker foreløpig beskyttende i laks, men risiko for smitte til laks innen 'endemisk infisert vill-laks' områder anses som vesentlig og utvikling av sykdom som moderat

[&] Foreløpig virker laksen å være beskyttet av vaksiner mot disse bakterietypene.

Tabell 3 Bakterieinfeksjoner i vill rensefisk og risiko for smitte fra rensefisk til ville bestander av leppefisk og rognkjeks.

Bakterie	Påvist vill rensefisk	Smitte rensefisk-vill rensefisk?	Sannsynlig alvorlig trussel?
<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>	Ja*	Lav risiko	Nei
Atypisk <i>Aeromonas salmonicida</i>	Ja	Vesentlig risiko	Ukjent
<i>Vibrio anguillarum</i> serotype O1	Ukjent	Ukjent risiko	Nei
<i>Vibrio anguillarum</i> serotype O2a	Ukjent	Ukjent risiko	Nei
<i>Vibrio anguillarum</i> serotype O2a biotype II	Ukjent	Ukjent risiko	Nei
<i>Vibrio ordalii</i>	Ukjent	Ukjent risiko	Nei
<i>Pasteurella</i> sp.	Ukjent	Ukjent risiko	Nei
<i>Pseudomonas anguilliseptica</i>	Ukjent	Ukjent risiko	Nei
<i>Moritella viscosa</i>	Ukjent	Ukjent risiko	Nei
<i>Tenacibaculum</i> spp.	Ukjent	Ukjent risiko	Nei

* så langt bare påvist unntaksvis i rognkjeks i et område utsatt for infeksjonspress fra vill-laks. Vill-laksen i dette område antagelig representerer enn mer alvorlig trussel til vill-fisk en rensefisk i oppdrett.

4.2 Parasitter

Et stort antall parasittarter er påvist hos rensefisk (leppefisk og rognkjeks) og for en fullstendig oversikt over alle parasitter henvises det til de to review-artiklene av Karlsbakk [1, 2] og til Treasurer [3]. Tabell 4 inneholder en liste over de arter som anses som viktige parasittiske patogener hos rensefisk. Disse er arter som enten er kjent å forårsake sykdom hos rensefisk eller som potensielt kan smitte over til laks og eventuelt regnbueørret når de brukes som rensefisk.

Kun noen få arter parasitter (*Paramoeba perurans*, *Nucleospora cyclopteri* og nematoder (flere arter)) antas å være viktige i et smitterisikoperspektiv, og disse vil omtales i detalj i teksten og vurderes i forhold til smitterisiko. For informasjon om biologien til de artene i tabell 4 som ikke omtales i detalj, henvises til rapportene fra Karlsbakk [1, 2] og litteraturhenvisninger i disse. Tiltak i næringen for å hindre smittespredning, f.eks. begrensninger i flytting av fisk, vil ha samme følge for alle mulige parasitter (og andre patogener) og vi har derfor valgt å fokusere på de vi anser som de viktigste.

Parasitter er dyr som lever på eller i andre organismer, kalt *verten*, og den har en negativ påvirkning på denne. De er altså ikke en systematisk gruppe organismer, men snarere en levemåte og det finnes en uendelighet av forskjellige livssykluser og smitteveier for de ulike gruppene og artene av parasitter. Parasitter kan smitte direkte fra vert til vert, slik som amøben *Paramoeba perurans*, eller indirekte via en vektor, slik som mikrosporidien *Desmozoon lepeophtherii* som smitter via lakselus. Mange parasitter har høy vertsspesifisitet, det vil si at de bare infiserer én vert, slik som mange arter i slekten *Gyrodactylus* (Monogenea), mens andre har lav vertsspesifisitet og kan infisere flere verter, slik som amøben *P. perurans* og rundmarken *Anisakis simplex* (kveis). Mange parasitter har også kompliserte livssykluser med både én og to mellomverter som er nødvendige i livssyklus. Et eksempel på dette er myxozoen *Parvicapsula pseudobranchicola* som har en laksefisk (laks, ørret, sjørøye) som mellomvert og en flerbørstemark (Polychaeta) som sluttvert. Slike parasitter kan ikke smitte direkte fra f.eks. fisk til fisk innen en merd. Endelig deles ofte parasitter i mikroparasitter og makroparasitter. Mikroparasitter er karakterisert ved at de reproducerer hos verten og at ett individ derfor kan gi opphav til en infeksjon, slik som hos f.eks. parasitter i slekten *Gyrodactylus* og hos encellede dyr (protozoer). Makroparasitter, slik som f.eks. lakselus, er på den andre siden karakterisert ved at de ikke oppformerer på/i fisken og hvert individ vil tilsvare en separat infeksjon. Alle faktorene ovenfor spiller inn når det gjelder parasittenes mulighet til å infisere andre organismer og er tatt hensyn til når vi vurderer smitterisikoen (se også tabell 4).

Som for andre organismer, så har noen parasitter stor geografisk utbredelse (f.eks. *Anisakis*), mens andre igjen har mer begrenset utbredelse. Dette siste er selvfølgelig knyttet til utbredelsen til parasittens vert(er). Det er generelt en begrenset oversikt over geografisk utbredelse og vertsspesifisitet til de forskjellige parasittartene på rensefisk. Når det gjelder sannsynligheten for smitte til laks/regnbueørret så indikeres det generelt [se f.eks. 3] at de fleste parasitter påvist hos rensefisk er vertsspesifikke og/eller har kompliserte livssykluser med flere verter og at de derfor ikke vil ha stor sannsynlighet for å infisere laks.

Tabell 4 Viktige parasitt patogener hos rensefisk, vertsspesifisitet og sannsynlighet for smitte til laks.

Rognkjeksparasitter	Parasittgruppe	Vertsspesifikk	Påvist på laks/sannsynlig smitte til laks
<u>Protozoa (encellede)</u>			
<i>Paramoeba perurans</i> (AGD) ^α	Amoeba	Nei	Ja
<i>Nucleospora cyclopteri</i> ^{β, α}	Microsporidia	Ja	Nei
<i>Trichodina</i> sp. (<i>T. cyclopteri</i> , <i>T. galyae</i>)*, ^α	Ciliata	Ja	Nei
<i>Ichthyobodo</i> sp.	Kinetoplastea, flagellat	Ja	Nei
<u>Metazoa (flercellede)</u>			
<i>Kudoa islandica</i> ^α	Myxozoa	Ja	Nei
<i>Gyrodactylus</i> sp., <i>Gyrodactylus cyclopteri</i> *, ^α	Monogenea	Ja	Nei
Nematoder/kveis (<i>H. aduncum</i> , <i>A. simplex</i>)*	Nematoda	Nei	Ja
<i>Caligus elongatus</i> *	Copepoda	Nei	Ja

Leppefiskparasitter	Parasittgruppe	Vertsspesifikk	Påvist på laks/sannsynlig smitte til laks
<u>Protozoa (encellede)</u>			
<i>Paramoeba perurans</i> (AGD) ^α	Amoeba	Nei	Ja
<i>Trichodina</i> sp.*	Ciliata	Ja?	Nei
<u>Metazoa (flercellede)</u>			
Nematoder/kveis (<i>H. aduncum</i> , <i>A. simplex</i>)*	Nematoda	Nei	Ja
<i>Caligus elongatus</i>	Copepoda	Nei	Ja

* Vanlig forekommende i oppdrett/i diagnostikk

^α Alvorlig patogen for rensefisk

^β Mulig underdiagnostisert (pga påvist stor utbredelse i villfisk [51, 52])

4.2.1 Parasitter hos rensefisk

***Paramoeba perurans* (Young, Crosbie, Adams, Nowak and Morrison, 2007) (syn. *Neoparamoeba perurans*) og AGD**

Paramoeba perurans er en amøbe som forårsaker AGD (Amoebic Gill Disease) hos en rekke fiskearter og sykdommen har gitt store tap i lakseoppdrettsnæringen spesielt i Norge, Skottland, Irland og Tasmania. *P. perurans* ble først formelt beskrevet i 2007 fra Tasmania [53], men har forårsaket AGD på Tasmania siden 1980-tallet, det vil si allerede fra den gang oppdrett av laks startet der. AGD og *P. perurans* ble første gang påvist hos norsk oppdrettslaks i 2006 [54] men den forårsaket ikke store tap i norsk oppdrett før 2012. I 2013 ble AGD påvist i en rekke oppdrettsanlegg fra Vest-Agder til Møre og Romsdal og i 2014 ble AGD påvist helt opp til Nord-Trøndelag [55].

Sykdommen AGD karakteriseres av sammenvoksinger på gjellene og økt slimproduksjon og det sees hvite og slimete områder på gjellene. Ved utstryk og mikroskopi kan man se til dels store mengder amøber på overflaten av det irriterte vevet. Fisk med AGD har respirasjonsbesvær, dårlig matlyst, kan ha redusert svømmeaktivitet og tregere unnvikelsesreaksjoner.

Vertregister: *Paramoeba perurans* har blitt påvist på en rekke, ikke nært beslektede, fiskearter verden over og dette tyder på at parasitten har lav vertsspesifisitet. Den er påvist både på laks og rensefiskene berggylt [56], grønnngylt og på rognkjeks [55] og har i tillegg blitt funnet på blant annet regnbueørret og piggvar [57, 58]. Den lave vertsspesifisiteten er svært viktig med tanke på smitterisiko mellom arter, lokaliteter og mellom oppdrettede og ville populasjoner. Også sykdommen AGD er påvist hos mange fiskearter, inkludert leppefisk [56] og rognkjeks [55]. Det er vist at amøben kan smitte fra laks til rensefisk og omvendt.

Livssyklus og smitte: *Paramoeba perurans* kan opptre både parasittisk og forårsake sykdom hos en rekke fiskearter, men den kan også overleve i vannet, og sannsynligvis i sedimenter og på/i diverse utstyr i tilknytning til fiskeproduksjon. Amøben smitter direkte fra fisk til fisk via vannet. Den har både fastsittende stadier og flytestadier og flytestadiene kan leve i mange dager og antas å bidra til en passiv spredning av amøbene over lange avstander. Det er også observert såkalte *pseudocyster*; små, runde og ubevegelige stadier [59]. Dannelsen av disse ser ut til å initieres av ugunstige miljøfaktorer (f. eks. lav salinitet og temperatur), men ved tilbakeføring til opprinnelig miljø observeres det igjen bevegelse hos amøbene. Disse pseudocystene kan være viktige for amøbenes overlevelse i miljøet, f.eks. gjennom vinteren, og under behandling og dermed for spredning. *Paramoeba perurans* kan også potensielt spres ved flytting av infisert fisk (og vann i brønnbåt) og utstyr, eller vandrende infisert fisk eller andre smittebærende organismer. Lite er kjent når det gjelder naturlig reservoar for amøben, men i en nylig publisert studie fra Skottland ble *P. perurans* kun påvist i 1 av 2348 villfisk (28 fiskearter) [60]. De to viktigste risikofaktorene for AGD-utbrudd er angitt å være høy salinitet (>32ppt) og forholdsvis høy sjøvannstemperatur, men det er påvist AGD-utbrudd helt ned til 5-6 grader og ved saliniteter ned mot 28ppt [61].

Genetiske varianter/strainer: *Paramoeba perurans* har forårsaket AGD hos flere fiskearter og det er sannsynlig at amøben kan være sykdomsfremkallende hos flere enn de som det er vist hos til nå. Det foreligger anekdotisk bevis for at det finnes varianter med forskjellig virulens, men dette er ikke publisert. En viss grad av genetisk variasjon innen arten er publisert [62] og er kjent fra GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), men variasjonen er ikke koblet til hverken forskjellige geografiske isolater, isolater fra forskjellige verter eller til tilsynelatende forskjeller i virulens mellom isolater.

Påvisningsmetodikk: De hvite, slimete områder som observeres på gjellene i felt kan graderes etter en skala (gjellescore) fra 1-5 [63]. Man må være klar over at slike flekker også kan ha andre årsaker enn amøber. Amøber kan også påvises i ferske utstryk fra gjellene som undersøkes i et mikroskop. For å stille en AGD-diagnose er histologi gullstandard, men molekylære metoder må benyttes for å bekrefte tilstedeværelse av arten *P. perurans*. Det finnes flere real-time-PCR-metoder for påvisning av *P. perurans* tilgjengelig, både publiserte [64, 65] og de som brukes hos kommersielle aktører.

Behandling: Både ferskvannsbehandling og hydrogenperoksid er mye brukt, men disse behandlingstypene ser ikke ut til å være 100 % effektive og/eller fisken re-smittes fra de andre merdene eller via vannet fra ville fisk eller andre reservoarer. Behandlingen må derfor gjentas med jevne mellomrom. Rensefisk er marine fiskearter som ikke tåler ferskvannsbehandlingen og det er derfor utviklet metoder for å ta ut fisken før laksen behandles. Brakkvannsbehandling (15 ppt) over 5-6 dager har imidlertid vist seg å være svært effektivt (O. Breck, pers. med.).

***Nucleospora cyclopteri* (Rike Microspora – Microsporidia)**

Nucleospora cyclopteri er en mikrosporidie som ble beskrevet første gang fra rognkjeks på Island i 2013 [52], men den første rapporten om denne parasitten var sannsynligvis fra Canada i 2011 [66]. Senere er også infeksjon med samme parasitt og fisk med samme symptomer beskrevet fra norsk oppdrettet rognkjeks [67]. Mikrosporidier er små parasitter som har vist seg å være nært beslektet med sopp [68]. *Nucleospora cyclopteri* forekommer systemisk og forårsaker blant annet utstående øyne og svulne nyrer og er sannsynlig årsak til dødelighet [52, 66, 67]. Mikrosporidier generelt utvikler sporer inne i vertens celler og *N. cyclopteri* er intet unntak, da den utvikler seg inne i kjernene til de hvite blodlegemene. Parasitten får vertscellen til å dele seg samtidig som parasitten selv deler seg selv. Det er dette som resulterer i at infiserte rognkjeks utvikler svulne nyrer, fulle av parasitterte leukocytter [se 52].

Parasitten er flere ganger funnet hos villfanget rognkjeks langs norskekysten [51], den ble påvist hos nesten 100 % av undersøkte villfangede rognkjeks langs kysten av Island [52]. Samme parasitt er sannsynligvis tilstede i Canada [66] (se [52]).

Livssyklus og smitte: Livssyklusen til *N. cyclopteri* er ukjent. Mikrosporidier generelt kan både ha direkte livssykluser eller kompliserte livssykluser med en mellomvert. De fleste mikrosporidier kjente fra fisk er vertsspesifikke og dette gjelder sannsynligvis også *N. cyclopteri*, som kun er påvist på rognkjeks. For *N. cyclopteri* kan man ikke utelukke direkte smitte da dette er vist for en beslektet parasitt, *N. salmonis* [69] og den kan ha potensiale til å bli et betydelig problem i rognkjeksoppdrett i Norge. Andre arter mikrosporidier, som f.eks. *Desmozoon lepeophtherii* (syn. *Paranucleospora theridion*), som er kjent fra laks, har lakselus som hovedvert og kan ikke smitte direkte fra fisk til fisk [70-72].

Genetiske varianter/strainer: Det er ikke gjort undersøkelser for å se på genetisk variasjon hos *N. cyclopteri* og det er heller ingen informasjon tilgjengelig som indikerer at det finner mer eller mindre virulente varianter av denne parasitten.

Påvisningsmetodikk: Infisert fisk kan ha utstående øyne og ved obduksjon kan de ha svulne nyrer, men infeksjonene kan også være uten symptomer [52]. I laboratoriet påvises parasitten med klassiske histologiske metoder (HE, Giemsa), Calco-fluor, og molekylære metoder (PCR og DNA-sekvensering av ribosomalt 18S) [52, 67].

Behandling: ingen

Nematoder/kveis: *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova* spp., *Hysterothylacium aduncum*

Kveis (*Anisakis simplex* og *Pseudoterranova* spp.), *Hysterothylacium aduncum* og en rekke andre nematoder/rundorm er vanlige parasitter hos marine fisk [se f.eks. 73]. De representerer sannsynligvis ikke noe stort helseproblem for fisk i oppdrett, men er likevel viktige i forhold til et risikoperspektiv som omhandler bruk av rensfisk i oppdrett. Dette skyldes at kveis kan smitte fra fisk til fisk slik at f.eks. laks kan bli infisert ved å spise rensfisk, at parasitten kan infisere muskel (kjøttet) hos laks og at parasitten dermed kan smitte til mennesker som spiser f. eks. rå fisk.

Anisakis simplex og *Pseudoterranova* spp. har fisk som mellomvert og finnes på indre organer hos fisk mens de voksne individene utvikles i henholdsvis hval og sel. *Hysterothylacium aduncum* har fisk som sluttvert, det vil si at de voksne individene finnes fritt i mage og tarm hos fisken. I tillegg til de voksne

individene av *H. aduncum* i tarmen, kan man også finne larver i både i mage og tarm og innkapslet på bukhuleorganer, særlig mellom pylorusblindsekkene. Alle disse nematodene kan infisere renseskjell, laks i oppdrett (og villaks) og kan altså også infisere mennesker. *Anisakis simplex* er påvist, men er tilsynelatende ikke så vanlig hos leppefisk [74], men den er ikke uvanlig å finne på lever hos rognkjeks [51]. *Hysterothylacium aduncum* sies å være alminnelig forekommende på innvøllene hos rognkjeks [51]. *Pseudoterranova* spp., kan forekomme i muskulaturen hos leppefisk nær selkolonier [74]. *Anisakis simplex* er også utbredt hos vill laks og også påvist i både muskel og på innvøll hos taperlaks i norsk oppdrett [75]. *Hysterothylacium aduncum* er også påvist på og i innvøll hos taperlaks [75].

Fisk som oppdrettes i åpne merder, slik som er mest vanlig i norsk oppdrett i dag, kan bli infisert av kveis via krepsdyr (mellomverten) som kommer inn i merden via vannet og ved å spise andre infiserte fisk (f.eks. laks som spiser renseskjell). Flere studier av oppdrettslaks viser at de er negative for *A. simplex* [se f. eks. 76, 77], og European Food Health Authority regner sannsynligheten for at oppdrettsfisk skal bli infisert som neglisjerbar siden de kun fores med tørrfor/pellets [EFSA Panel on Biological Hazards, BIOHAZ 78]. EUs matsikkerhetsorgan EFSA har på bakgrunn av dette gitt norsk oppdrettslaks dispensasjon fra frysekravet for fisk som skal konsumeres rå. En nylig påvisning av *A. simplex* og *H. aduncum* på taperfisk [75] og det faktum at oppdrettslaks ofte er infisert av bendelmarken *Eubothrium crassum*, som også overføres via krepsdyr, viser imidlertid at det er en sannsynlighet for at også oppdrettslaks beregnet for konsum kan bli infisert med kveis.

Patologi/ Sykdomstegn/Virulens:

Kveis er generelt ikke ansett som noe stort problem for fisk selv om noen fiskearter kan ha svært høye infeksjoner. Imidlertid har infeksjoner med *Anisakis simplex* hos vill laks vist seg å resultere i såkalt blodgatt («*red vent syndrome*»), det vil si svullent og blodig vev rundt gattåpningen [79, 80]. Det kan imidlertid ikke utelukkes at infeksjoner med nematoder, slik som *H. aduncum*, i tarmen, kan gi dårligere vekst. Hos mennesker kan kveis forårsake allergiske reaksjoner og sykdom (anisakiose) hvis de spiser rå fisk eller fisk som ikke er behandlet slik at *Anisakis*-larvene er døde. Anisakiose kan være karakterisert med sterke smerter i mellomgulvet. Sykdommen er vanlig i kulturer hvor det spises mye rå fisk (f.eks. sushi), slik som i Japan. For fisk som er frosset før konsum eller som er kokt, stekt, saltet over lang tid eller tørket, vil dette ta livet av larvene og de vil dermed ikke utgjøre en smitterisiko for mennesker.

Genetiske varianter/strainer: Det er publisert studier som viser stor genetisk variasjon hos f.eks. *Anisakis simplex*, men det er ikke kjent forskjeller i virulens for forskjellige varianter [81].

Påvisningsmetodikk/diagnostikk: Nematoder ses med det blotte øyet på innvøll og kan påvises i muskel ved gjennomlysning av filet eller ved fordøyelse av muskelvevet slik at parasittene frigjøres. Parasittene kan identifiseres ved hjelp av morfologi eller med molekylære metoder (PCR og DNA-sekvensering av de nukleære eller mitokondrielle markører (henholdsvis internal transcribed spacer; ITS og Cytochrome C oxydase subunit 2; COX2) [75, 79, 81, 82].

Behandling: ingen

4.2.2 Smittesikoverurdering for parasitter

Paramoeba perurans

P. perurans har allerede vist seg å kunne smitte mellom rensefisk og laks i oppdrett og kan utvikle sykdom i en rekke fiskearter, inkludert rensefisk og laks. Denne parasitten anses derfor som den viktigste å ta hensyn til når det gjelder vurdering av smitterisiko ved bruk av rensefisk og den er også viktig som patogen for rensefisken selv. Villfanget rensefisk vil kunne være infisert og kunne smitte laks og den vil potensielt også kunne smitte ville bestander. Villfisk bør screenes for *P. perurans* før flytting, og flytting må særskilt unngås til AGD frie områder. Det finnes ikke en offentlig tilgjengelig oversikt over utbredelsen til *P. perurans*/AGD siden sykdommen/agenset ikke er meldepliktig

Nucleospora cyclopteri

N. cyclopteri er vertspesifikk, men en kan ikke utelukke direkte smitte mellom fisk. Den anses som et potensielt stort problem for oppdrett av rognkjeks, men vil sannsynlig ikke smitte laks. Hvis parasitten smitter direkte, kan den medføre en risiko for smitte til populasjoner av vill rognkjeks, men sannsynligvis er den så vanlig forekommende hos vill rognkjeks allerede at dette vil bety lite.

Kveis

Nematoder som kan finnes i kjøttet hos fisk, slik som *A. simplex* og *Pseudoterranova* spp., utgjør en fare for infeksjon og sykdom hos mennesker. Dette fordrer at de spiser infisert fisk som ikke er behandlet slik at parasittene dør. Selv om kveis ikke er påvist hos oppdrettslaks til konsum i dag, men kun hos taperfisk, så er det ikke usannsynlig at også større laks vil kunne bli smittet gjennom å spise rensefisk. Det kan spekuleres i om bruk av rensefisk vil øke sannsynligheten for at laksen blir infisert av nematoder når de spiser rensefisk. Muligens vil sannsynligheten for at laksen spiser rensefisk kunne øke i forbindelse med sulting av fisken før f.eks. slakt og behandling. Hvis konsumfisk blir infisert vil det utgjøre en stor risiko i forhold til salg av laksen på grunn av muligheten for infeksjon og sykdom hos mennesker når de spiser laks. Nylige undersøkelser gjennomført i lakseanlegg som bruker leppefisk indikerer imidlertid at dette ikke har medført en økning i påvisning av *A. simplex* i laksen. Av 4184 laks, både produksjonsfisk og taperfisk, fra 37 lokaliteter i hele landet ble det kun påvist *A. simplex* i 1 taperfisk [83].

Hysterothylacium aduncum er også påvist på laks, men i og med at den ikke finnes i muskel hos fisken er sannsynlighet for smitte til mennesker neglisjerbar. Påvisning av denne nematoden er da mer et estetisk problem.

Et hvert funn av nematoder på konsumlaks, selv om det ikke er i muskel, vil imidlertid vise at laksen kan være infisert av nematoder og dermed være et stort omdømmeproblem for næringen. For produsenter som produserer laks som er beregnet til å spise rått, vil en påvisning i konsumlaks være svært alvorlig. Det er sannsynligvis liten risiko for rensefisken forbundet med infeksjoner med nematoder, men det kan ikke utelukkes at de påvirker veksten negativt.

4.3 Virus

Det er for tiden ingen krav om rutinemessig testing av rensefisk i bruk i norsk oppdrettsnæring for virale agens. Det er kjent at noe testing forekommer i regi av næringsaktører, men disse resultatene er ikke offentlig tilgjengelige. Det må likevel antas at det ikke er gjort funn av agens som kan forårsake listeførte sykdommer, da dette ville utløse en rapporteringsplikt uavhengig av art. Imidlertid har det blitt gjennomført noe screening av leppefisk, både villfanget - og oppdrettet -, i regi av forskningsprosjekter. Antallet undersøkte fisk har vært begrenset og det er derfor store kunnskapshull knyttet til forekomst av virusinfeksjoner og virusykdommer i rensefisk. Basert på funn

av hemoragisk septikemi virus (VHSV) i rensefisk i andre land i løpet av de siste årene er det en viss bekymring for om dette viruset også kan være utbredt i rensefisk i Norge, noe som kan gi en risiko for overføring av sykdom til regnbueørret. Per i dag er det ikke påvist virale agens i rensefisk som gir listeført sykdom hos laks. Under følger en gjennomgang av virale agens av betydning for norsk oppdrett og hva som til nå er kjent fra rensefisk.

4.3.1 Oversikt virus og rensefisk

VHSV

Viral hemoragisk septikemi (VHS) er en alvorlig fisesykdom som forårsakes av hemoragisk septikemi virus (VHSV). VHSV er et kappekledd negativ-trådet RNA rhabdovirus bestående av 4 ulike genogrupper, og en rekke ulike fiskearter er mottakelige for dette viruset. Infeksjon med VHSV er meldepliktig i World Organisation for Animal Health (OIE).

I desember 2012 ble VHSV isolert fra leppefisk i et kommersielt forsøksanlegg på Shetland. Fisken var villfanget fra vestkysten av Skottland og ble holdt i anlegget i påvente av bruk i oppdrettsanlegg for laks. Etter observert dødelighet i anlegget, ble 30 leppefisk prøvetatt. Den dominerende arten var gressgylt (25 stk), men også bergnebb (2 stk), grønnngylt (2 stk) og blåstål/rødnebb (1 stk) var representert. Levende virus kunne isoleres i cellekultur fra samtlige 30 fisk, og ved qPCR ble VHSV påvist i 27 av 30 fisk. Etterfølgende molekylær karakterisering viste at viruset tilhørte VHSV genotype III [84], samme genotype som førte til et utbrudd av VHS i regnbueørret i Norge i 2007 [85]. Etter den første påvisningen av VHSV i leppefisk, ble smittesporing utført og det ble funnet VHSV i leppefisk fra til sammen 5 oppdrettslokalteter for laks på Shetland. I tillegg til de 4 leppefiskartene nevnt over, ble VHSV også påvist i berggylt i denne screeningen. Atlantisk laks på de fem lokalitetene ble også screenet for VHSV, uten funn av virus. Deretter ble det utført en screening av 1400 ville marine fisk i samme geografiske område, og VHSV med stor genetisk likhet til virus funnet i leppefisk ble påvist i 5 marine fiskeslag. Opprinnelig smittereservoar og smittevei for sykdomsutbruddet i leppefisk er uklart, men den mest sannsynlige forklaringen er at lokal marin villfisk var kilde for VHSV i leppefisken [86].

I en PCR-screening utført i 2012 av til sammen 107 ulike leppefisk, både villfanget og fra oppdrett i Norge, ble det ikke påvist VHSV [87].

I september 2015 ble det rapportert om påvisning av VHSV i et anlegg med rognkjeks på Island. Fisken var villfanget og var tiltenkt som stamfisk for produksjon av rensefisk. Levende virus ble isolert i cellekultur, og VHSV ble bekreftet ved RT-PCR. Videre karakterisering av viruset pågår i EUs referanselaboratorium i Danmark. Infeksjonen er rapportert som subklinisk. (http://www.oie.int/wahis_2/temp/reports/en_imm_0000018938_20151023_160427.pdf).

IPNV

Infeksiøs pankreas nekrose (IPN) er en endemisk forekommende sykdom i norsk fiskeoppdrett og er forårsaket av IPN-virus (IPNV). Viruset er et nakent, dobbeltrådet RNA-virus og tilhører birnavirusfamilien. En rekke fiskeslag er mottakelige for IPNV, og viruset har forårsaket sykdom i både laks, regnbueørret og kveite i oppdrett i Norge. Viruset er vist å kunne overføres vertikalt. Gjennom eksperimentell smitte er det vist at bergnebb er mottakelig for IPNV. I dette studiet kunne virus påvises etter badsmitte i nesten alle individer, og det ble påvist nekrose i pankreas en uke etter smitte. Antallet fisk med patologiske funn sank imidlertid raskt. Levende virus kunne også påvises i

avføring, med de høyeste virusmengdene 2 uker etter infeksjon. Ingen dødelighet ble observert [88]. I et kohabitant smitteforsøk med rognkjeks ble det påvist smitteoverføring fra fisk intraperitonealt injisert med IPNV til kohabitanter i samme kar. Levende IPNV ble påvist i hodenyreprøver 6 uker etter smitte. Ingen dødelighet eller andre makroskopiske sykdomstegn ble påvist [89]. Det er utført flere screeninger for IPNV i villfanget leppefisk uten funn av IPNV [78, 87, 90, 91]. I en screening av leppefisk brukt i lakseoppdrett, ble IPNV påvist i gjellevev fra bergnebb og grønnngylt i to av tre anlegg med fastsatt IPN-diagnose og i tillegg i én grønnngylt fra et anlegg uten IPN-diagnose. Det påviste viruset hadde genetisk likhet med virus påvist i laks i samme anlegg. I samtlige fisk var det kun gjellevev som var positivt, noe som indikerer at virus utskilt i vann fra infiserte laks kan ha kontaminert gjellene hos leppefisken [87].

Fiskenodavirus

Fiskenodavirus er et nakent enkelt-trådet RNA-virus tilhørende betanodavirusfamilien.

Viruset er påvist i en rekke marine fiskeslag, og forårsaker viral encefalopati og retinopati (VER) og viral nervøs nekrose (VNN); sykdommer som angriper sentralnervesystemet. I Norge er viruset påvist hos både kveite, torsk og piggvar i oppdrett. Ved PCR-screening av 94 leppefisk i 2012, ble nodavirus påvist i hjerne hos 3 villfangede berggylt fra Trøndelag [87]. Det påviste viruset viste stor likhet med nodavirus fra torsk. Forsøk på å isolere levende virus lyktes ikke, men PCR-påvisning i hjerne som er målorgan for nodavirus styrker betydningen av funnet og antyder at berggylt kan være en mottakelig art for fiskenodavirus.

PRV

Piscine orthoreovirus (PRV) er et nakent dobbelttrådet RNA-virus som tilhører Reovirusfamilien. Ulike reovirus er påvist i en rekke fiskeslag og er påvist i villaks, makrell og sild i Norge [92]. Hos laks er viruset assosiert med sykdommen hjerte – og skjelettmuskel betennelse (HSMB) [93]. Ved screening av oppdrettsanlegg for laks kunne PRV påvises hos leppefisk i 5 av 10 anlegg [87]. PRV kunne også påvises i laks fra de samme anleggene. Majoriteten av påvisningene ble gjort i gjellevev og kan skyldes kontaminering fra smittet laks gjennom vannet, men virus kunne også påvises i hjertevev hos 1 bergnebb og 1 grønnngylt. Disse påvisningene var imidlertid svært nær deteksjonsgrensen, og kontaminering under prøvetaking eller prosessering kan derfor ikke utelukkes. Hvorvidt rensefisk er mottakelig for PRV er derfor fremdeles ubesvart.

ILAV, SAV og PMCV

Infeksiøs lakseanemivirus (ILAV), salmonid alphavirus (SAV) og piscine myocarditis virus (PMCV) er virale agens som er utbredt i norsk fiskeoppdrett, men de har aldri blitt påvist i rensefisk.

Det er gjennomført smitteforsøk hvor både bergnebb og berggylt er forsøkt smittet med SAV, uten sykdom eller produksjon av virus i fisken [87, 94]. Virus er heller ikke påvist ved screening av fisk fra felt [87].

4.3.2 Smitterisikovurdering virus

IPNV

Det eneste viruset hos laks som til nå er vist å infisere rensefisk er IPNV. Viruset er svært utbredt i norsk fiskeoppdrett, men målrettet arbeid knyttet til avl på resistens og fjerning av «husstammer» i stamfisk- og settefiskproduksjon har gitt en tilbakegang av sykdom forårsaket av IPNV [11]. Resultater fra smitteforsøk med IPNV på bergnebb viste at smittsomt virus blir skilt ut under en pågående IPNV-infeksjon hos denne arten i 5 uker etter smitte. Tilsvarende er vist hos rognkjeks.

Rensefisk som bergnebb og rognkjeks vil derfor kunne være vektor for introduksjon og vedlikehold av infeksjonen i anlegget i perioden et sykdomsutbrudd pågår. Resultatene fra smitteforsøk med bergnebb indikerer imidlertid at perioden med utskillelse av virus fra leppefisk er begrenset [88]. Siden det ikke er gjort funn av IPNV i villfanget rensefisk, og viruset allerede er svært utbredt innen lakseoppdrett, må risiko for bidrag av IPNV-smitte fra rensefisk til laks og til ville fiskearter anses som liten.

VHSV

En rekke leppefiskarter og rognkjeks er mottakelige arter for VHSV. Atlantisk laks er ikke rapportert å være mottakelig, men viruset forårsaker sykdom hos regnbueørret. Opphavet til den lokale VHS-epidemien i Storfjorden i 2007-2008 ble antatt å være smitte fra det marine reservoaret, og VHSV-genotypen som ble påvist i leppefisk fanget i Skottland og satt ut i anlegg på Shetland, er den samme som ble påvist i Storfjorden [84, 85]. Ved kohabitering av rensefisk og regnbueørret har man en mulighet for å få introdusert smitte av VHSV dersom rensefisk er positiv ved utsett eller blir smittet underveis i produksjonen. Det er også potensiale for spredning fra rensefisk til vill leppefisk og rognkjeks og andre mottakelige marine fiskearter.

Fiskenodavirus

Fiskenodavirus er påvist i hjerne hos berggyllt [87]. Imidlertid er salmonider ikke mottakelige arter for dette viruset, og en infeksjon i leppefisk antas derfor ikke å representere en smittefare for laks eller regnbueørret. Det kan imidlertid være potensiale for smitte til annen berggyllt brukt som rensefisk og til andre ville marinfisk arter. Betydningen av dette for ville bestander er ikke kjent.

Risiko i forhold til hittil ukjente virus

Rensefisk kan være sub-kliniske bærere av virus som til nå ikke er kjent. Mulighet for introduksjon av til nå ukjente virus fra rensefisk til salmonider kan derfor ikke utelukkes. En samlokalisering av ulike arter over tid vil øke risikoen for overføring og eventuell adaptering av nye virus, men rensefisk har blitt benyttet i norsk fiskeoppdrett i en del år uten at dette til nå har blitt et problem.

4.3.3 Risiko i forhold til virusenes evne til verts-adaptering

Et kjent fenomen hos ulike virus er verts-adaptering. Dette betyr at viruset endrer seg slik at infeksjon av andre arter er mulig. Kjente eksempler på dette fra human medisin er SARS, Ebola, HIV og influensa. Begrensning av kontakt mellom opprinnelig vert og eventuelle nye verter er viktig for å hindre en slik tilpasning. I tillegg vil tettheten i ny vertspopulasjon være av betydning for spredning av eventuelle adapterte virus [95]. Innen et oppdrettsanlegg hvor tettheten av laks er svært høy, vil det være stor mulighet for spredning hvis en overføring av virus mellom arter og adaptering skulle forekomme. Selv om overføring av virussykdommer fra marine fiskeslag til oppdrettsfisk ikke er dokumentert i konkrete tilfeller, regner vi med at dette har skjedd. VHS-utbruddet på regnbueørret antas som tidligere nevnt å komme av smitte fra det marine reservoaret. Molekylære analyser av SAV-genomet tyder videre på at det har skjedd flere uavhengige introduksjoner av SAV til akvakultur fra et hittil ukjent vilt reservoar [96].

Tabell 5 og 6 oppsummerer påvisninger av virus i vill og oppdrettet rensefisk og laksefisk og angir risiko for overføring av virus mellom artene.

Tabell 5 Virusinfeksjoner i leppefisk, rognkjeks og laksefisk samt risiko for smitte mellom rensefisk og laksefisk.

Virus	leppefisk	rognkjeks	laks	regnbueørret	Trussel rensefisk-laksefisk?
VHSV (VHS)	+	+	-	+	Mulig (regnbueørret)
IPNV (IPN)	+*	+*	+	+	Trolig ikke
Fiskenodavirus (VER)	+	-	-	-	Nei
SAV (PD)	-	-	+	+	Nei
ILAV (ILA)	-	-	+	- #	Nei
PRV (HSMB)	-	-	+	+	Nei
Virus Y	?	?	?	+	Nei
PMCV (CMS)	?	?	+	-	Nei
Pox virus	?	?	+	?	Nei
IHNV (IHN)	?	?	+	+	Nei

*Kun påvist ved eksperimentell smitte

ILA-virus er påvist i regnbueørret fra felt i Norge, men gir ikke klinisk sykdom (upublisert, Veterinærinstituttet)

Tabell 6 Virusinfeksjoner og risiko for smitte fra rensefisk til ville bestander av leppefisk og rognkjeks.

Virus	Påvist vill rensefisk	Smitte rensefisk-villfisk?	Alvorlig trussel?
VHSV (VHS)	Ja	Mulig	Nei
IPNV (IPN)	Nei*	Mulig	Nei
Fiskenodavirus (VER)	Ja	Mulig	Nei
SAV (PD)	Nei	Nei	Nei
ILAV (ILA)	Nei	Nei	Nei
PRV (HSMB)	Nei	Ukjent	Nei
Virus Y	Ukjent	Ukjent	Nei
PMCV (CMS)	Ukjent	Ukjent	Nei
Pox virus	Ukjent	Ukjent	Nei
IHNV (IHN)	Ukjent	Ukjent	Nei

*Kun påvist ved eksperimentell smitte

5 Vaksinasjon – status og fremtidig utvikling

Blant alle tiltak for å hindre infeksjonssykdommer regnes vaksinasjon som det viktigste enkelttiltaket. For at en vaksine skal virke må fisken som vaksineres ha god helse og ha en størrelse der immunsystemet er utviklet til å gi respons på vaksinen. Etter vaksinasjon tar det tid å bygge opp immunitet og det betyr at fisken skal vaksineres i god tid før en forventer at den utsettes for smitte eller smitterisiko. Vaksiner er ikke tilgjengelig for noen av parasittsykdommene i norsk fiskeoppdrett.

5.1 Utvikling av vaksiner til rensefisk

For å oppnå god effekt må vaksinene inneholde antigener som stimulerer til beskyttelse mot de aktuelle patogenene som forårsaker sykdom hos leppefisk og rognkjeks. Berggylt og rognkjeks har godt utviklet immunsystem og de få studiene som er publisert tilsier at en bør kunne forvente god effekt av vaksinasjon og immunstimulering [97-99].

Arbeidet med å lage en god vaksine tar tid av flere grunner. En må ha kartlagt alle de aktuelle patogenene som arten er utsatt for. Flere varianter av en bakterie kan forekomme, for eksempel atypisk *Aeromonas salmonicida* som hyppig forårsaker sykdom både hos leppefisk og rognkjeks. Immunsystemet er så spesialisert at det oppdager disse variasjonene, så om en litt annen variant er årsak til infeksjonen enn den som er i vaksinen, så vil ikke vaksinen virke like godt. Noen studier har tidligere identifisert en sammenheng mellom beskyttelse og vaksineisolater fra samme vert i visse fiskearter [100, 101]. Det er ikke ennå klart hvor viktig valg av vaksinstamme (det vil si bakterietypen som blir brukt i vaksinen) er for å oppnå beskyttelse hos rensefisk.

Nye arter i oppdrett kan også bli syk av bakterier som normalt forekommer i vannet. Sykdom oppstår om fisken er svekket eller blir svekket på grunn av forhold som gir bakterievekst i systemet. Ofte er *vibrio*-bakterier involvert. Vaksiner som benyttes til andre arter kan inneholde slike bakterier, og da er det aktuelt å bruke disse i påvente av at en får laget egne vaksiner til rensefisk. Det kan også være aktuelt å tilføre eksisterende vaksiner «nye» bakterier som er sykdomsfremkallende for rensefisk.

5.2 Vaksiner som benyttes til rensefisk

Det er utviklet en stikkvaksine til leppefisk og både dypp- og stikkvaksine benyttes til rognkjeks. Det er for tiden én produsent som produserer vaksine til leppefisk (autogen vaksine) og to som tilbyr vaksiner til rognkjeks, der én har autogene vaksiner og den andre har ordinære vaksiner. En autogen vaksine til rensefisk inneholder bakterier som er isolert i et definert oppdrettsområde slik at vaksineinnholdet er «spesifikt for anlegget». En autogen vaksine er testet med hensyn på biosikkerhet, men er ikke testet for effekt (beskyttelse). Ordinære vaksiner er testet både for biosikkerhet og for effekt (beskyttelse).

Vaksinen som har blitt utviklet til leppefisk er:

- Autogen trippelvaksine som inneholder 2 isolater av atypisk *Aeromonas salmonicida* og *Vibrio anguillarum* 01. Dette er en stikkvaksine.

Vaksiner som benyttes til rognkjeks er:

- Autogen dyppvaksine som inneholder *Vibrio splendidus*, *Vibrio logei*, *Vibrio ordalii* og *Vibrio anguillarum* O1.
- Autogen stikkvaksine som inneholder atypisk *Aeromonas salmonicida* (to isolater) og *Vibrio anguillarum* O1. Den kan i tillegg inneholde *Moritella viscosa*.
- Ordinær stikkvaksine (ALPHA MARINE micro 4) som inneholder *Vibrio anguillarum* O1 og O2a og b og atypisk *Aeromonas salmonicida*.
- Ordinær dyppvaksine som inneholder *Vibrio anguillarum* O1 og O2a og b.

En kan stille spørsmål ved at *V. splendidus* og *V. logei* er vaksinekandidater, da det ikke foreligger dokumentasjon på at disse er sykdomsfremkallende hos rensefisk. Vi anbefaler at vaksiner til fisk baseres på kunnskap om at det aktuelle patogenet er årsak til sykdom hos arten som skal vaksineres.

Vaksiner med innhold av bakterieisolater som bedre representerer de sykdomsfremkallende bakteriene som isoleres fra rognkjeks er nå under utprøving. En «ny» stikkvaksine testes og denne inneholder ulike isolater av atypisk *Aeromonas salmonicida* som er isolert fra rognkjeks. En har imidlertid ikke resultater fra testing eller felt enda som kan vise entydig om dette vaksineinnholdet gir beskyttelse mot «alle» varianter av bakterier som gir sykdom hos rognkjeks. Arbeidet med vaksinasjon så langt gir god tro på at en vil få frem vaksiner med god effekt.

Så langt er få vaksinasjonsforsøk gjennomført og det er et klart behov for mer testing utover selve innholdet i vaksinene. Av praktiske hensyn ønsker en å vaksinere så tidlig som mulig. Da er det særdeles viktig å ha kunnskaper om fiskens immunkompetanse i de aktuelle fasene. Det er nødvendig med kunnskap om når fisken tidligst kan immunstimuleres med stimulanter eller badvaksiner og å undersøke effekten av dette. En trenger også å undersøke nærmere om når fisken er best egnet biologisk til å respondere på stikkvaksinering og hvor lang tid det tar for å utvikle beskyttende immunitet. En må videre undersøke hvordan temperatur påvirker utviklingen av immunitet. Noen erfaringer er gjort så langt, og disse vil danne et godt og nødvendig grunnlag for videre testing.

5.3 Når kan fisken vaksineres?

Immunkompetanse er mer knyttet til størrelse enn alder. Fisken må ha utviklet de nødvendige organer, celletyper og responsveier med signalmolekyler som skal til for å få spesifikk og varig respons på vaksinen. Igangsetting av en slik immunrespons er en biologisk kompleks prosess. Fisken har et godt medfødt, generelt immunologisk forsvarssystem som den bruker helt fra de tidlige utviklingsstadiene. Dette uspesifikke forsvarssystemet samarbeider med den spesifikke delen som skal respondere på en vaksine. Vaksineprodusentene gir råd om størrelsen på fisken ved vaksinasjon basert på generell kunnskap om biologi og immunsvær hos fisk og fra erfaring. Forskning pågår for å få frem data om hvilken fiske størrelse som vil gi det «beste» immunologiske svaret ved vaksinasjon. Følgende anbefalinger gjelder per i dag:

- Stikkvaksinasjon av leppefisk: over 25 gram.
- Dyppvaksinasjon av rognkjeks, autogen vaksine: over 1 gram.
- Dyppvaksinasjon av rognkjeks, ordinær vaksine: over 1 gram ved første dypp, samt et dypp til minst 4 uker etter første dypp.
- Stikkvaksinasjon av rognkjeks, autogen vaksine: over 10 gram.

- Stikkvaksinasjon av rognkjeks, ordinær vaksine: over 8 gram.

Inntil det foreligger mer kunnskap om immunkompetanse for størrelse og alder på renseskisk anbefales det at en holder seg til de oppgitte størrelsene som en har noe erfaring med til nå.

Mindre fisk enn de anbefalte bør ikke vaksineres med injeksjon uten at en vet at dose og tidspunkt er uttestet, da dette medfører en risiko for at vaksinen ikke virker og det kan ha uheldig virkning på fiskens helse om dosen er for stor. Angående dyppvaksinasjon, så er det indikasjoner på at dypp før stikk resulterer i høyere antistoffnivå (H. Wergeland, pers. med.).

5.4 Vaksinasjon av villfanget leppefisk

Det er levert et mindre antall vaksiner til villfanget leppefisk og alle fangststørrelser er vaksinert. Det er oppdretter(e) som fanger fisk til eget bruk som har vaksinert fisken. Det er lite kjent om erfaringer og effekt av denne vaksinasjonen. Vaksinasjon av villfanget fisk kan ikke anbefales da en ikke kjenner helsestatus på fisken ved vaksinasjonstidspunktet. En forventer også at det er forbundet med et uheldig tilleggs stress for fisken som kan medføre at dens helse forverres.

5.5 Hvor lang tid etter vaksinasjon kan en levere fisken

Det er ikke gjort grundige studier som er offentliggjort enda på hvor lang tid det tar før fisken er beskyttet etter vaksinerings. Vaksineprodusentene anbefaler minst 500 døgngader fra vaksinasjon og til fisken settes ut i sjøen, og at en venter minst 4 uker etter vaksinasjon. Tiden det tar før immunitet utvikles eller oppnås kan være avhengig av vanntemperatur. De ordinære vaksinene er testet i smitteforsøk og en har målt antistoffsvar etter vaksinasjon. Resultater så langt har vist at antistoffnivået øker frem til 8 uker etter en vaksinasjon når det er ca. 12°C i vannet (H. Wergeland, pers. med.). Inntil mer dokumentasjon om hvordan temperatur og tid etter vaksinasjon påvirker immunresponsen, bør en forholde seg til de 500 døgngader som anbefales.

5.6 Andre faktorer som kan virke inn på effekten av vaksinen

Fisken må være frisk, i god biologisk tilstand og leve under gode miljøbetingelser både før og etter vaksinasjonen. Dette stiller krav til blant annet vannkvalitet, temperatur, oksygenering, renhold/hygiene, håndtering og fisketetthet. Disse er velkjente faktorer som har stor betydning for fiskevelferden. Helsestatusen til fisken må være kjent. Dette innebærer at det er prosedyrer for prøvetaking og undersøkelser av fisk som dør. Infeksjonsstatus og gjennomførte behandlinger med for eksempel antibiotika eller formalin i forkant kan virke inn på vaksinasjon og effekten av denne og bør tas hensyn til når vaksiner foreskrives.

Enkelte har bedøvd rognkjeks ved vaksinasjon og overraskende også ved dyppvaksinasjon. Per i dag anbefaler ikke vaksineprodusentene bedøvelse av rognkjeks ved vaksinasjon, da fisken er rolig og ikke reagerer synlig på vaksinsticket. Bedøvelse i seg selv kan være negativt for fisken ved sub-optimal bruk og effekten av ulike midler skal være dokumentert og være tilpasset arten før de tas i bruk. Stikkvaksinerings av ubedøvd fisk innebærer imidlertid at en må ha en god og sikker gjennomføring av vaksinasjonen med hensyn til hvordan fisken håndteres. Tørrlegging bør unngås i størst mulig grad. Ved stikkvaksinasjon vil en ikke forvente at bedøvelse vil virke inn på

vaksineeffekten, basert på kunnskap fra andre arter. Ved bad/dyppvaksinasjon er det unødvendig å bedøve fisken og en kan risikere at vaksinen ikke tas like effektivt opp om fisken er bedøvet.

5.7 Risikofaktorer for at fisken smittes før den settes i sjø med laks

Hygieniske forhold og bakterieflora i oppdrettssystemet vil kunne øke risikoen for smitte og sykdom som skyldes normalt forekommende bakterier. Dette har også sammenheng med vannkvalitet og biomasse.

For å øke lønnsomheten og produksjonsvolumet av rensefisk økes biomassen i karene. Hvor stor biomasse som er forsvarlig med hensyn på infeksjonsrisiko er så langt ikke definert for rognkjeks og berggylt, så her må en bruke en generell god vurderingsevne ut fra alle de tekniske og biologiske forholdene som foreligger, da en vet at risikoen for infeksjoner øker med stor tetthet.

5.8 Risikofaktorer for at vaksinen ikke virker

Innholdet i vaksinen må være relevant for de aktuelle sykdommene. Selv om vaksinen ikke er helt optimal med hensyn til innhold av antigener, kan en imidlertid likevel oppnå effekt. Bakterier kan ha likheter som gjør at vaksinerings mot en variant av bakterien kan gi beskyttelse også mot andre varianter, såkalt kryssbeskyttelse, og i tillegg kommer en positiv effekt av adjuvanten i vaksinen. Den vil da beskytte noe og muligens også stoppe en infeksjon om ikke infeksjonspresset blir for stort.

Skal vaksinen virke må fisken være stor nok ved vaksinasjon. Det vil si at all fisken i gruppen må være stor nok og for rognkjeks, hvor størrelsen per i dag varierer mye, er det et problem at for liten fisk vaksineres. Når en ikke har kunnskap om når immunsystemet er tilstrekkelig utviklet, må en ikke vaksinere liten fisk. En skal derfor ha god sikkerhetsmargin på størrelsen. Fisk som ikke responderer eller er lavresponderer vil være mer mottakelige for smitte og oppformere og spre patogener i systemet før de eventuelt dør.

Fisken bør holdes og vaksineres på en normal veksttemperatur for arten også etter vaksinasjonen i de ukene det tar å bygge opp immuniteten.

5.9 Hvorfor dør vaksinert fisk?

Det dør generelt lite fisk rett etter vaksinasjon om denne utføres riktig og forholdene ellers er gode. Under uttesting av vaksiner i eksperimentelle forsøk ved Universitetet i Bergen er det ikke registrert dødelighet (H. Wergeland, pers. med.). Dødelighet som oppstår etter vaksinasjon kan dette skyldes:

- Feilstikking. Liten fisk blir lett feilstukket.
- Dosen/volumet som injiseres er for stor til liten fisk.
- Fisken er syk/infisert eller sykdom/infeksjon blir utløst på grunn av håndtering i forbindelse med vaksinasjon.
- Ikke oppnådd immunitet. Dersom det går for kort tid etter vaksinasjon vil ikke immunitet være oppnådd og det kan da være faktorer ved transport/håndtering i etterkant av vaksinasjonen som gir ekstra press på fisken slik at sykdom/infeksjon utløses.

- Andre ikke optimale tekniske og biologiske forhold før, under og etter vaksinasjon.
- Dersom en hevder at vaksinen ikke virker når dødelighet oppstår etter vaksinasjonen, må en kunne utelukke at andre faktorer er årsak til eller bidrar sterkt til dødeligheten.

5.10 Vaksinasjon av villfanget fisk

En kjenner ikke helsestatus eller infeksjonsstatus til villfanget fisk. Den er ikke tilvent fôr og en kan derfor ikke vente at den vil ha en god fysiologisk tilstand i tiden etter fangst. Dette kommer i tillegg til at villfanget fisk trolig er særlig stresset og at dette i seg selv øker risiko for utbrudd av sykdom og infeksjon hos fisken. Høy dødelighet under oppbevaring, transport og bruk av villfanget rensefisk er registrert [102], noe som underbygger dette. Studier av innfanget vill leppefisk brukt som rensefisk har vist at kjønnsmoden fisk i gyteperioden er særlig sårbar for bakterieinfeksjoner med påfølgende høy dødelighet [102]. Håndtering ved vaksinasjon vil øke stresset og bedøvelse ved vaksinasjon er ikke grundig uttestet, slik at eventuelle effekter av dette er ukjent. Grunnet både smitterisiko, helsestatus, ernæringsstatus etter fangst og fiskens generelle velferd i laksemerdene (høy dødelighet og usikkerhet om helsetilstand og levetid etter overføring), bør bruken av villfanget rensefisk erstattes av vaksinert, oppdrettet fisk. Det kan derfor ikke gis noen generell anbefaling om å sette i gang vaksinasjon av villfanget fisk.

5.11 Begrensinger for vaksineutvikling

Vaksineprodusentene oppgir at det arbeides med å forbedre vaksinene til rensefisk. De oppgir også at tilgang til aktuelle patogener sinker og hindrer utviklingen. Generelt gjør den mangelfulle oversikten og kunnskap om patogenene som forårsaker sykdom i rensefisk og også den mangelfulle kunnskapen om immunapparatet hos de ulike rensefiskartene, at utviklingen av nye, effektive rensefiskvaksiner vil ta noe tid.

6 Biosikkerhet

Generelt bør man, med rensefisk som med alle andre oppdrettsfisk, så vidt det er mulig, utøve generelt god hygienisk praksis. Dette innebærer å holde generasjoner adskilt, ikke flytte mellom anlegg, brakklegge mellom innsett og så videre. I utgangspunktet er flytting av vill fisk inn i laksemerdene og flytting av rensefisk mellom ulike regioner et klart risikomoment, noe dette dokumentet prøver å gjøre noen vurderinger rundt.

6.1 Flytting av rensefisk mellom regioner

Alle transport av levende organismer utgjør en risiko for spredning av sykdom fra et sted til et annet. Det er videre en spesiell risiko ved flytting over store avstander. I følge Havforskningsinstituttets rapport *Fisken og Havet fra 2010* [103], utgjør norske leppefiskpopulasjoner «små lokale bestander som i liten grad utveksler individer». Vi har lite eller ingen data angående smittestatus innen individpopulasjoner av ville leppefisk. Det er da mulig at individer/adskilte populasjoner kan ha utviklet seg sammen over tid med bestemte smittefremkallende agens innen et begrenset geografisk område. En risiko forbundet med flytting av rensefisk mellom ulike geografiske lokaliteter kan derfor resultere i en introduksjon av nye smittsomme agens til hittil frie områder (se delkapittel «smitte til ville bestander» under). Hvorvidt dette representerer en fare for lakseoppdrett avhenger av mottakelighet for de agens som introduseres.

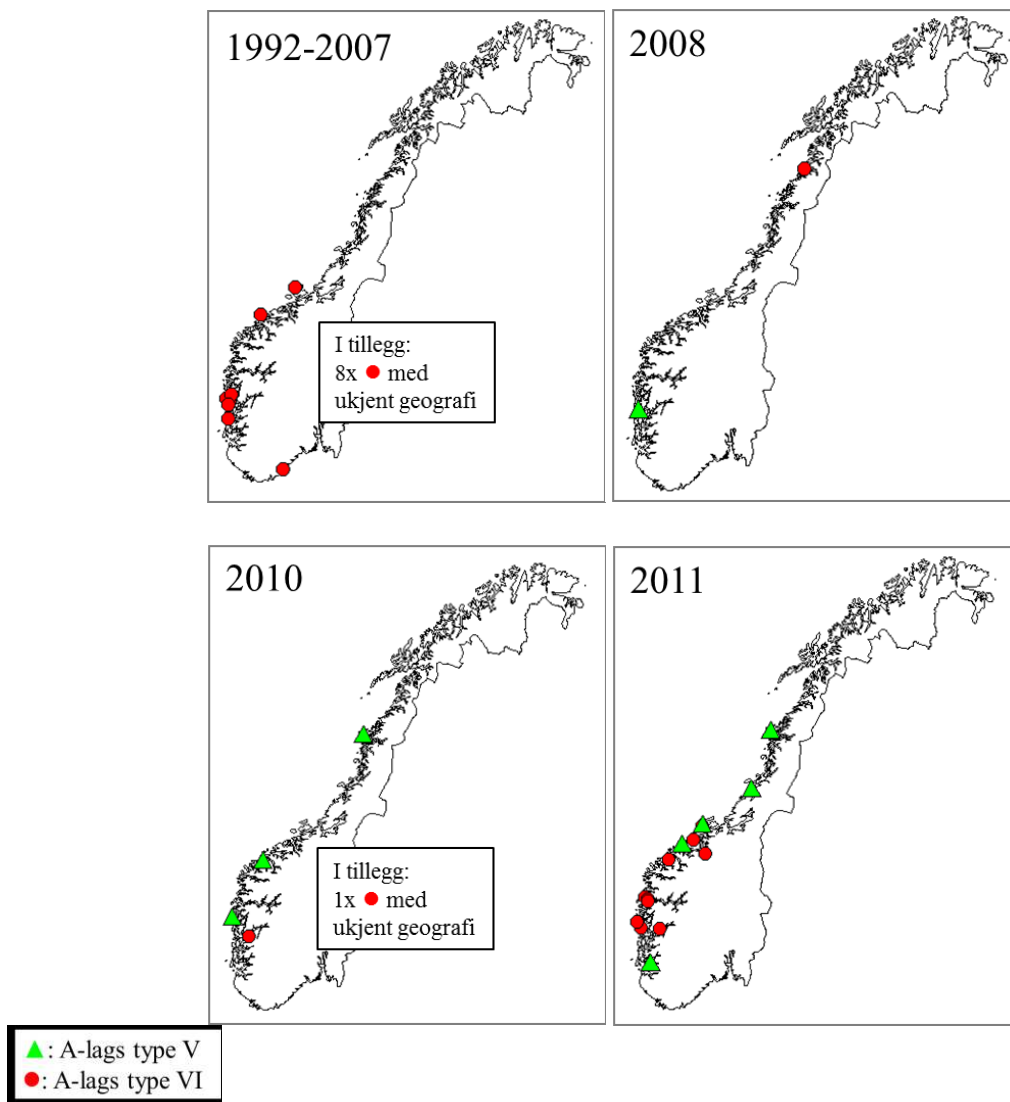
6.2 Risiko forbundet med bruk av villfanget kontra oppdrettet rensefisk

Større utfordringer er forbundet med villfanget rensefisk enn med oppdrettet rensefisk i forhold til stress, helse og risiko for sykdom og dødelighet. Den villfangede fisken har vært gjennom innfangning, håndtering og transport og vil være skjørere og tåle mindre videre håndtering og annen behandling enn oppdrettet fisk. Som nevnt tidligere underbygges dette av erfaringen med generelt for høy dødelighet på villfanget rensefisk [102], selv om det også har vært erfaringer med at villfanget rensefisk i noen tilfeller har hatt bra overlevelse. Kjønnsmoden fisk er vist å være ekstra skjør og dødelighet er registrert etter overføring til laksemerd [102]. Det er utfordringer i forhold til tillatte fangstperioder som overlapper med gytesesongen. Dette gir en uheldig dobbelteffekt; uttak av skjør kjønnsmoden fisk som dør kort tid etter innfangning og utsett i laksemerd, og negativ effekt på bestandsutviklingen. I tillegg kommer effekten av de store uttakene av fisk på bestandsutvikling og bestandsstrukturer. På bakgrunn av alle disse momentene mener vi at man så snart som mulig bør gå over til bruk av oppdrettet rensefisk. Utfordringen ligger klart i å få dekket oppdrettsnæringens behov for rensefisk frem til det produseres tilstrekkelig med oppdrettet rensefisk. I en mellomfase der det fortsatt vil være behov for villfanget rensefisk, må en derfor ta alle mulig hensyn i forhold til å sikre god helse og velferd for fisken både ved fangst og under deres oppholdet i merden.

6.3 Smitte til ville bestander

En vurdering av risiko for smitte til ville bestander for ulike patogener er omtalt i kapittel 3 *Sykdomsagens i rensefisk*. Det er meget vanskelig å bevise at et agens er flyttet fra sted til sted og mellom oppdretts- populasjoner og villfiskpopulasjoner, blant annet på grunn av manglende kunnskap om sykdomssituasjonen i vill rensefisk. Per i dag finnes det kun data for atypisk *Aeromonas*

salmonicida som kan indikere økt utbredelse og dermed økt risiko for smitte til ville bestander. Forskningsresultater publisert av Gulla et al. [4] er forenelig med en økt utbredelse av type V atypisk *A. salmonicida* fra 2008 og utover (se figur 1). Spredningen av denne bakterien kan ha skjedd gjennom transport av villfanget rensefisk, selv om man må ta høyde for at også andre, ukjente faktorer kan ha spilt inn. Uansett, gitt den utpregede infeksjøs karakteren til atypisk *A. salmonicida*, er det sannsynlig at rensefisk smittet med denne bakterien i lagesoppdrettsanlegg representerer en smittefare for lokale bestander av ville rensefiskarter.



Figur 1 Atypisk *Aeromonas salmonicida* Gruppe V. Spredning av en lokal stamme fra 2007-2011.

Selv om kunnskapen fortsatt er for liten, ønsker vi også å knytte noen kommentarer til *P. perurans* (AGD). Utbredelsen til *P. perurans* har flyttet seg stadig nordover siden amøben først ble påvist i Norge, men vi vet ikke enda om dette har resultert i en økning i forekomsten av *P. perurans* hos villfisk eller om den forekommer i villfisk i det hele tatt. Det er generelt liten kunnskap om naturlig reservoar for amøben (sediment, fiskearter, andre organismer). *P. perurans* vil potensielt kunne smitte ville bestander av både rensefisk og laksefisk og det er spesielt alvorlig hvis dette skjer i områder utenfor det nåværende utbredelsesområdet til *P. perurans* i Norge. Innenfor områder hvor

amøben er påvist og det allerede er utbrudd av AGD, vil smittepresset fra de infiserte laksemerkene, og ikke smitte på rensefisk, være det viktigste bidraget til smittepress mot ville bestander.

6.4 Gjenbruk av rensefisk på samme eventuelt annen lokalitet

Ser man bort fra eventuell smitterisiko, virker gjenbruk av overlevende rensefisk fornuftig siden disse fiskene antagelig har tilpasset seg forholdsvis bra til merdmiljøet. Dette vil også gi en bedre utnyttelse og dermed en mer bærekraftig bruk av den viktige ressursen som villfanget rensefisk representerer. Gitt at det ikke har vært påvist problemer med patogenoverføring fra rensefisk til laks i tidligere syklus, er den største risikoen ved slik gjenbruk muligheten for overføring av sykdomsfremkallende patogener fra laksepopulasjon nummer 1 til laksepopulasjon nummer 2 via gjenbrukt rensefisk enten ved passiv eller aktiv overføring.

Av de få bakterier som infiserer både rensefisk og laks, e.g. *Aeromonas salmonicida* (både typisk og atypisk), *Vibrio anguillarum*, *Moritella viscosa* og *Tenacibaculum*, representerer infisert rensefisk en beskjeden infeksjonsrisiko ved gjenbruk. Dette fordi de aller fleste laksene er vaksinert mot disse bakteriene eller at fisk-til-fisk overføring ikke er vurdert som viktigste infeksjonsrute, e.g. *Tenacibaculum*. Risikoen for overføring av alvorlige bakterielle sykdommer fra én laksepopulasjon til en annen er derfor vurdert som liten (med mulig unntak av eventuelt rognkjeks infisert med ASS i endemiske 'infisert vill-laks' områder).

For parasittsykdommer regnes AGD som største risikofaktor. Hvis laksepopulasjon 1 er infisert av *P. perurans* så vil sannsynligvis rensefisken også være smittet, og *P. perurans* smittes over til laksepopulasjon 2 hvis man gjenbruker fisken. Anlegg som har AGD ett år har også stor sjanse for å få det året etter, og det betyr at amøben enten overlever på laksen i anlegget, i miljøet eller begge. Det er kjent at behandlingen mot AGD ikke er 100 % effektiv og at behandlede merder re-smittes ganske raskt fra de andre merkene. Om det ekstra smittepresset fra rensefisk som er smittet av *P. perurans* har noe å si i den anledning er vanskelig å si. Hvis smittet rensefisk flyttes til annen lokalitet som ikke har hatt AGD, eller det settes ut usmittet laks sammen med infisert rensefisk, er det imidlertid en overveiende sannsynlighet for smitteoverføring.

For virus sykdommer (og muligens også for visse parasittsykdommer) er det en risiko for overføring av virus fra én laksepopulasjon til én annen gjennom passiv eller aktiv overføring via rensefisk. Ved samtlige aktuelle virus sykdommer vil det være utskillelse av virus i vannet i varierende mengde avhengig av sykdomsfase. Gjellenes funksjon som filtreringsorgan gjør at store mengder vann passerer gjennom og virus kan feste seg uten at en aktiv infeksjon skjer. Også i andre deler av fisken som er eksponert for vann kan virus tenkes å følge med. Flytting av rensefisk under en aktiv virusinfeksjon kan derfor medføre en risiko for at rensefisken kan fungere som en mekanisk vektor for overføring av smitte, selv om fisken ikke er mottakelig for viruset. Siden virusutskillelse gjerne kommer før kliniske tegn er synlige, kan man risikere å flytte rensefisk fra et anlegg med syk laks uten å være klar over dette. I tillegg vil risiko for adaptering (omtalt under delkapittel 4.3.3) av nye ukjente virus til laks/regnbueørret være høyere jo lengre den nye arten eksponeres for viruset, og allerede adapterte virus vil kunne spre seg til nye populasjoner ved flytting av rensefisk.

6.5 Smitte gjennom predasjon

For noen smittsomme agens, særlig parasitter, er predasjon en normal og nødvendig infeksjonsvei. Kveis, f.eks. *Anisakis simplex*, sprer seg til fisk ved at fisk spiser krepsdyr i vannet og til mennesker ved at mennesker spiser mat som ikke er behandlet på riktig måte. For andre agens representerer predasjon sannsynligvis en passiv, men effektiv overføringsmåte så lenge begge fisketyper (det vil si den som spiser og den som blir spist) er mottakelig for infeksjonen. Oppdrettslaks er kjent for å spise små rensefisk fra tid til annen, men omfanget av slik predasjon er ikke godt dokumentert. Vi vet at laks i oppdrettsmerder får i seg nematoder enten vi krepsdyr eller ved at de spiser småfisk som f.eks. rensefisk, men så langt har nematoder kun blitt påvist på taperlaks [75, 83]. Nematoder påvises ofte ved obduksjon av rensefisk. Dette prøver en nå å få mer kunnskap om i FHF prosjektet «Adferd og artssamspill i laksemerder». Det behøves imidlertid mer forskning på predasjon av rensefisk og eventuell smittefare til oppdrettslaks.

6.6 Screeningmetodikk - muligheter og begrensninger

Screening for ulike patogener gjøres i dag i første rekke med ulike PCR-metoder. Disse metodene er langt mer sensitive enn dyrkningsmetoder som var den rådende påvisningsmetoden tidligere. Dette øker dermed muligheten for å påvise de spesifikke patogenene man leter etter. Imidlertid krever disse metodene at patogenene er kjent og at området av arvestoffet som benyttes til påvisning har liten eller ingen variasjon mellom ulike varianter. Siden patogener ofte tilpasser seg sin vert og derfor er forskjellige hos ulike arter, kan man risikere at en PCR-metode som fanger opp patogener hos salmonider ikke påviser beslektede varianter hos andre arter som rensefisk.

Et annet problem ved bruk av PCR metodikk ved screening for noen fiskepatogene bakterier, er at vi vet for lite om økologien deres til å tolke eventuelle funn. Både anerkjente patogener som *V. anguillarum*, og antatt opportunistiske patogener som *V. splendidus*, *V. tapetis* og *Tenacibaculum* kan være tilstede i store mengder i sjøvann uten at de er direkte koblet til sykdom. Selv om bruk av real-time PCR tillater kvantifisering i prøver fra fisk, blir tolkningen av slike resultater alene ofte vanskelig.

6.7 Det vil alltid være risiko for smittespredning ved transport/utsetting av fisk med ukjent helsestatus. Rensefisken kan være bærer uten selv å bli syk, eller den kan være bærer eller ha infeksjon med patogener som også er sykdomsfremkallende hos frisk og/eller svekket laksefisk. Dette er vanskelig å kartlegge ved screening av villfanget rensefisk, da bare utvalg av patogener kan undersøkes, og disse er nødvendigvis ikke representative for annen fisk hverken fra samme område eller ulike områder som er geografisk nær. Økt kunnskap om mottakelighet og mulighet for overføring av patogener mellom arter er nødvendig og kan fremskaffes gjennom eksperimentelle forsøk. En bedre kartlegging av patogener/ smittestatus hos villfisk brukt som rensefisk langs hele kysten av Norge er også nødvendig. Smitterisiko fra villfanget kontra oppdrettet stamfisk

En kjenner ikke spesifikt til smitterisiko fra villfanget stamfisk for aktuelle rensefiskarter, selv om det er kjent fra andre arter at vertikal overføring av noen patogener kan forekomme. Status for villfanget stamfisk med hensyn til tilstedeværelse av potensielle patogener er i stor grad ukjent og det vil være begrenset mulighet til å påvise disse ved ikke-letal screeningmetodikk, selv om screening av rognvæske i noen grad kan avdekke tilstedeværelse av enkelte patogener. En kan bare undersøke for allerede kjente patogener, og ikke for hittil ukjente virus, bakterier og parasitter som disse artene vil kunne være bærere av. For å få bedre kontroll og redusere potensialet for smitteoverføring fra stamfisk til avkom, arbeider produsentene av rensefisk for å få etablert bruk av oppdrettet stamfisk. Noen har dette på plass allerede. Selv om kontroll med smittestatus vil være bedre med oppdrettet stamfisk, bør det likevel etableres rutiner for screening. Antibiotikabehandling av stamfisk for disse artene vet vi lite om. Ved slik behandling må en oppnå baktericid konsentrasjon og effekt inni egg og melke om det skal hindre smittespredning. Det er kjent at erytromycin har vært benyttet på stamfisk mot *Renibacterium salmoninarium* i en slik sammenheng (Faktaark BKD, Veterinærinstituttet 2015: [http://www.vetinst.no/Faktabank/Bakteriell-nyresjue-BKD/\(language\)/nor-NO](http://www.vetinst.no/Faktabank/Bakteriell-nyresjue-BKD/(language)/nor-NO)). Antibiotikabruk i akvakultur bør begrenses mest mulig av flere grunner, blant annet utvikling av resistens. Regelmessig antibiotikabruk på stamfisk må derfor frarådes.

7 Redusere risiko for smittespredning og sykdom - hva er praksis ved bruk av rensefisk i dag?

Mattilsynet og utvalgte representanter fra næringen er kontaktet i prosjektperioden og bedt om å svare på spørsmål som skal belyse dette med regelverk og rutiner som kan påvirke og eventuelt redusere smitterisiko og sykdom ved anleggene ved bruk av rensefisk.

7.1 Undersøkelse hos lakseprodusenter

Fjorten ulike lakseproduserende selskaper mottok undersøkelsen angående rutiner for hold og bruk av rensefisk, etter først å ha gjennomført en telefonsamtale med prosjektansvarlige. Mottakerne representerer blant annet alle de største oppdrettsselskapene i Norge, og det er fiskehelseansvarlige, rensefisk koordinatore eller lusekoordinatore i selskapene som har svart på undersøkelsen. Av de 14 selskapene som mottok undersøkelsen var det 8 som svarte. Det var få tilbakemeldinger på undersøkelsen i Troms og Finnmark. Dette skyldes hovedsakelig at svært få har tatt i bruk rensefisk i disse fylkene enda.

Spørsmålene som ble stilt var:

Rensefisk er per dags dato underlagt samme lovverk som laks i oppdrett.

- 1. Hvilke rutiner er innført i selskapet i henhold til gjeldene lovverk, eventuelt etter dialog med Mattilsynet?*
- 2. Har dere gått lenger og utviklet egne rutiner uavhengig lovverket og hvis så, hvilke rutiner? For eksempel:
- satt egne krav til leverandør av rensefisk (for eksempel patogenscreening eller annen helsekontroll) før utsett, kontroll av helse og velferd i ulike faser rett etter utsett og i perioden rensefisken er i laksemerd (for eksempel egne rutiner for regelmessig screening for patogener, registrering av dødfisk, tiltak ved sykdom på rensefisk eller laks, veterinærkontroll og fôring)?
-praksis finnes i forhold til transport eventuell transport fra en region til en annen.
-praksis i forhold til gjenbruk av rensefisk på samme eller annen lokalitet?*
- 3. Er det ulike rutiner/tiltak med hensyn til om fisken er villfanget eller oppdrettet?*

Basert på svarene vi fikk synes det som om alle som bruker rensefisk i dag har et visst forhold til den smitterisikoen som er forbundet med dette (se oppsummering av svarene i tabell 7). Det er likevel en vei å gå for å få på plass rutiner som tar hensyn til viktige risikofaktorer. Samtlige sier de følger gjeldende regelverk og de har eget personell som spesifikt følger opp rensefisken. Overraskende få sier at de benytter rensefiskveilederne som er utarbeidet (Lusedata.no), men vi antar likevel at de fleste kjenner til disse. Noen sier de har tatt utgangspunkt i disse standardene ved utarbeidelse av egne interne standarder og rutiner. Ikke uventet er det mange som bruker villfanget rensefisk. Imidlertid svarer bare 2 av 8 selskaper at de kun bruker lokalfanget rensefisk, noen som kan være av betydning for å hindre spredning av nye patogener fra én region til én annen. Man må anta at importen av rensefisk over regiongrenser primært skyldes mangel på lokalfanget rensefisk, selv om dette ikke ble undersøkt spesielt. To av de 8 som svarte på undersøkelsen benytter screening for utvalgte patogener før inntak av rensefisk. Det ble ikke spurt spesielt om hvilke undersøkelser som

gjennomføres på villfanget renseskisk før inntak, men screening er antagelig ikke vanlig, selv om det også forekommer (O. Breck, pers med). Det er imidlertid praktiske utfordringer, og også utfordringer i forhold til gjeldende regelverk, som vanskeliggjør dette. Vi kommer nærmere tilbake til denne problemstillingen i kapittel 6; Forslag til og vurdering av mulige tiltak. Renseskisk er som tidligere nevnt underlagt samme lovverk som laksekisk i oppdrett, og samtlige selskaper svarer da også at renseskisken følges opp av fiskehelsetjenestene på lik linje med laksekisk. Av tiltak som er vist å ha positiv effekt for fiskens helse og velferd, svarer de fleste at de bruker skjul og at de fører renseskisken. Flere har innført rutiner for rengjøring av nøter. Alle har også rutiner for dødfiskregistrering og noen har utviklet egne systemer for dette, uten at det nevnes spesifikt hva dette går ut på. Overraskende få stiller krav til vaksinasjon av renseskisken som de kjøper, dette til tross for at det finnes tilgjengelig vaksiner både for rognkjeks og berggylt. Bruk av vaksinert fisk er svært viktig for å unngå eller redusere omfanget av utbrudd av en del utbredte sykdommer på renseskisk (se også kapittel 4 om vaksinasjon), selv om tilgjengelige vaksiner kanskje ikke er helt optimale.

For få (4 av 8) svarer at de krever helseattest på fisken de tar inn i anleggene sine. Dette burde være standard for både oppdrettet og vill renseskisk. Rutiner og krav i forhold til transport er innført av noen, mens en del hevder at transport over regiongrenser ikke er aktuelt for deres del. En faktor som kan utgjøre risiko for smitte både mellom laksepopulasjoner (ulike utsett) og mellom renseskisk, er gjenbruk. Det synes som at de aller fleste synes det er greit med gjenbruk, for noen kun på samme lokalitet men for andre også på ulike lokaliteter. Selv om flere sier dette skjer i samråd med Mattilsynet og fiskehelsetjenester, vil gjenbruk kunne utgjøre en risiko i forhold til smittespredning og sykdom. Her er det nødvendig med svært gode rutiner for kontroll i forhold til helsetilstanden både til laksekisk og renseskisk, og selv da vil smitterisikoen være høyst reell.

Tabell 7 Oppsummerte svar fra oppdrettselskaper om rutiner ved hold og bruk av rensefisk.

Rutine	Svar (kommentar)
Gjeldende regelverk skal følges	Ja, men noen opplever at regelverket er vagt. Flere svarer at de er i dialog med Mattilsynet om dette
Har eget personell dedikert til rensefisk	Ja (både rensefiskgrupper, rensefiskkoordinatorer og prosjektledere dedikert til rensefisk)
Rensefiskveiledere benyttes	Nevnes av kun 1/8, mens 5/8 sier de har utviklet egne rutiner
Bruk av villfanget rensefisk	6/8 sier de bruker villfanget rensefisk, hvorav 2/6 bruker kun lokalfanget
Bruk av oppdrettet rensefisk	7/8 sier de bruker oppdrettet rensefisk
Patogenscreening	3/8 benytter screening, hvorav 1/3 kun ved høy dødelighet, 1/3 for AGD og pasteurellose og 1/3 for atypisk furunkulose på oppdrettet rensefisk
Spesiell oppfølging av fiskehelsetjenesten	Ja, som for laks
Krav til skjul	6/8 sier de har krav til skjul
Føring	Ja
Dødfiskregistrering	Ja. Noen har utviklet egne rutiner og systemer
Krav til vaksinerings	3/8 sier de stiller krav om vaksinerings
Krav til helseattest	4/8 har krav til helseattest (noen kun oppdrettsfisk)
Rengjøring av nøter	4/8 svarer at de har rutiner for dette
Transport mellom regioner	1/8 svarer ja, men da kun oppdrettet fisk nord for Trøndelag), 5/8 svarer nei eller ikke aktuelt
Transport, annet	1/8 har samme biosikkerhetsstandard ved transport av egenprodusert rensefisk som for laks, 1/8 har krav til helsekontroll ved lossing
Gjenbruk av rensefisk	4/8 svarer ja (gjenbruk både på samme og på annen lokalitet etter dialog med Mattilsynet/ Fiskehelsetjenesten). 2/8 sier det kan bli aktuelt, 1/8 svarer nei.

7.2 Undersøkelse hos Mattilsynet

Mattilsynet ble kontaktet for å få tilbakemeldinger på gjeldende lovverk for rensefisk og eventuelle endringer i lovverket som er under utarbeidelse. Vi ønsket også å få en nærmere informasjon om Mattilsynets praksis i henhold til lovverket med tanke på hvilke kontrollrutiner som finnes, og om det er utarbeidet rutiner som er forankret i Mattilsynet sentralt eventuelt kun på lokalt nivå. Videre ønsket vi tilbakemeldinger på hvordan Mattilsynet praktiserer kontrollen av helse og velferd til villfanget og oppdrettet rensefisk i ulike faser før og etter utsett i laksemerd, hvilken praksis de har for oppfølging av transport og spesielt transport fra en region til en annen. Til sist ønsket vi å vite mer om deres praksis i forhold til gjenbruk av rensefisk på samme eller annen lokalitet.

Henvendelsen ble først sent til et av Mattilsynets regionskontorer etter telefonsamtale med regionleder, men de valgte etter en tids vurdering å videresende dette til Mattilsynets hovedkontor for å gi en uttalelse som var forankret sentralt. Mattilsynet sentral kom med følgende tilbakemelding:

Kort historikk og status på regelverk om rensefisk:

- I 2011 lagde Mattilsynet (MT) på bestilling fra daværende Fiskeri- og Kystdepartementet (FKD) en oversikt over gjeldende regelverk og utfordringer.
- I 2012 sendte daværende FKD forslag til endringer i regelverket om rensefisk på høring.
- I 2014 lagde MT en ny utredning på bestilling fra nåværende Nærings- og Fiskeridepartementet (NFD) med forslag om endringer i regelverk for rensefisk.
- *I 2015 har MT sendt forslag til endringer i akvakulturdriftsforskriften til klarering for høring. Flere av disse endringene berører også rensefisk. MT håper på at de får tilbakemelding fra NFD slik at det kan sendes på høring innen årsskiftet og endringer tre i kraft i løpet av 2016.*

Mattilsynet svarer videre at utover dette så gjelder matloven og dyrevelferdsloven for fangst, transport, oppdrett, bruk og hold av rensefisk. Dette innebærer at all aktivitet skal være fiskehelsemessig og dyrevelferdsmessig forsvarlig. Når det gjelder tilsynspraksis har ikke Mattilsynet laget egne retningslinjer for tilsyn med rensefisk. De konstaterer at det er rask kunnskapsutvikling på området og de vil legge beste kunnskap til grunn for sitt tilsyn. Mattilsynet svarer videre at dersom næringens egen bransjestandard er oppdatert, kan denne være en nyttig kilde både for næring og tilsyn. Mattilsynet ser at det er mye dårlig velferd for rensefisk og at dødeligheten er altfor høy. De vil i økende grad ha fokus på dette ved tilsyn.

Mattilsynet forventninger til næringen er blant annet:

- At alle som fangster, transporterer, oppdretter eller bruker rensefisk gjør dette i henhold til beste kunnskap. Dette innebærer at de tilegner seg og bruker kunnskapen, har motivasjon og nok bemanning, har nødvendig utstyr og tar den ekstra kostanden som kreves for forsvarlig fangst, transport, bruk og hold av rensefisk.
- At beste kunnskap for forsvarlig håndtering og bruk av rensefisk også er innarbeidet i internkontrollsystemene.
- At det arbeides aktivt for å få ned dødeligheten av rensefisk.

På Mattilsynets hjemmesider ligger det informasjon om bruk, gjenbruk og flytting av rensefisk, samt oversikt over gjeldende lover og forskrifter:

http://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/akvakultur/rensefisk.

Mattilsynet kommenterer at dette er publisert i 2012 og kanskje er modent for noe oppdatering. Til sist sier Mattilsynet i sin tilbakemelding at det er vedtatt at det skal gjennomføres en tilsynskampanje med rensefisk en tid i etterkant av at det nye regelverket har trådt i kraft.

I tillegg til dette fikk vi en mer generell uttalelse fra regionskontoret som dreide seg om praksis lokalt. I denne tilbakemeldingen ble det konstatert at laks og rensefisk er sidestilt hva gjelder krav i akvakulturdriftsforskriften med hensyn til driftskrav, helse og velferdsoppfølging. Mattilsynet lokalt opplever at driftsrutiner tilknyttet rensefisk etterspørres spesielt fra oppdretterne, og det er fokus på skjul, fôring, tilvekst, dødelighet og helsemessig oppfølging fra fiskehelsetjenestene. Informasjon fra røktere, driftsledere, dokumentasjon og observasjon på merdnivå er basis i tilsynet slik det praktiseres lokalt. Det innrapporteres avgangsdata på merdnivå hver måned via Altinn/Havbruksdatabasen for laks, mens for rensefisk må data etterspørres aktivt. Oppdrettsvirksomhetene er pålagt å journalføre dataene og de sendes Mattilsynet på forespørsel. Avgangsdata gjennomgås også på fysisk tilsyn. Sjekklisten for tilsyn er basert på bransjeveilederne med hensyn til bruk og hold av rensefisk. Bransjeveilederne benyttes også som rettesnor ved tilsyn, transport og så videre. Erfaringsutveksling skjer inspektørene imellom.

8 Forslag til felles tiltak for næringen for å redusere smitterisiko forbundet med bruk av rensefisk

Oppsummert, viktigste patogener som potensielt kan utgjøre en risiko for salmonider:

- *P. perurans* (AGD)
- VHSV (VHS) (spesielt for regnbueørret)
- Muligens en viss risiko knyttet til stammer av typisk og atypisk *A. salmonicida*, *V. anguillarum* og *P. anguilliseptica*.

Oppsummert, viktigste patogener som potensielt kan utgjøre en risiko for spredning mellom rensefisk og andre marine arter:

- *P. perurans* (AGD) vil utgjøre en risiko for vill rensefisk, spesielt i AGD frie områder.
- Nodavirus (ikke knyttet til sykdom foreløpig). Det er imidlertid lite sannsynlig at bruk av rensefisk i oppdrett vil øke smittepresset på marine fiskeslag når det gjelder nodavirus.
- Det er en vesentlig risiko for spredning av atypisk *A. salmonicida* til vill rensefisk.

8.1 Tiltak av generell karakter

Generelle tiltak som er nødvendig for å redusere risiko for sykdom og smittespredning ved bruk av rensefisk er:

- Økt kompetanse om rensefiskenes biologi til bruk i bl. a. diagnostisk sammenheng.
- Økt kompetanse i diagnostikk av rensefisksykdommer.
- Økt kompetanse om patogener hos rensefisk og mottageligheten hos rensefisk for ulike sykdommer.
- Da vaksinasjon er et svært viktig forebyggende tiltak, bør all oppdrettet rensefisk være vaksinert før utsett i merd. Det må være fokus fremover på utvikling av egnede vaksiner og kritisk vurdering av vaksinekomponenter, det vil si hvilke patogener som inkluderes i vaksinene.
- Økt informasjonsflyt og opplæring om sykdom, helse og vaksinasjon hos rensefiskoppdrettere og driftspersonell som bruker rensefisk.

8.2 Reduksjon av risiko - villfanget kontra oppdrettet rensefisk

Tiltak:

Det viktigste tiltaket for å redusere risiko for sykdom og smittespredning er å gå over til å bruke kun oppdrettet, vaksinert rensefisk. Det må være et mål å kunne oppnå dette i løpet av en 3-5 års periode.

Dette innebærer også bruk av oppdrettet stamfisk. Som omtalt i avsnitt 6.2 kan villfanget rensefisk være skjør etter fangst og transport og tåler dårligere ytterligere påkjenninger sammenlignet med oppdrettet rensefisk. Kjønnsmoden leppefisk er vist å være ekstra skjør, og det er utfordrende å fastsette fangstperioder som helt og fullt gjør at en unngår fangst av slik fisk. Vaksinasjon er et viktig tiltak for å hindre smitte og sykdom og dette er kun aktuelt for oppdrettet rensefisk. Muligheter for å

etablere virusfri stamfisk i oppdrett vil redusere risiko betydelig for introduksjon av virussykdommer til laksefisk.

Ved fortsatt bruk av villfanget renseskisk vil det være viktig å avklare om tiltak som ble innført i 2015 av Fiskeridirektoratet er gode nok for å sikre at fisk av tillatt størrelse fanges og samtidig at kjønnsmoden leppefisk ikke fanges. Et tiltak i denne sammenheng kan være å innføre artsspesifikke og geografiske fangstsesonger. Utfordringene er å få tilpasset dette de regionsvise forskjellene som finnes både på arter, bestandsstørrelser og variasjoner i gytesesong. Det synes som kjønnsmodningen er styrt av temperatur (Ingrid Lein, pers. med.), og årlige variasjoner i havtemperaturene vil dermed spille inn på når fisken blir gyteklar.

Det bør innføres screening for *P. perurans* på villfanget fisk, spesielt med tanke på import av renseskisk til AGD frie områder, da denne amøben utgjør en reell trussel for laks og ville renseskiskarter. Det vil kreve noe tid fra prøver er tatt til man har analysesvaret klart og i denne tiden må fisken oppbevares et sted, i karantenemerder eller lignende. Lovverket som gjelder i dag kan imidlertid være til hinder for at dette skal kunne gjennomføres. Å plassere fisk i egne merder krever konsesjon for dette. Ansvarlige myndigheter og brukere av renseskisk må derfor gå sammen for å finne lovmessige og praktiske løsninger på denne utfordringen.

8.3 Bruk av innfanget kontra oppdrettet stamfisk

Vertikal smitterisiko og bruk av screening og medisinerer av stamfisk for å redusere risiko for vertikal smitte

Tiltak:

Smittefrie, domestiserte stamfiskpopulasjoner må være målet og det bør arbeides aktivt for å kunne innføre dette i løpet av få år. Det bør videre innføres testing (screening) av stamfisk, særlig hvis fisken skal kastes uansett, og av enkelte rognpartier med PCR metodikk. Det er en utfordring at det foreløpig ikke er mulig med screening basert på ikke-letale prøver.

Antibiotikabehandling kan redusere problemene, men gjerne bare midlertidig. Som langsiktig strategi vil vi ikke anbefale dette, blant annet på grunn av resistensproblematikk og fare for at det kan etableres en bærertilstand av enkelte patogener.

8.4 Risiko for smitte fra renseskisk til ville bestander

Tiltak:

Det bør iverksettes tiltak for å hindre rømming, og en bør ikke slippe ut renseskisk etter bruk. Angående utslipp er dette spesielt viktig når renseskisken ikke er av lokalt opphav. Aktører i næringen anbefales å sammen utarbeide en «beste praksis» på dette området som bør følges av alle. En regionalisering kan være et viktig tiltak for å hindre at nye patogener kommer inn i et område, for eksempel *P. perurans*. Det er ukjent om det finnes geografiske varianter av parasitter, men føre-var prinsippet tilsier at ingen villfangede renseskisk bør flyttes over lengre avstand/mellom regioner.

8.5 Gjenbruk av renseskisk på samme eller annen lokalitet

Tiltak:

Vi vil ikke anbefale gjenbruk av rensefisk på annen lokalitet da dette både kan spre ikke påviste sykdommer (rensefisk som mekanisk vektor) og øke risikoen for introduksjon av nye agens/sykdommer. Om gjenbruk skal praktiseres på samme lokalitet må helsestatus være god, man må utføre patogen screening og ha karantenetid i screeningperioden. All gjenbruk må gjøres i samråd med Mattilsynet og fiskehelsetjenestene. Karantenetid bør alltid brukes før rensefisken overføres til nye merder med laks, da en kan observere rensefiskens tilstand over noen uker etter at den er tatt ut fra laksemerd. Uten karantenetid bør den ikke gjenbrukes ut fra føre var prinsippet.

Forutsatt gitte forutsetninger relatert til helsekontroll, utgjør gjenbruk på samme eller neste generasjon laks liten risiko med hensyn til bakterielle sykdommer. En må imidlertid her også skille mellom risiko i forhold til bruk på samme anlegg/lokalitet kontra overflytting til annen lokalitet. Det er en risiko for spredning av *P. perurans* (AGD) til laks og for andre parasitter (*N. cyclopteri*) til andre rognkjeks. Ved tilstedeværelse av ukjente patogener vil ikke screening kunne avsløre dette. Det er også knyttet en risiko til gjenbruk av rensefisk i forhold til tilpasning av eventuelle virus fra rensefisk til ny vert. Ved å passere generasjonskillene hos laksen økes risikoen; virus får lenger tid til å endre seg. Hvis man skal ta hensyn til dette, må man innføre en praksis med «all in, all out» som også inkluderer rensefisk. Med god helsekontroll og screening for kjente virus vil likevel risikoen ved gjenbruk på samme lokalitet være relativt lav.

8.6 Smitterisiko i forbindelse med uttak av rensefisk fra merd (ved behandling, sanering, slakting og flytting av laks)

Tiltak:

Vi anbefaler å innføre felles retningslinjer for uttak av rensefisk fra merd i forbindelse med for eksempel behandling, sanering, slakting eller flytting av laks. Rensefisk som rømmer i forbindelse med tømning av merd og rensefisk som står igjen fordi en ikke får fisket ut alt utgjør en smitterisiko. Suksessraten ved utfisking av rensefisk er variabel og metodene som benyttes er forskjellige fra anlegg til anlegg. Erfaringer rundt dette bør samles og det bør utarbeides en felles bransjestandard.

I forbindelse med AGD behandling av laks kan det eksempelvis være økt smitterisiko til laksen som har blitt behandlet, hvis rensefisken som tas ut før behandling er smittet med *P. perurans* og settes tilbake til laksen. Det er imidlertid vanskelig å vurdere om dette gir mye økt smittepress i forhold til det som kommer fra de andre laksemerdene. Dette vil også være avhengig av behandlingsstrategi.

8.7 Screening som verktøy for å redusere risiko?

Tiltak:

Det er forbedringspotensialer på helseattestasjonen som utføres i forhold til å redusere smitterisiko. Screening ved bruk av PCR er en sensitiv metode bør benyttes i større grad. En vil imidlertid bare kunne identifisere kjente patogener. Karantene der testing/screening inngår vil ytterligere øke sjansen for deteksjon av kjente patogener i en populasjon. I forhold til bruk av karantene: Å plassere fisk i egne merder krever konsesjon for dette. Ansvarlige myndigheter og brukere av rensefisk må derfor gå sammen for å finne lovmessige og praktiske løsninger på denne utfordringen.

Selv om en ikke innfører screening for flere patogener som standard, vil det som tidligere nevnt være noe å vinne på å screene for *P. perurans* (AGD). Dette for å hindre spredning til AGD-fire områder og

til anlegg som nylig har behandlet mot AGD. En obduksjon i tillegg til screening vil kunne gi mer informasjon, men er arbeidskrevende og det behøves mange fisk. Dette ansees derfor ikke som mulig å gjennomføre rutinemessig.

8.8 Kan bruk av rensfisk bidra til risiko for pålegg om nedslakting av laks?

Vurdering:

Ved påvisning av eksotisk listeført agens/sykdom (for eksempel VHSV/VHS) vil nedslakting og sanering være aktuelt. Tidligere utbrudd av VHS på regnbueørret forårsaket av VHSV av marint opphav, samt nylig påvisning av VHSV i både villfanget leppefisk og rognkjeks (i henholdsvis Skottland og Island), gjør at man må være ekstra oppmerksom og ta forholdsregler ved eventuell påvisning av dette viruset. Hvorvidt Mattilsynet har lovhjemmel til å pålegge utslakting av laksefisk hvis agens utelukkende påvises i rensfisk er usikkert. Det er derfor et behov for en utredning omkring hva som blir konsekvensene ved påvisninger av patogener hos rensfisk som regnes som eksotiske. Spørsmålet her er blant annet om en ser på all fisk i lokalitetene under ett eller skiller mellom artene. Norge har fri-status fra VHS og vi antar at dette ønskes opprettholdt. Dette vil selvsagt også gjelde infeksjøs hematopoietisk nekrose (IHN) virus og andre virussykdommer som regnes som eksotiske i Norge

8.9 Risiko forbundet med bruk av påvekstanlegg for rensfisk

Med påvekstanlegg menes her anlegg på land som overtar yngel fra annet anlegg for påvekst før utsett i merder med laksefisk i sjø. Som i all akvakultur vil oppblomstring av sykdom kunne forekomme under høyere tettheter enn i naturen. Dermed vil det også være en sykdomsrisiko forbundet med bruk av påvekstanlegg. Blanding av fisk fra flere produsenter/produksjonsheter kan bidra til økt sykdomsrisiko.

Tiltak:

Generelle smittereduserende tiltak, det vil si jevnlig kontroll av helsestatus (screening) og tiltak som behandling/kontroll av vannkilde, god hygiene, gode oppdrettsbetingelser og god velferd for fisken.

8.10 Sporbarhet

Sykdomsutbrudd må påregnes innen oppdrett av fisk, og det er da viktig at en kan fastslå smittekilde og tidspunkt for smitte for å kunne bekjempe og kontrollere sykdomsspredning. Ved UiB har man blant annet sett på dette i en periode med mange utbrudd med *Pasteurella* sp. på rognkjeks (H. Wergeland, pers. med.). Per i dag er det vanskelig å spore opphav og distribusjon av rensfisk, egg og larver. Ved sykdomsutbrudd er dette viktig for å kunne følge samme produksjonsfisk og derigjennom finne smittetidspunkt. Smittes den underveis i produksjonen eller på stedet den er transportert til? Det er helt nødvendig med gode rutiner både hos produsentene og brukerne av rensfisk for å kunne fremskaffe relevant informasjon. Innblanding av fisk fra flere produsenter i samme merd, samtidig eller ved at en supplerer med fisk etter hvert, gjør at en ikke vet hvor den syke fisken kommer fra. Her kan det for eksempel være aktuelt med karantenetid etter (lang) transport for å se om en får stressutløste sykdomsutbrudd. Det skal ikke settes ut ny fisk dersom det er sykdom blant fisken i merden. Det vil si at en ikke kan erstatte rensfisk mens det dør fisk (ref. Akvakulturdriftsforskriften).

Manglende registrering av rensefisk i merdene underveis i produksjonen eller ved utslakting gjør at en ikke kjenner status til fisken – har den forhold som gir god helse og velferd eller dør den underveis? Dør fisken grunnet oppdrettsforholdene er dette et alvorlig velferdsproblem som må løses.

9 Referanser

1. Karlsbakk, E., Review of the parasites (virus, bacteria, fungi, protists and metazoans) reported from lumpsucker (*Cyclopterus lumpus* L.) in prep.
2. Karlsbakk, E., Review of the parasites (virus, bacteria, fungi, protists and metazoans) reported from labrid species used as cleanerfish in salmonid aquaculture. in prep.
3. Treasurer, J.W., Diseases of north European wrasse (Labridae) and possible interactions with cohabited farmed salmon, *Salmo salar* L. Journal of Fish Diseases, 2012. 35(8): p. 555-562.
4. Gulla, S., et al., *Aeromonas salmonicida* infection levels in pre- and post-stocked cleaner fish assessed by culture and an amended qPCR assay. J Fish Dis, 2015.
5. Kvenseth, A.M., Wrasse - do they transfer diseases to salmon?, in Caligus. 1998. p. 2-4.
6. Collins, R.O., D.A. Ferguson, and M.A. Bonniwell, Furunculosis in Wrasse. Veterinary Record, 1991. 128(2): p. 43-43.
7. Treasurer, J.W., Cox, D., The occurrence of *Aeromonas salmonicida* in wrasse (Labridae) and implications for Atlantic salmon farming. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 1991. 11(6): p. 208-210.
8. Treasurer, J.W. and L.A. Laidler, *Aeromonas-Salmonicida* Infection in Wrasse (Labridae), Used as Cleaner Fish, on an Atlantic Salmon, *Salmo-Salar* L, Farm. Journal of Fish Diseases, 1994. 17(2): p. 155-161.
9. Gulla, S., et al., vapA (A-layer) typing differentiates *Aeromonas salmonicida* subspecies and identifies a number of previously undescribed subtypes. J Fish Dis, 2015.
10. Toranzo, A.E., B. Magarinos, and J.L. Romalde, A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. Aquaculture, 2005. 246(1-4): p. 37-61.
11. Borno, G. and M. Lie Linaker, Fiskehelserapporten 2014. 2015, Veterinærinstituttet: Harstad.
12. Pedersen, K., et al., Extended serotyping scheme for *Vibrio anguillarum* with the definition and characterization of seven provisional O-serogroups. Current Microbiology, 1999. 38(3): p. 183-189.
13. Colquhoun, D.J. and A. Lillehaug, Vaccination against vibriosis. Fish Vaccination, 2014: p. 172-184.
14. Kusuda, R. and M. Yamaoka, Etiological Studies on Bacterial Pseudotuberculosis in Cultured Yellowtail with *Pasteurella-Piscicida* as Causative Agent .1. Morphological and Biochemical Properties. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1972. 38(12): p. 1325-1332.
15. Valheim, M., et al., Varracalbmi: a new bacterial panophthalmitis in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Journal of Fish Diseases, 2000. 23(1): p. 61-70.
16. Birkbeck, T.H., et al., *Pasteurelia skyensis* sp nov., isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002. 52: p. 699-704.
17. Alarcón, M., et al., Pasteurellosis in lumpsucker *Cyclopterus lumpus*, farmed in Norway. Journal of fish diseases, 2015. DOI: 10.1111/jfd.12366
18. Schiewe, M.H. and J.H. Crosa, Molecular characterization of *Vibrio anguillarum* biotype 2. Canadian Journal of Microbiology, 1981. 27(10): p. 1011-1018.
19. Schiewe, M.H., T.J. Trust, and J.H. Crosa, *Vibrio-Ordalii*-Sp-Nov - a Causative Agent of Vibriosis in Fish. Current Microbiology, 1981. 6(6): p. 343-348.
20. Thompson, F.L., et al., The genus *Listonella* MacDonell and Colwell 1986 is a later heterotypic synonym of the genus *Vibrio* Pacini 1854 (Approved Lists 1980) - a taxonomic opinion. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011. 61: p. 3023-3027.
21. Balboa, S., H.W. Ferguson, and J.L. Romalde, Phenotypic, serological and genetic characterization of *Pseudomonas anguilliseptica* strains isolated from cod, *Gadus morhua* L., in northern Europe. Journal of Fish Diseases, 2007. 30(11): p. 657-664.
22. Lopez-Romalde, S., et al., Existence of two O-serotypes in the fish pathogen *Pseudomonas anguilliseptica*. Vet Microbiol, 2003. 94(4): p. 325-33.

23. Wiklund, T. and G. Bylund, *Pseudomonas-Anguilliseptica as a Pathogen of Salmonid Fish in Finland*. Diseases of Aquatic Organisms, 1990. 8(1): p. 13-19.
24. Lonnstrom, L., T. Wiklund, and G. Bylund, *Pseudomonas-Anguilliseptica* Isolated from Baltic Herring *Clupea-Harengus-Membras* with Eye Lesions. Diseases of Aquatic Organisms, 1994. 18(2): p. 143-147.
25. Muroga, K., Jo, Y., Sawada, T., Studies on red spot disease of pond-cultured eels II. Pathogenicity of the causative bacterium, *Pseudomonas anguilliseptica*. Fish Pathology, 1975. 9: p. 107-114.
26. Ferguson, H.W., et al., *Pseudomonas anguilliseptica* infection in farmed cod, *Gadus morhua* L. Journal of Fish Diseases, 2004. 27(4): p. 249-253.
27. Lunder, T., et al., Winter Ulcer in the Atlantic Salmon *Salmo-Salar* - Pathological and Bacteriological Investigations and Transmission Experiments. Diseases of Aquatic Organisms, 1995. 23(1): p. 39-49.
28. Bruno, D.W., et al., *Vibrio viscosus* in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Scotland: field and experimental observations. Dis Aquat Organ, 1998. 34(3): p. 161-6.
29. Karlsen, C., et al., Co-infection of Atlantic salmon (*Salmo salar*), by *Moritella viscosa* and *Aliivibrio wodanis*, development of disease and host colonization. Veterinary Microbiology, 2014. 171(1-2): p. 112-121.
30. Lunder, T., et al., Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio viscosus* sp nov and *Vibrio wodanis* sp nov isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*) with 'winter ulcer'. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000. 50: p. 427-450.
31. Colquhoun, D.J., et al., *Moritella viscosa* isolated from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 2004. 24(2): p. 109-114.
32. Olsen, A.B., Hellberg, H. (red), Fiskehelse rapporten 2011. Veterinærinstituttet, 2012: p. 40 pp.
33. Benediktsdottir, E., et al., Characterization of *Vibrio viscosus* and *Vibrio wodanis* isolated at different geographical locations: a proposal for reclassification of *Vibrio viscosus* as *Moritella viscosa* comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000. 50: p. 479-488.
34. Grove, S., et al., Previously unrecognised division within *Moritella viscosa* isolated from fish farmed in the North Atlantic. Diseases of Aquatic Organisms, 2010. 93(1): p. 51-61.
35. Thompson, F.L., et al., Phylogeny and molecular identification of vibrios on the basis of multilocus sequence analysis. Applied and Environmental Microbiology, 2005. 71(9): p. 5107-5115.
36. Le Roux, F. and B. Austin, *Vibrio splendidus*, in The Biology of Vibrios. 2006, American Society of Microbiology.
37. Myhr, E., et al., Characterization of *Vibrio-Anguillarum* and Closely Related Species Isolated from Farmed Fish in Norway. Applied and Environmental Microbiology, 1991. 57(9): p. 2750-2757.
38. Jensen, S., et al., Characterization of strains of *Vibrio splendidus* and *V-tapetis* isolated from corkwing wrasse *Symphodus melops* suffering vibriosis. Diseases of Aquatic Organisms, 2003. 53(1): p. 25-31.
39. Samuelsen, O.B., et al., The efficacy of a single intraperitoneal injection of flumequine in the treatment of systemic vibriosis in corkwing wrasse *Symphodus melops*. Journal of Aquatic Animal Health, 2000. 12(4): p. 324-328.
40. Bergh, O. and O.B. Samuelsen, Susceptibility of corkwing wrasse *Symphodus melops*, goldsinny wrasse *Ctenolabrus rupestris*, and Atlantic salmon *Salmo salar* smolt, to experimental challenge with *Vibrio tapetis* and *Vibrio splendidus* isolated from corkwing wrasse. Aquaculture International, 2007. 15(1): p. 11-18.
41. Vaagnes, Ø., Biering, E, Almås, K, Development of injection and cohabitation challenge model for atypical *Aeromonas salmonicida* in farmed ballan wrasse (*Labrus bergylta*). Rapport Veterinærinstituttet 2014.

42. Gulla, S., et al., Phylogenetic analysis and serotyping of *Vibrio splendidus*-related bacteria isolated from salmon farm cleaner fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2015. 117(2): p. 121-131.
43. Lemire, A., et al., Populations, not clones, are the unit of vibrio pathogenesis in naturally infected oysters. *ISME J*, 2015. 9(7): p. 1523-31.
44. Borrego, J.J., et al., *Vibrio tapetis* sp nov, the causative agent of the brown ring disease affecting cultured clams. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996. 46(2): p. 480-484.
45. Paillard, C., et al., Molecular identification of *Vibrio tapetis*, the causative agent of the brown ring disease of *Ruditapes philippinarum*. *Aquaculture*, 2006. 253(1-4): p. 25-38.
46. Jensen, S., et al., *Vibrio splendidus* and *V. tapetis* isolated from corkwing wrasse *Symphodus melops* Characterization of strains of suffering vibriosis. *Dis Aquat Organ*, 2003. 53(1): p. 25-31.
47. Habib, C., et al., Multilocus sequence analysis of the marine bacterial genus *Tenacibaculum* suggests parallel evolution of fish pathogenicity and endemic colonization of aquaculture systems. *Appl Environ Microbiol*, 2014. 80(17): p. 5503-14.
48. Pineiro-Vidal, M., et al., *Tenacibaculum dicentrarchi* sp nov., a marine bacterium of the family *Flavobacteriaceae* isolated from European sea bass. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012. 62: p. 425-429.
49. Bricknell, I.R., D.W. Bruno, and J. Stone, *Aeromonas salmonicida* infectivity studies in goldsinny wrasse, *Ctenolabrus rupestris* (L). *Journal of Fish Diseases*, 1996. 19(6): p. 469-474.
50. Reid, H.I. and T.H. Birkbeck, Characterization of two groups of *Pasteurella skyensis* isolates from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., based on serotype and 16S rRNA and rpoB gene partial sequences. *Journal of Fish Diseases*, 2015. 38(4): p. 405-408.
51. Karlsbakk, E., et al., Sykdom og parasitter i vill og oppdrettet rognkjeks [Diseases and parasites of lump sucker (*Cyclopterus lumpus*)]. *Fisken og Havet*, 2014. Særnr. 1: p. 37-39.
52. Freeman, M., J. Kasper, and A. Kristmundsson, *Nucleospora cyclopteri* n. sp., an intranuclear microsporidian infecting wild lumpfish, *Cyclopterus lumpus* L., in Icelandic waters. *Parasites & Vectors*, 2013. 6(1): p. 49.
53. Young, N.D., et al., *Neoparamoeba perurans* n. sp., an agent of amoebic gill disease of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *International Journal for Parasitology*, 2007. 37(13): p. 1469-81.
54. Steinum, T., et al., First cases of amoebic gill disease (AGD) in Norwegian seawater farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and phylogeny of the causative amoeba using 18S cDNA sequences. *Journal of Fish Diseases*, 2008. 31: p. 205-214.
55. Bornø, G. and M. Linaker, *Fiskehelserapporten 2014*, G. Bornø and M. Linaker, Editors. 2014, Veterinærinstituttet.
56. Karlsbakk, E., et al., Amoebic gill disease due to *Paramoeba perurans* in ballan wrasse (*Labrus bergylta*). *Aquaculture*, 2013. 412-413: p. 41-44.
57. Young, N.D., et al., *Neoparamoeba perurans* is a cosmopolitan aetiological agent of amoebic gill disease. *Dis Aquat Organ*, 2008. 78(3): p. 217-23.
58. Dykova, I., A. Figueras, and B. Novoa, Amoebic gill infection of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Folia Parasitol (Praha)*, 1995. 42: p. 91-96.
59. Lima, P. From contractile vacuoles to pseudocyst formation: adaptation mechanisms for survival in the marine parasitic amoeba *Paramoeba perurans.*, in 3rd gill health initiative meeting. 2015. Galway, Ireland.
60. Stagg, H.E.B., Hall, M, Wallace, I S, Pert, P P, Garzia Perez,S, Collins, C, Detection of *Paramoeba perurans* in Scottish marine wild populations. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 2015. 35(6): p. 217-226.
61. Mo, T.A., Hytterød, S., Olsen, A. B., Hansen, H., Utvikling av amøbegjellesykdom (AGD) hos laks i tre oppdrettsanlegg i 2013-2014, in Veterinærinstituttets rapportserie. 2015, Veterinærinstituttet. p. 37.

62. Young, N.D., et al., Support for the coevolution of Neoparamoeba and their endosymbionts, Perkinsela amoebae-like organisms. *European Journal of Protistology*, 2014.
63. Taylor, R.S., et al., Gill observations in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during repeated amoebic gill disease (AGD) field exposure and survival challenge. *Aquaculture*, 2009. 290(1-2): p. 1-8.
64. Fringuelli, E., et al., Detection of *Neoparamoeba perurans* by duplex quantitative Taqman real-time PCR in formalin-fixed, paraffin-embedded Atlantic salmonid gill tissues. *Journal of Fish Diseases*, 2012. 35(10): p. 711-724.
65. Downes, J.K., et al., A longitudinal study of amoebic gill disease on a marine Atlantic salmon farm utilising a real-time PCR assay for the detection of *Neoparamoeba perurans*. *Aquaculture Environment Interactions*, 2015. 7: p. 239-251.
66. Mullins, J.E., et al., An intranuclear microsporidian in lumpfish *Cyclopterus lumpus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1994. 20: p. 7-13.
67. Alarcón, M., et al., Co-infection of *Nucleospora cyclopteri* (Microsporidia) and *Kudoa islandica* (Myxozoa) in farmed lumpfish, *Cyclopterus lumpus* L., in Norway: a case report. *Journal of Fish Diseases*, 2015: p. n/a-n/a.
68. Capella-Gutierrez, S., M. Marcet-Houben, and T. Gabaldon, Phylogenomics supports microsporidia as the earliest diverging clade of sequenced fungi. *BMC Biol*, 2012. 10: p. 47.
69. Gresoviac, S.J., et al., Detection of the intranuclear microsporidium *Nucleospora salmonis* in naturally and experimentally exposed Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* by *in situ* hybridization. *Parasitol Res*, 2007. 101(5): p. 1257-64.
70. Freeman, M. and C. Sommerville, Original observations of *Desmoozon lepeophtherii*, a microsporidian hyperparasite infecting the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*, and its subsequent detection by other researchers. *Parasites & Vectors*, 2011. 4(1): p. 231.
71. Nylund, S., et al., *Paranucleospora theridion* n. gen., n. sp. (Microsporidia, Enterocytozoonidae) with a life cycle in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*, Copepoda) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2010. 57(2): p. 95-114.
72. Freeman, M.A. and C. Sommerville, *Desmoozon lepeophtherii* n. gen., n. sp., (Microsporidia: Enterocytozoonidae) infecting the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Parasites & Vectors*, 2009. 2.
73. Strømnes, E. and K. Andersen, Distribution of whaleworm (*Anisakis simplex*, Nematoda, Ascaridoidea) L3 larvae in three species of marine fish; saithe (*Pollachius virens* (L.)), cod (*Gadus morhua* L.) and redfish (*Sebastes marinus* (L.)) from Norwegian waters. *Parasitology Research*, 1998. 84(4): p. 281-285.
74. Albretsen, J., et al., Risikovurdering norsk fiskeoppdrett 2014, in *Fisken og havet*. 2015, Havforskningsinstituttet.
75. Mo, T.A., et al., Presence of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809 det. Krabbe, 1878) and *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda; Anisakidae) in runts of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 2014. 37: p. 135-140.
76. Dearnoff, T.L. and M.L. Kent, Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught salmon (Salmonidae) from Puget Sound, Washington. *Journal of Wildlife Diseases*, 1989. 25(3): p. 416-419.
77. Lunestad, B.T., Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *Journal of Food Protection*, 2003. 66: p. 122-124.
78. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 2010. 8(4): p. 1543.
79. Mo, T.A., et al., Red vent syndrome associated with *Anisakis simplex* diagnosed in Norway. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 2010. 30(5).
80. Noguera, P., et al., Red vent syndrome in wild Atlantic salmon *Salmo salar* in Scotland is associated with *Anisakis simplex* sensu stricto (Nematoda: Anisakidae). *Diseases of Aquatic Organisms*, 2009. 87(3): p. 199-215.

81. Valentini, A., et al., Genetic relationships among *Anisakis* species (Nematoda : Anisakidae) inferred from mitochondrial COX2 sequences, and comparison with allozyme data. *Journal of Parasitology*, 2006. 92(1): p. 156-166.
82. Vardic Smrzlic, I., et al., Molecular characterisation of Anisakidae larvae from fish in Adriatic Sea. *Parasitol Res*, 2012. 111(6): p. 2385-91.
83. Levsen, A., , Maage, A., Nasjonal undersøkelse av forekomst av *Anisakis* i norsk oppdrettslaks. Rapport NIFES, 2015 10 pp.
(<http://nifes.no/wp-content/uploads/2015/12/sluttrapportffhnifesanisakisioppdrettslaks151216.pdf>)
84. Munro, E.S., et al., A mortality event in wrasse species (Labridae) associated with the presence of viral haemorrhagic septicaemia virus. *Journal of Fish Diseases*, 2015. 38(4): p. 335-341.
85. Dale, O.B., et al., Outbreak of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in seawater-farmed rainbow trout in Norway caused by VHS virus Genotype III. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2009. 85(2): p. 93-103.
86. Wallace, I.S., et al., A survey of wild marine fish identifies a potential origin of an outbreak of viral haemorrhagic septicaemia in wrasse, Labridae, used as cleaner fish on marine Atlantic salmon, *Salmo salar* L., farms. *Journal of Fish Diseases*, 2015. 38(6): p. 515-521.
87. Persson, D. and M.V. Røsæg, Wrasse (Labridae) as a potential vector for viral pathogens in Norwegian aquaculture. 2013, Norwegian School of Veterinary Science Oslo.
88. Gibson, D.R., D.A. Smail, and C. Sommerville, Infectious pancreatic necrosis virus: experimental infection of goldsinny wrasse, *Ctenolabrus rupestris* L. (Labridae). *Journal of Fish Diseases*, 1998. 21(6): p. 399-406.
89. Breiland, M.S.W.B., Mikalsen, H., Johansen, L.-H., Etablere smitte modeller for nord-norsk rognkjeks for fremtidig sykdomsbekjempelse og vaksineutvikling. Rapport Nofima, 2014 (MABIT prosjekt nr AF0068).
90. Karlsbakk, E., K. Hodneland, and A. Nylund, Health status of goldsinny wrasse, including a detailed examination of the parasite community at Flødevigen, southern Norway., in *Wrasse: biology and use in aquaculture.*, M.D.J. Sayer, J.W. Treasurer, and M.J. Costello, Editors. 1996, Wiley-Blackwell. p. 228-239.
91. Solberg, A., Parasites of goldsinny (*Ctenolabrus rupestris* (L.), Labridae) in Fanafjorden (Hordaland) – a parasitological examination of goldsinny from the wild and when used as cleaner fish in a salmon farm., in Department of Fisheries and Marine Biology. 1997, University of Bergen: Bergen. p. 74.
92. Wiik-Nielsen, C.R., et al., First detection of piscine reovirus (PRV) in marine fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2012. 97(3): p. 255-258.
93. Palacios, G., et al., Heart and skeletal muscle inflammation of farmed salmon is associated with infection with a novel reovirus. *PLoS One*, 2010. 5(7): p. e11487.
94. Gibson, D.R. and C. Sommerville, The potential for viral problems related to the use of wrasse in farming of Atlantic salmon. , in *Wrasse: biology and use in aquaculture* M.D.J. Sayer, J.W. Treasurer, and M.J. Costello, Editors. 1996, Wiley-Blackwell. p. 240-246.
95. Parrish, C.R., et al., Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2008. 72(3): p. 457-70.
96. Karlsen, M., et al., Multiple introductions of salmonid alphavirus from a wild reservoir have caused independent and self-sustainable epizootics in aquaculture. *J Gen Virol*, 2014. 95(Pt 1): p. 52-9.
97. Haugland, G.T., et al., Phagocytosis and Respiratory Burst Activity in Lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) Leucocytes Analysed by Flow Cytometry. *Plos One*, 2012. 7(10).
98. Haugland, G.T., A. Ronneseth, and H.I. Wergeland, Flow cytometry analyses of phagocytic and respiratory burst activities and cytochemical characterization of leucocytes isolated from wrasse (*Labrus bergylta* A.). *Fish & Shellfish Immunology*, 2014. 39(1): p. 51-60.
99. Ronneseth, A., et al., Functional characterization of IgM+ B cells and adaptive immunity in lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.). *Dev Comp Immunol*, 2015. 52(2): p. 132-43.

100. Lund, V., S. Espelid, and H. Mikkelsen, Vaccine efficacy in spotted wolffish *Anarhichas minor*: relationship to molecular variation in A-layer protein of *atypical Aeromonas salmonicida*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2003. **56**(1): p. 31-42.
101. Arnesen, K.R., et al., Impact of reattaching various *Aeromonas salmonicida* A-layer proteins on vaccine efficacy in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Vaccine*, 2010. **28**(30): p. 4703-4708.
102. Mortensen, S., et al. Kap 10: Bruk av rensefisk i matfiskoppdrett. Særnummer Fisken og havet: Risikovurdering norsk fiskeoppdrett (Svåsand, T et al, red), 2015(2): p. 175 pp.
103. Espeland, S., et al., Kunnskapsstatus leppefisk. Utfordringer i et økende fiskeri. *Fisken og havet*, 2010. Havforskningsinstituttet (7): p. 35pp.

