

Nefrokalsinose – et symptom på utfordringene i dagens moderne produksjonsmiljøer?

Marius Takvam



Universitet i Bergen
Institutt for Biovitenskap

Oversikt

- Bakgrunn nyrefunksjon og nefrokalsinose
- Del 1: Risikofaktorer i vannmiljø
- Del 2: Risikofaktorer i fôr
- Del 3: Utvalgt case fra kommersiell produksjon
- Mulige forebyggende tiltak, oppsummering og kunnskapsbehov

Oversikt

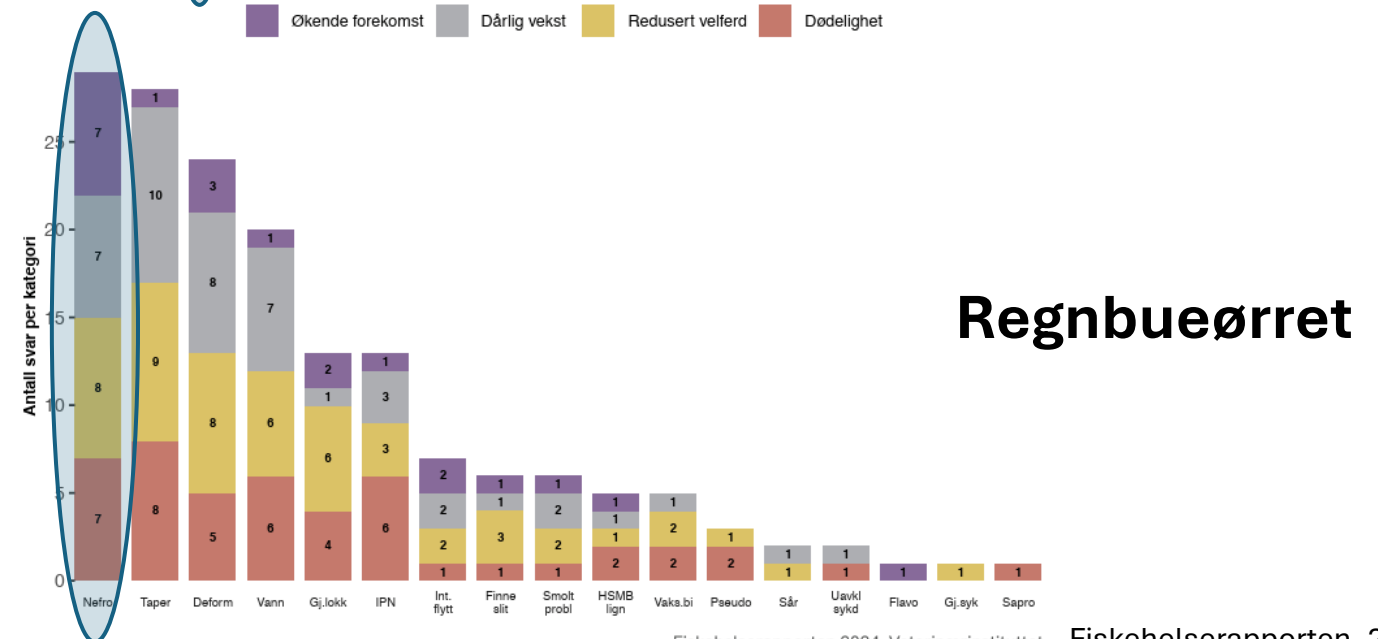
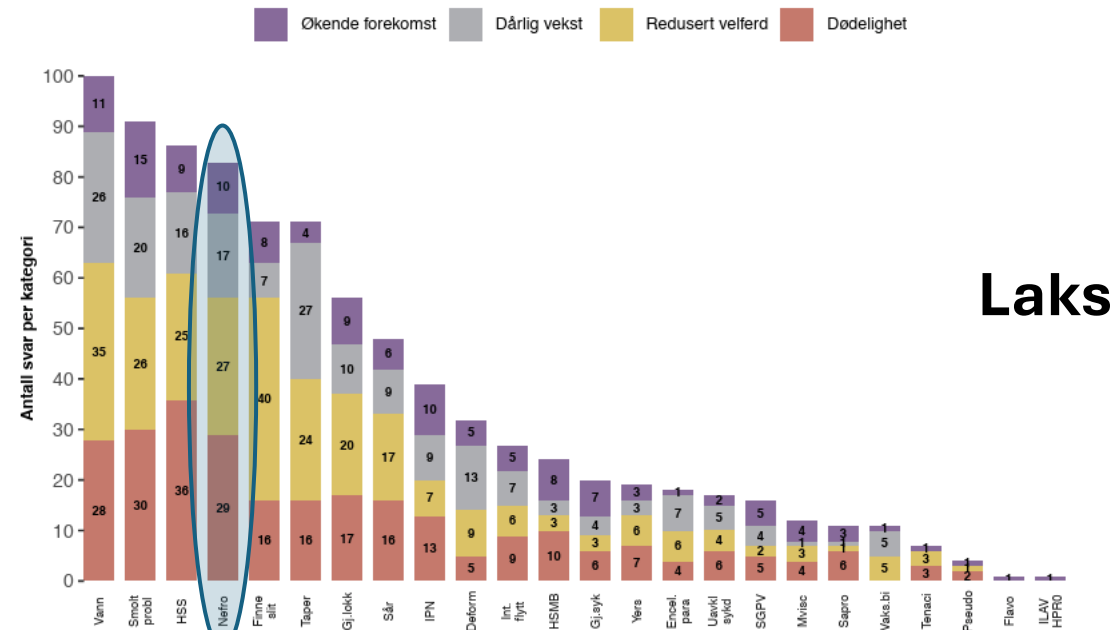
- Bakgrunn nyrefunksjon og nefrokalsinose
- Del 1: Risikofaktorer i vannmiljø
- Del 2: Risikofaktorer i fôr
- Del 3: Utvalgt case fra kommersiell produksjon
- Mulige forebyggende tiltak, oppsummering og kunnskapsbehov

Nyrestein er en vanlig og utbredt lidelse i norsk settefiskproduksjon

Tidligere funn:

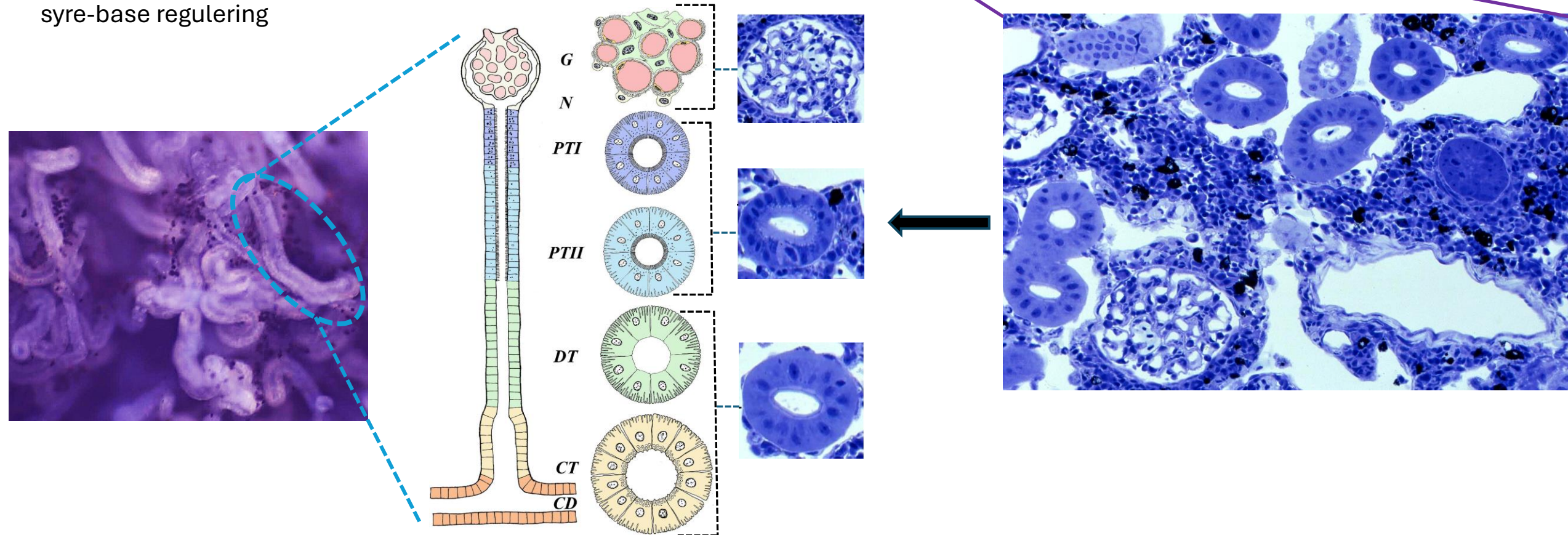
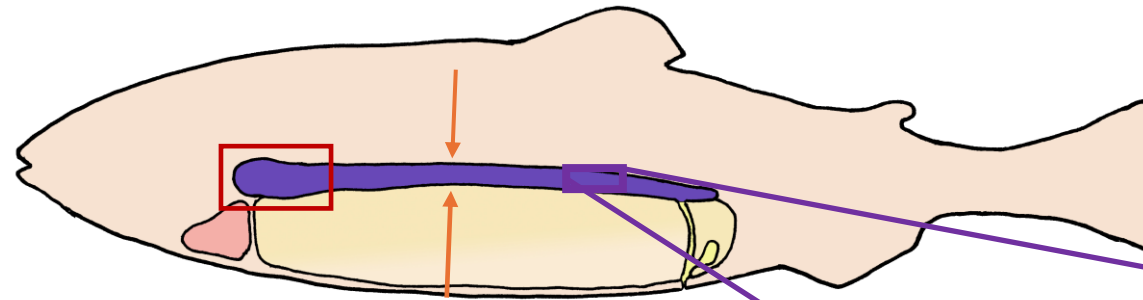
- Høy konstant CO₂ og/eller O₂ i vannet
- Bruk av salinitet i vannet
- Lav konsentrasjon magnesium og vitamin E i dietten
- Høy vitamin A, fosfor, selenium and arsenic i diett
- Hovedsakelig kalsiumbaserte steiner (Ca₁₀(PO₄)₆CO₃)
- En multifaktoriell produksjonslidelse

Cowey et al., 1977; Hicks et al., 1984; Fivelstad et al., 2003; 2018; Hosfeld et al., 2018; Klykken et al., 2022; Minerva et al 2023; Mullins, 2020; Bèland et al., 2024

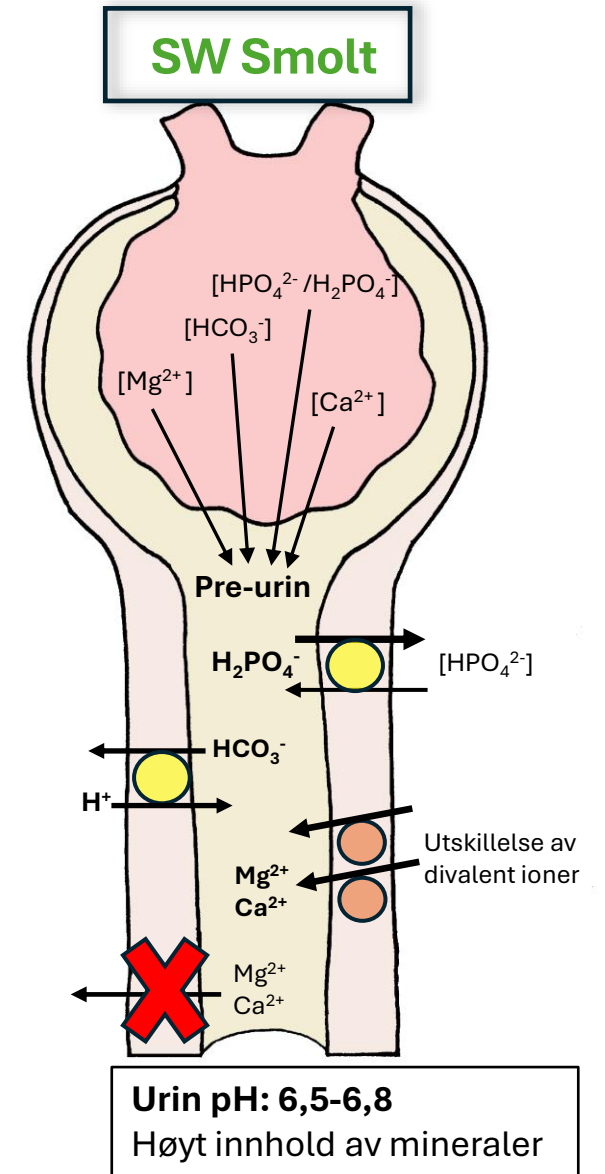
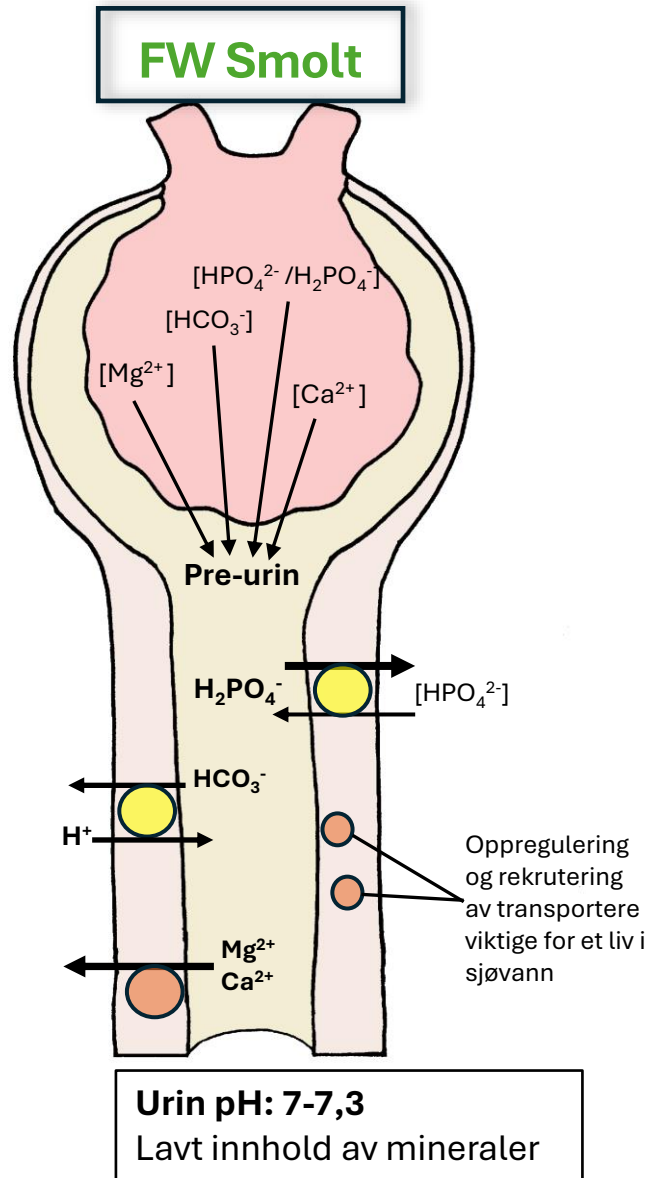
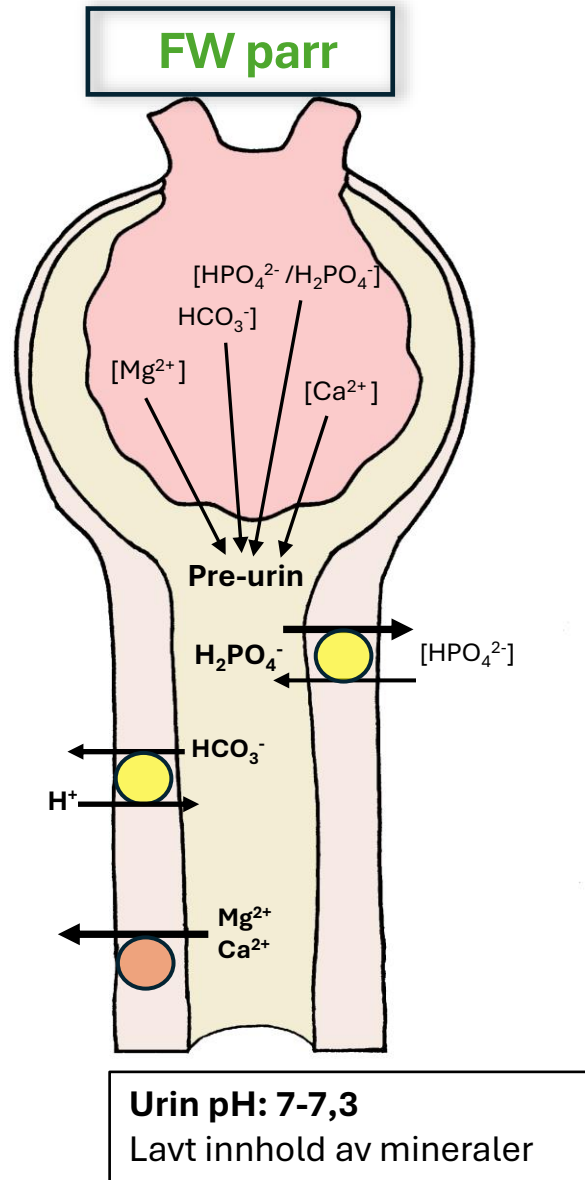


Nyrens rolle i fisk

- **Hodenyre** – immunfunksjon og hormoner (cortisol, adrenalin)
- **Stannius legemer** – kalsium og fosfor regulering (stanniocalcin)
- **Trunk kidney** – osmoregulering og syre-base regulering



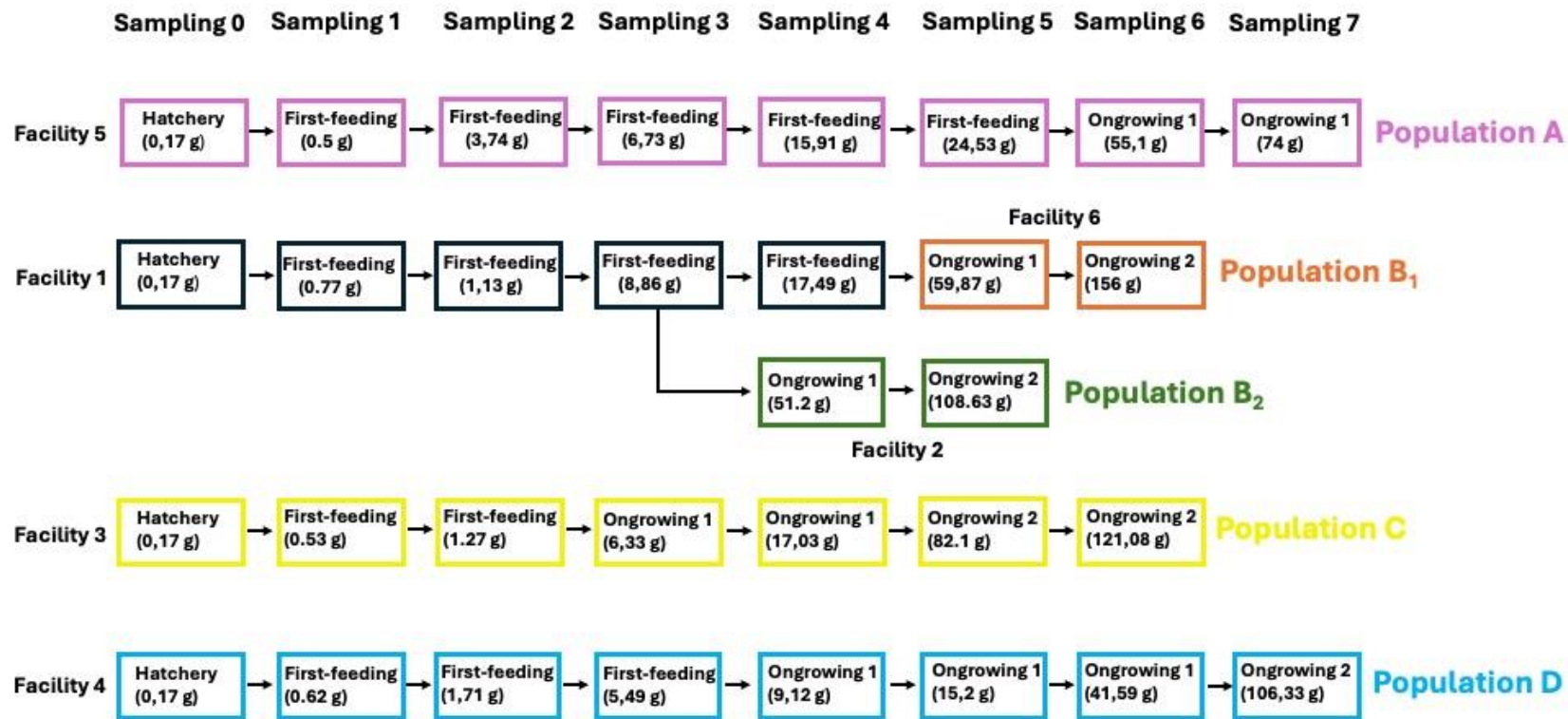
Nyrefunksjon – modell i laks



Oversikt

- Bakgrunn nyrefunksjon og nefrokalsinose
- **Del 1: Risikofaktorer i vannmiljø**
- Del 2: Risikofaktorer i fôr
- Del 3: Utvalgt case fra kommersiell produksjon
- Mulige forebyggende tiltak, oppsummering og kunnskapsbehov

Fem populasjoner laks fra egg til smolt

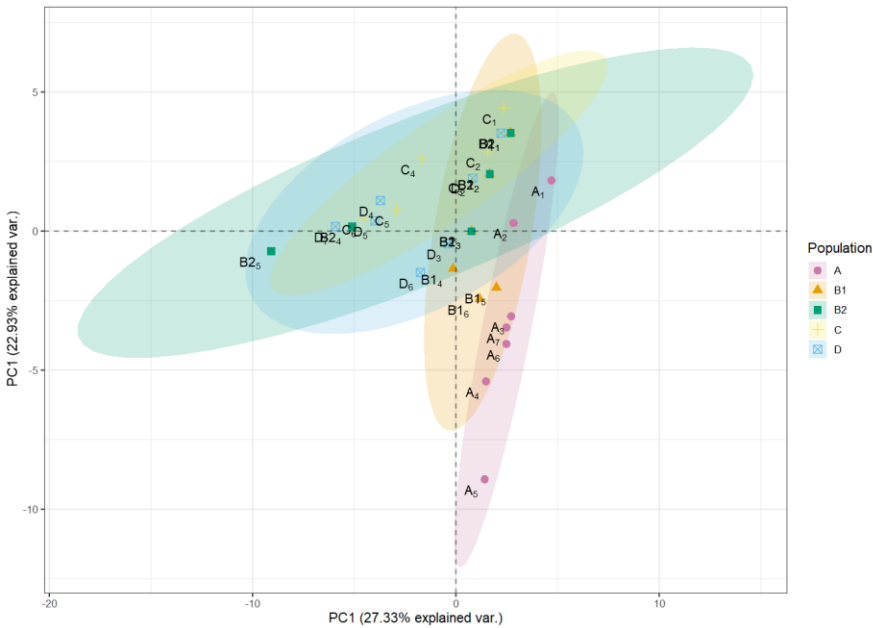
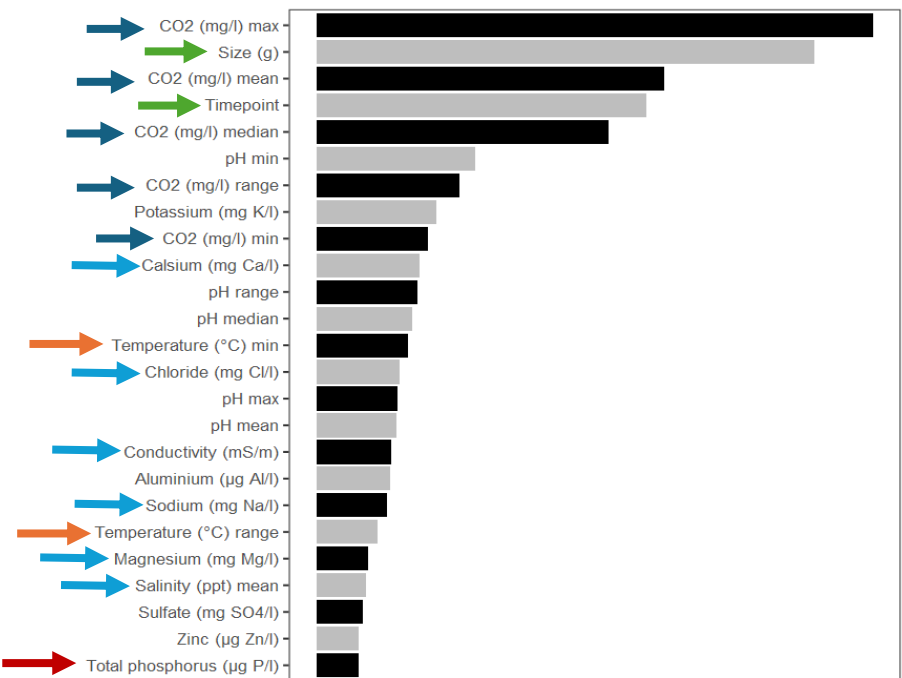


- Vannkvalitet ble tatt på alle prøvetakningstidspunkt (S0-S7)
- Fôrprøver ble tatt fram til 15-40 gram

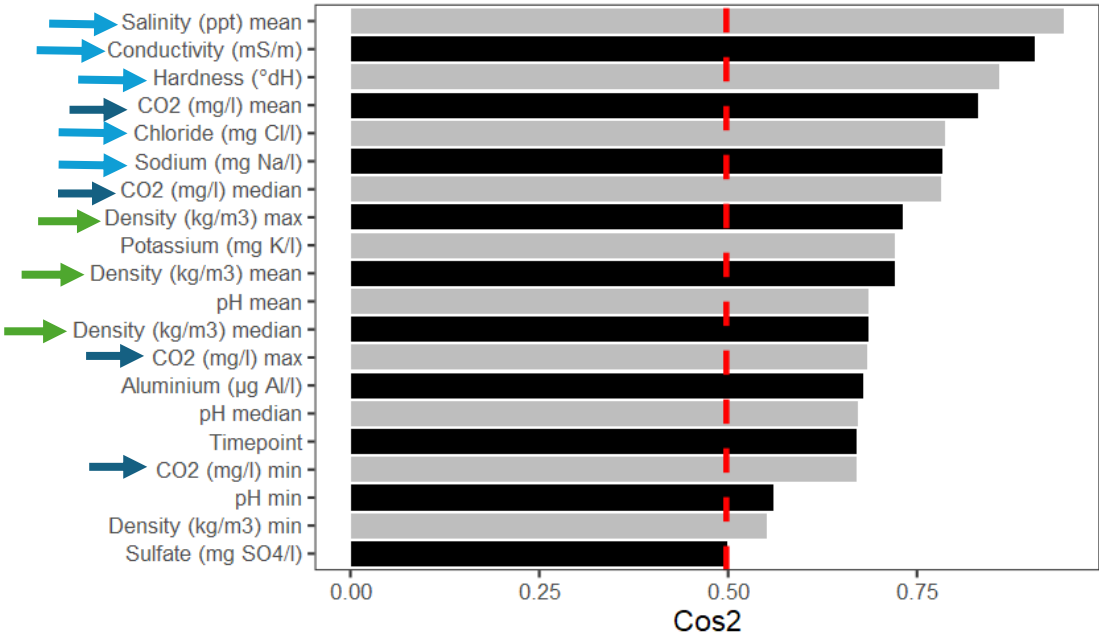
Risikofaktorer: Multivariant analyser vannkvalitet

- Transport innad i anlegg fører til store endringer i vannkvalitet (spesielt CO_2)
- Tid, størrelse og tetthet (**høy intensitet**)
- **Salinitet, konduktivitet og hardhet (Ca^{2+} and Mg^{2+})**
- Mulig risikoårsak kan også være akkumulasjon av **total fosfor** i vannet (RAS)
- Kontinuerlig lys (**ingen vinter signal**), ikke mulig å inkludere (for få tidspunkt)
- **Temperatur** (kan gi mulig økning i presipitering av nyrestein?)

Random Forest analyse

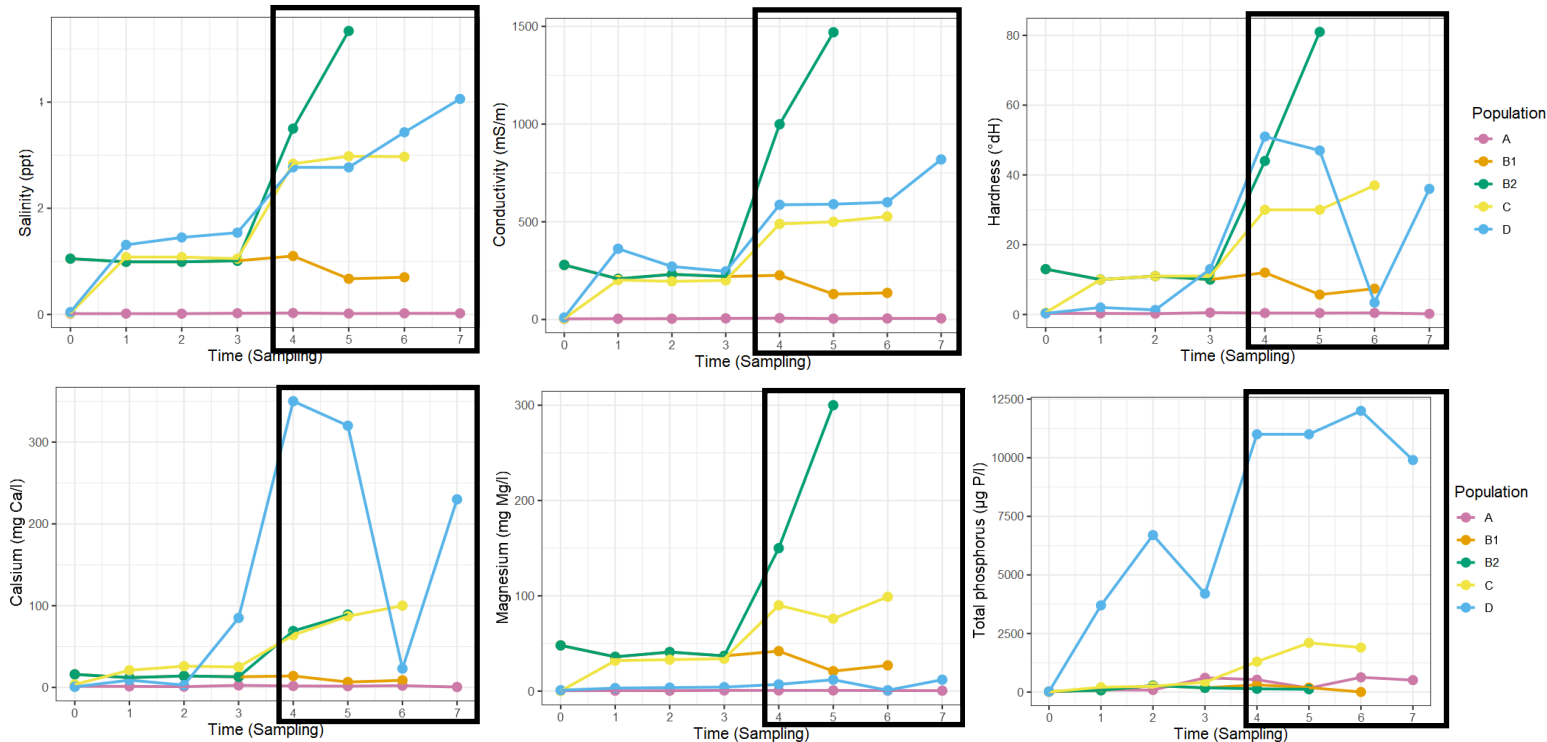


PCA analyse



Vannkvalitet

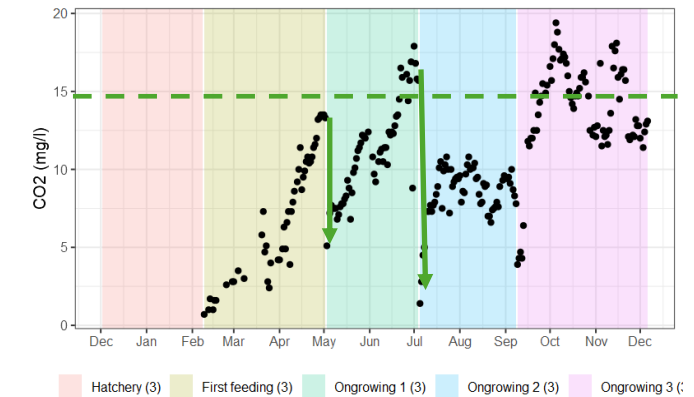
- Alvorlig nefrokalsinose i Fiskegruppe **B2** og **D**
- Mild i Fiskegruppe **C** og svært sparsomt i Fiskegruppe **A** and **B1**
- Salinitet og konduktivitet øker i Fiskegruppe **B2**, **C**, og **D**
- Magnesium (Fiskegruppe **B2**), kalsium (Fiskegruppe **D**) eller begge (Fiskegruppe **C**) som øker hardhet
- Total fosfor veldig høy i Fiskegruppe **D** og tidels i Fiskegruppe **C** (akkumulasjon RAS)
- Hva med CO₂ variasjoner?



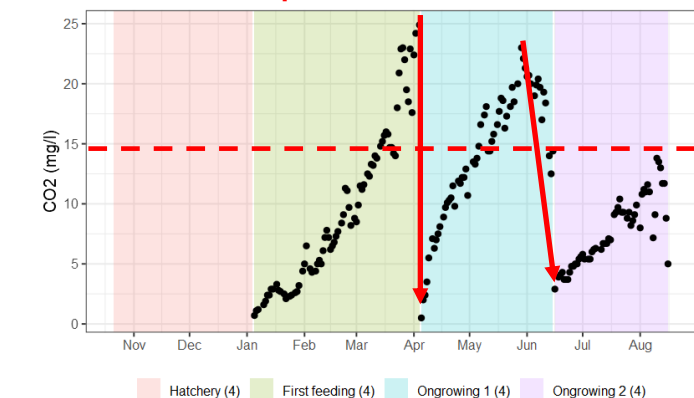
Risikofaktorer vannkvalitet:

- Bruk av **kalsium-baserte buffere** (akkumulasjon av kalsium i RAS)
- Bruk av **sjøvann eller havsalt** (øker hardhet; **kalsium** og **magnesium** i FTS og RAS)
- **Høye og variable CO₂ nivåer** (store «drop» i CO₂ observert under flytting i RAS og FTS)
- **Temperatur og lysforhold?**
- Økning i **total fosfor** fra fôret? (Akkumulasjonseffekter i RAS)
- Mer data er nødvendig slik at **modellene** blir mer **nøyaktig**

Mild nephrocalcinosis



Severe nephrocalcinosis

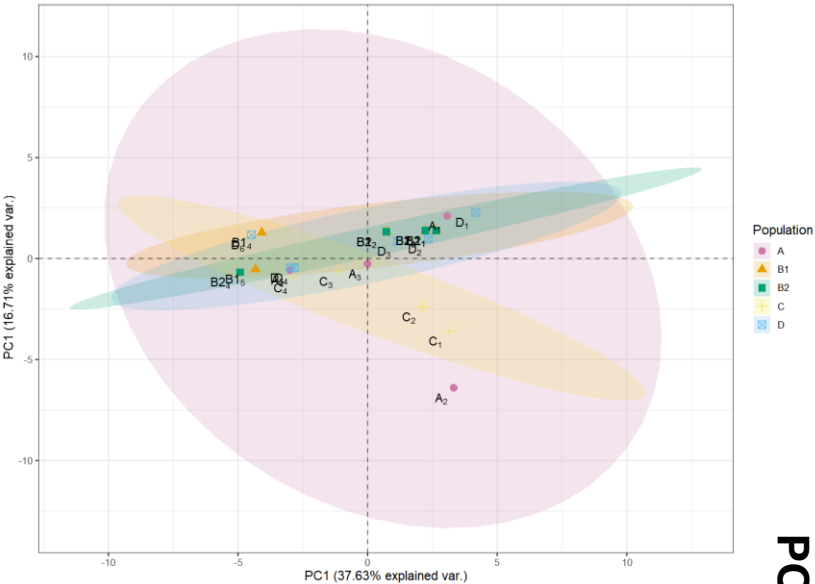


Oversikt

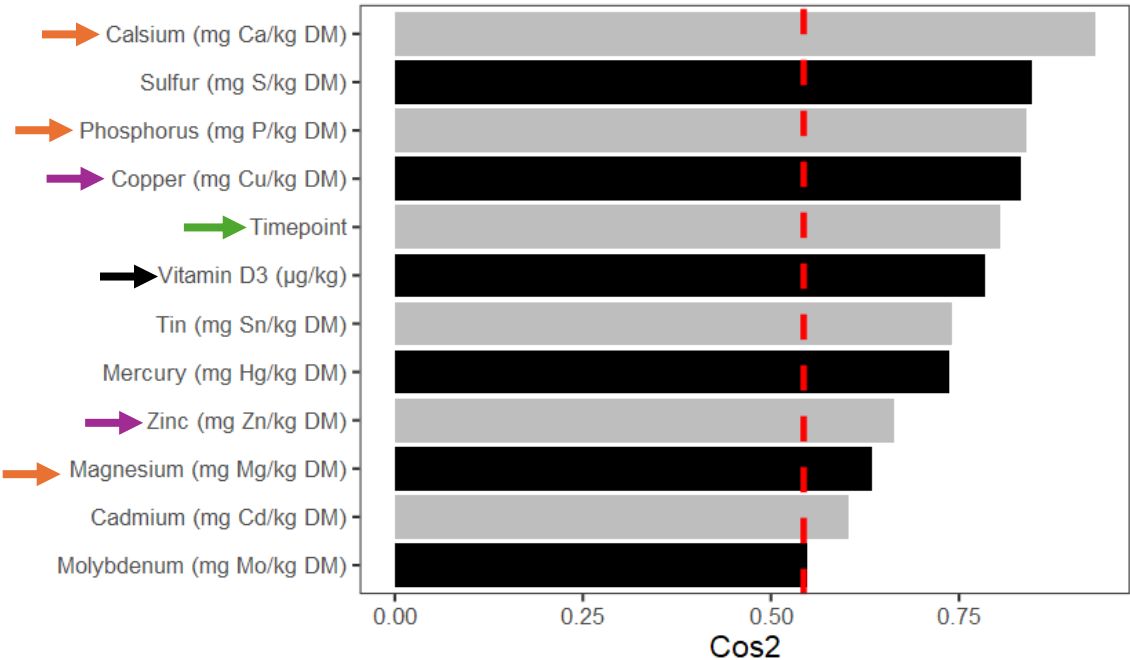
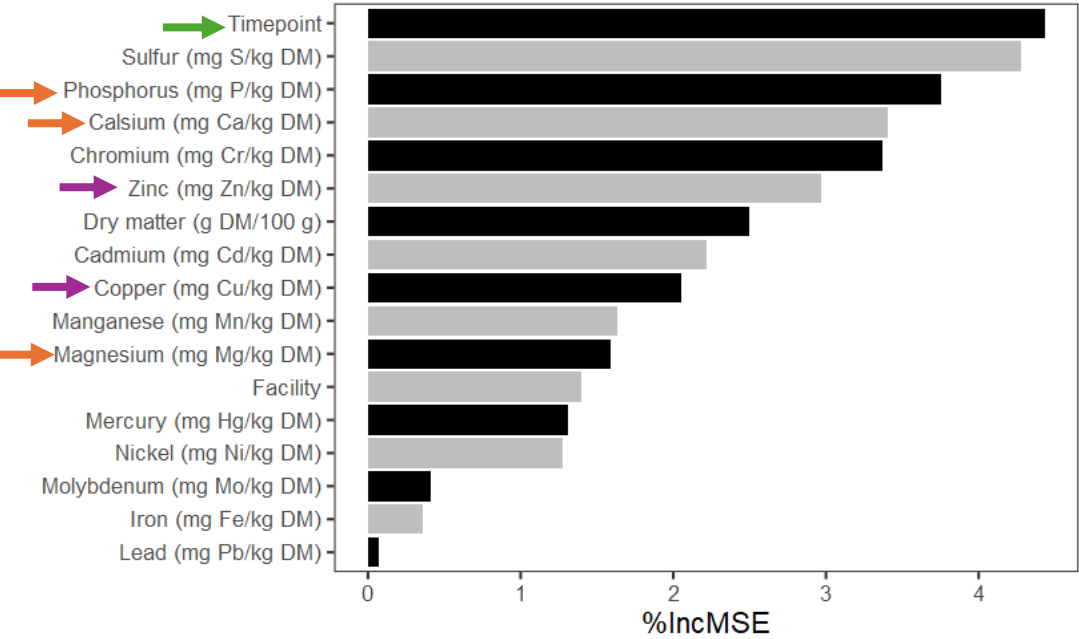
- Bakgrunn nyrefunksjon og nefrokalsinose
- Del 1: Risikofaktorer i vannmiljø
- **Del 2: Risikofaktorer i fôr**
- Del 3: Utvalgt case fra kommersiell produksjon
- Mulige forebyggende tiltak, oppsummering og kunnskapsbehov

Risikofaktorer: Multivariant analyser fôrkomposisjon

- Fôrkomposisjon ble bare undersøkt i tidlig fase fram til 15-40 gram i alle Fiskegrupper
- Tid (Tidspunkt) er i likhet med vannkvalitet er høyt ranket i analysen
- Kalsium, magnesium og fosfor peker seg også ut i analysene
- Vitamin D3 også ranket høyt men bare i PCA analysen
- Ikke like klare svar på fôrkomposisjon men noen funn peker seg ut.....



Random Forest analyse



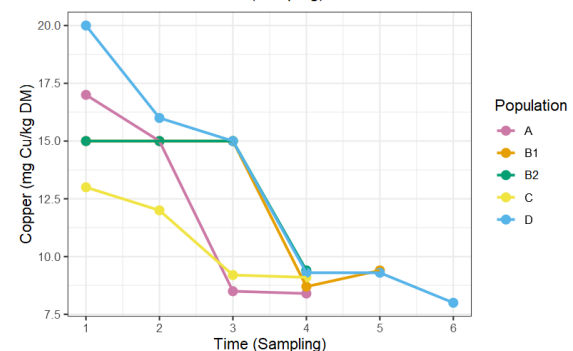
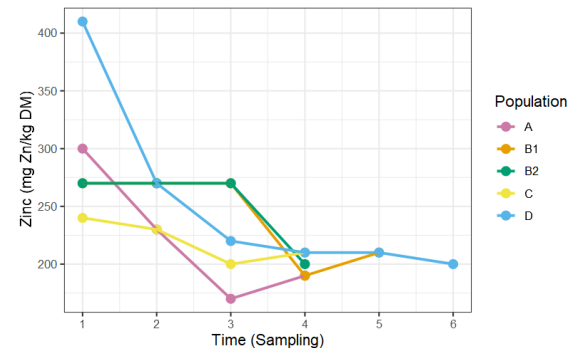
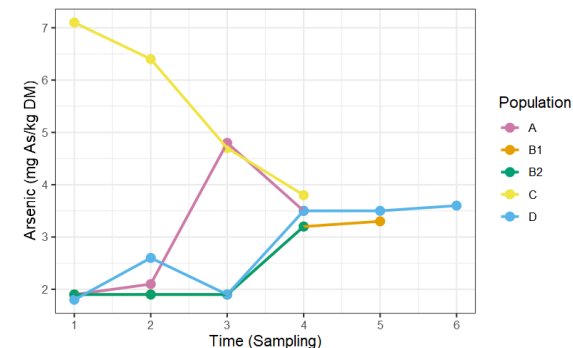
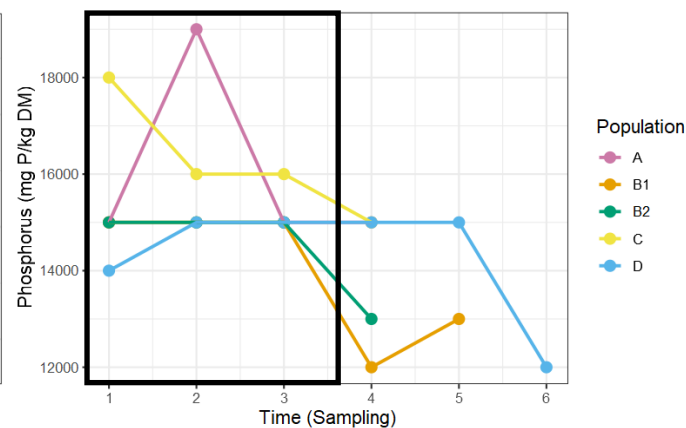
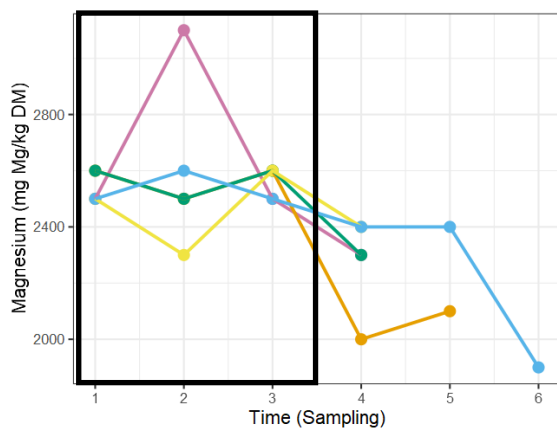
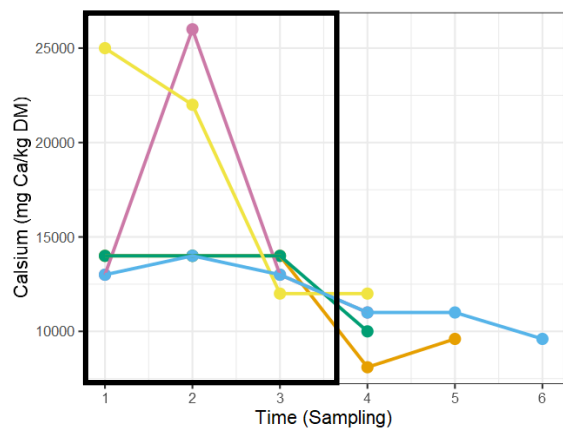
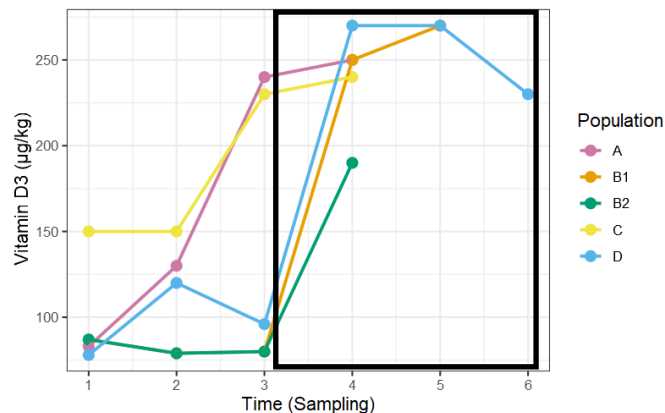
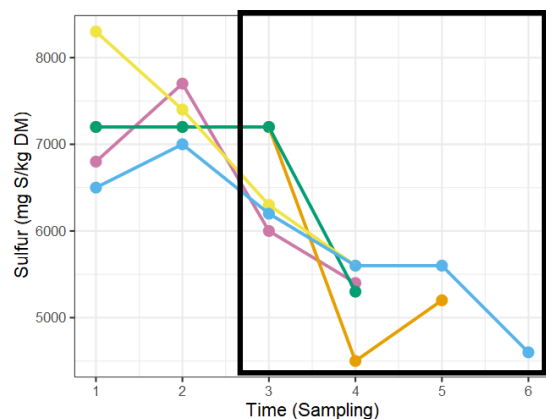
PCA analyse

Fôrkomposisjon

- Generelt svært høyt mineralinnhold i startfôring (spesielt kalsium og fosfor) i alle Fiskegrupper
- Gradvis reduksjon i alle Fiskegrupper (redusert bruk av fiskemel), noe høyere kalsium, magnesium og fosfor på slutten i [Fiskegruppe D](#).
- Vitamin D3 øker kraftig i alle populasjoner (konsekvenser for kalsium/fosfor balansen?), men noe lavere i [Fiskegruppe B2](#)
- Arsenikk som tidligere har blitt assosiert med nefrokalsinose (>13 mg/kg) var observert $<7,1$ mg/kg
- Sink og kopper er noe høyt i starten men reduseres igjennom produksjon

Risikofaktorer fôrkomposisjon:

- Høyt mineralinnhold allerede i startfôringen (spesielt fosfor og kalsium)
- Stor økning i Vitamin D3 som kan gi økt opptak av fosfor og kalsium
- Stor usikkerhet rundt biotilgjengelighet og opptak (behov under intensiv drift?)
- Kan høyt innhold av mineraler og økning i vitamin D3 predisponere fisk eller gi uheldig additive effekter sammen med dårlig vannkvalitet?
- Mer data er nødvendig slik at **modellene** blir mer **nøyaktig**



Oversikt

- Bakgrunn nyrefunksjon og nefrokalsinose
- Del 1: Risikofaktorer i vannmiljø
- Del 2: Risikofaktorer i fôr
- **Del 3: Utvalgte case fra kommersiell produksjon**
- Mulige forebyggende tiltak, oppsummering og kunnskapsbehov

Urin pH i kommersielle RAS kan bli svært høy

Fase 1 (20 juni til 25 sept):

- Størrelse: ~5-50 gram
- Kontinuerlig lys (24:0)
- Temperatur: 10-13 grader
- CO₂: 1-6 mg/l
- Salinitet: 0 ppt

Fase 2 (25 sept til Nov 6):

- Størrelse: ~50-80 gram
- Kontinuerlig lys (24:0)
- Temperatur: 10-12 grader
- CO₂: 3-8 mg/l
- Salinitet: 0-0,1 ppt

Fase 3 (Nov 6 til Nov 26):

- Størrelse: ~80-100 gram
- Kontinuerlig lys (24:0)
- Temperatur: 12 grader
- CO₂: 3-6 mg/l
- Salinitet: 0,1 ppt

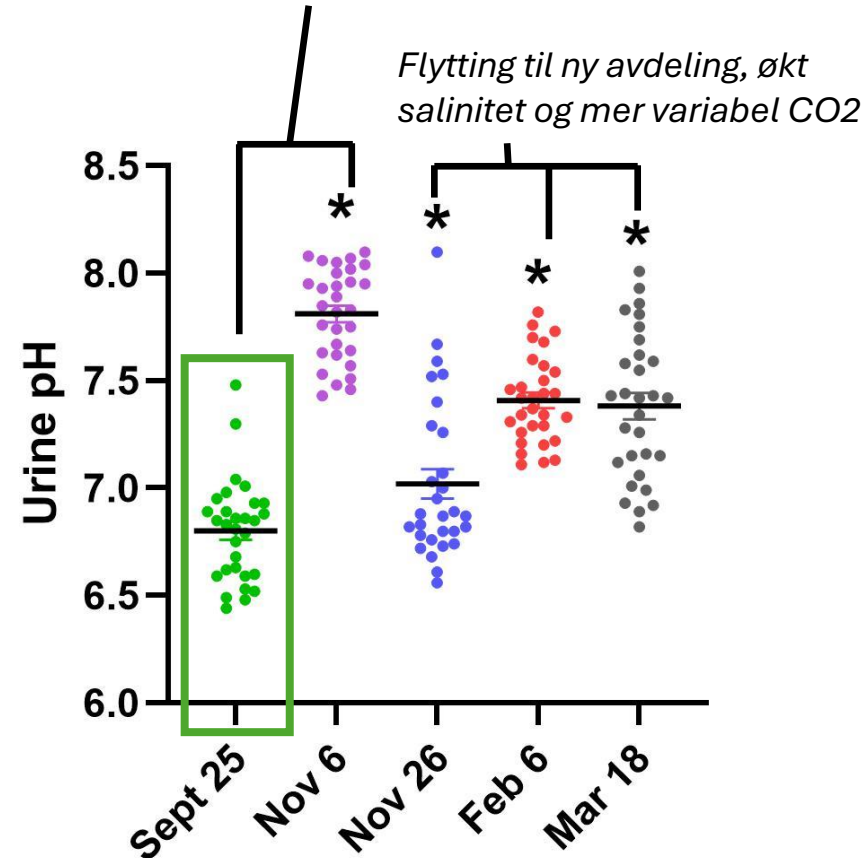
Fase 4 (Nov 26 til Feb 6):

- Størrelse: ~100-400 gram
- Kontinuerlig lys (24:0)
- Temperatur: 10-12 grader
- CO₂: 1-10 mg/l
- Salinitet: 12-13 ppt

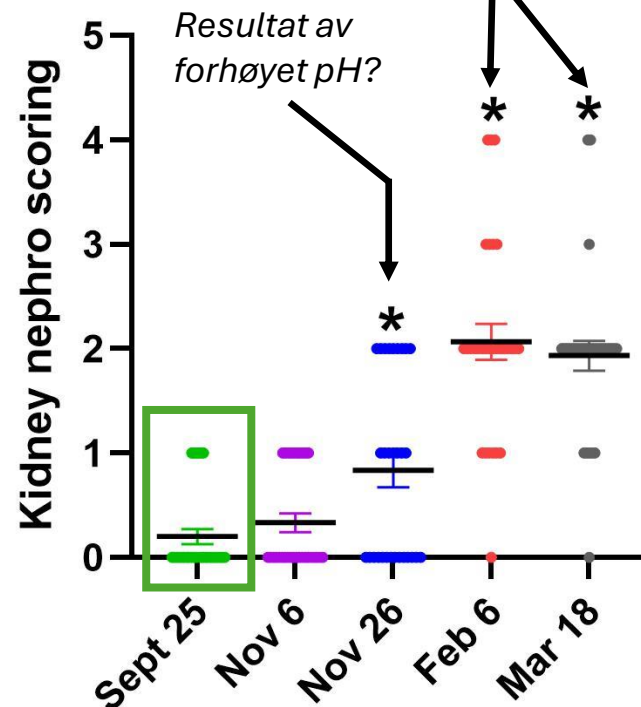
Fase 5 (Feb 6 til Mar 18):

- Størrelse: ~400-600 gram
- Kontinuerlig lys (24:0)
- Temperatur: 8-11 grader
- CO₂: 5-12 mg/l
- Salinitet: 12-14 ppt

Sortering, vaksinering og saltfôr



Resultat av forhøyet pH og mer tilgjengelige mineraler via vann?



Oppsummering:

- **Flytting og overgangsfôr** kan gi store utslag i urin pH
- Fisk klarer **ikke** komme tilbake til normal pH og får **vedvarende høy urin pH**
- **Flytting og økt tilgjengelighet av mineraler** kan gi videre uheldig effekter
- Økt **nefrokalsinose** innslag vil også aleine kunne gi **økt urin pH**
- **Hovedsakelig** $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$ (n=20) som feller ut på høy urin pH (rundt 6,8)
- **Baseline (grønn)** viser **normale urin pH nivå** (50-60 gram)

NB: vannkvalitet, urinkomposisjon og histologi analyseres for øyeblikket

Oversikt

- Bakgrunn nyrefunksjon og nefrokalsinose
- Del 1: Risikofaktorer i vannmiljø
- Del 2: Risikofaktorer i fôr
- Del 3: Utvalgt case fra kommersiell produksjon
- Mulige forebyggende tiltak, oppsummering og kunnskapsbehov

Endringer i CO₂ fører til fysiologiske forstyrrelser som kan gi økt sannsynlighet for utfelling av nyrestein hos laks og regnbueørret

Marius Takvam¹, Chris Wood², Colin Brauner², Harald Kryvi¹ and Tom Ole Nilsen¹

¹Institutt for Bioteknologi, Universitetet i Bergen, Bergen, Norway
²Institutt for Zoology, Universitetet i British Columbia, Vancouver, Canada

NephroReduce

FHF-prosjekt: Risikofaktorer i norske settefiskanlegg relatert til utvikling av nefrokalsinose hos atlantisk laks og regnbueørret – Reduksjon og forebyggende tiltak.

Les mer ved å skanne QR-koden under:



Å opprettholde normale pH-nivå i kroppsvæsker (syre-base balanse) er essensielt for alle dyr og representerer en av de mest grunnleggende og regulerte fysiologiske prosessene hos vertebrater. Evolusjonært har fisk utviklet et fleksibelt system for å regulere pH, hvor de bruker hydrogen (H⁺), ammonium (NH₄⁺), hydroksid (OH⁻), bikarbonat (HCO₃⁻), ammoniakk (NH₃), fosfat (HPO₄³⁻) og karbondioksid (CO₂) for å tilpasse seg ulike endringer i miljø. CO₂ og NH₃ er sluttprodukter av fiskens forbrenning av fett, proteiner og karbohydrater. HCO₃⁻ og CO₂ har viktige roller i et naturlig buffersystem der forholdet mellom konsentrasjonen av HCO₃⁻ og løst CO₂ er sentrale i å regulere pH i blod. Høyt forhold mellom HCO₃⁻/CO₂ gir høy pH, mens lavt forhold mellom disse gir lavere pH. Til tross for at gjeller er hovedorganet for pH regulering, spiller nyren en svært viktig, ofte oversett rolle i syre-base regulering. I denne artikkelen skal vi å forklare nyrens funksjon og rolle i syre-base regulering og hvordan den komplimenterer

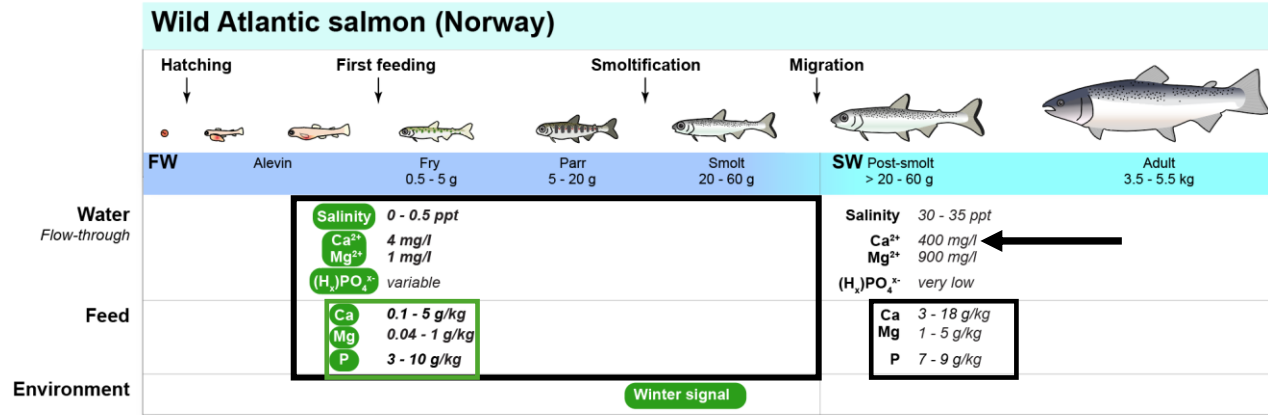
gjellens rolle ved endringer av CO₂ og O₂ konsentrasjon i vannet. I denne konteksten har HCO₃⁻ en viktig buffer rolle ved forsyning av blod (reduert pH) grunnet forhøyet nivåer av CO₂ og/eller O₂ (kalt respiratorisk acidose: "respiratorisk forstyrrelse"). Imidlertid kan variasjon i en eller begge disse miljøparametrene forårsake uheldige fysiologiske effekter for fisken. Avslutningsvis ønsker vi å sette dette i næringsrelevant kontekst hvor vi peker på ulike risikofaktorer i intensiv settefiskproduksjon og hvordan slike risikofaktorer kan henge sammen med den økende problematikken rundt nyrestein (nefrokalsinose) fra de siste fiskehelseberapportene (2020-2023). Økt forståelse av nyrens rolle i syre-base regulering hos oppdrettsfisk gir muligheter til å gjøre viktige justeringer i produksjonen. Slik kan næringen bedre møte fiskens fysiologiske behov og dermed redusere utbredelse av nefrokalsinose.

Det har tidligere blitt lagt frem flere hypoteser rundt risikofaktorer for utvikling

Mulig forebyggende tiltak:

- **Redusere høy and variabel CO₂** – forbedringer i CO₂ degassing, øke CO₂ i ny tank?
- **Redusere biomasse og tetthet (flere men mindre rogn innsett?)** om mulig– bedre CO₂ kontroll
- Bruk av **kalsiumbaserte buffere** – gir sannsynligvis økt akkumulasjon av kalsium i tankene (RAS)
- Akkumulasjon av **fosfor** i RAS anlegg (kommer sannsynligvis fra fôret)
- **Minimere bruk av sjøvann/havsalt** spesielt før smoltifiseringen - nyrene må utvikle sjøvannstoleranse
- Bruk av **fotoperiode (vintersignal)** for å smoltifisere er gunstig for riktig utvikling av nyrene
- **Kommersielle fôr** har muligens for høye mineralnivå (tidlig i produksjon)
- **Overgangsfôr** med høyere saltinnhold før smoltifisering bør brukes med forsiktighet (øker tilgjengeligheten av mineraler og urin pH?)
- Fokus på **tidlig diagnose** – gir mulighet for å sette inn tiltak tidlig (observeres 1,8 – 8 grams)
- Pågående arbeid med **preventive dietter** for å redusere nefrokalsinose i laksefisk (Skretting; IPN Prosjekt og NephroReduce)

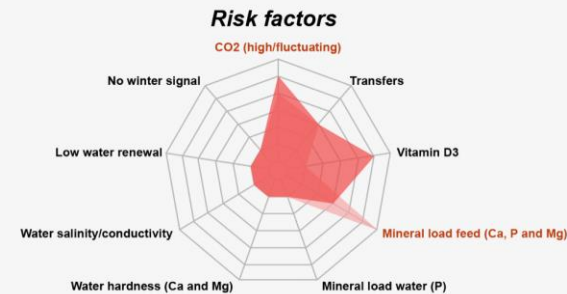
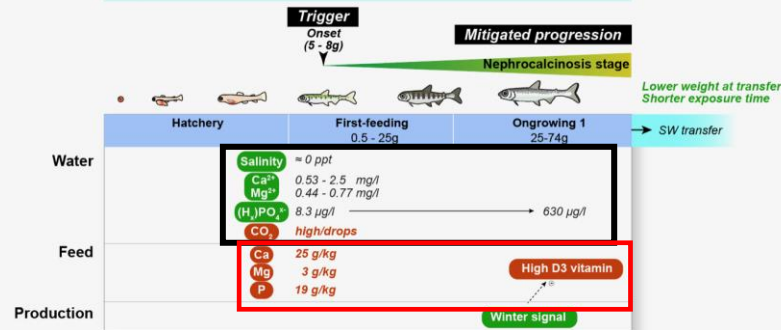
Store kontraster i miljøforhold



Oppsummering:

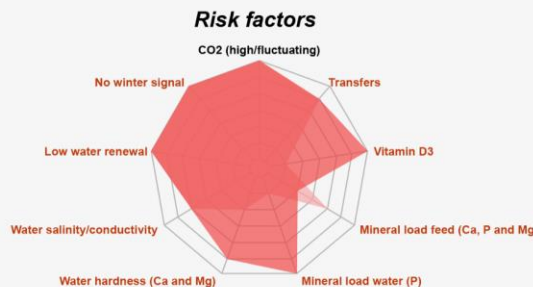
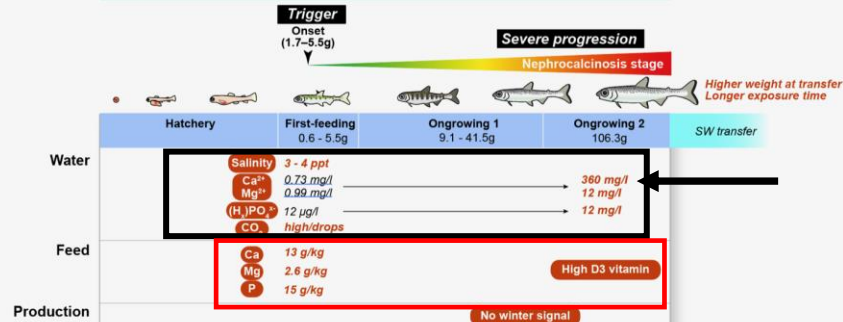
- Vill Atlantisk laks vokser opp i lav salinitetsmiljø med relativt lav konsentrasjon av mineraler i vann og fôr
- Kalsium og fosfor svært forskjellig mellom mild og alvorlig populasjon
- Kalsium i Fiskegruppe D er nesten like høyt som i sjøvann (salinitet: 3-4 ppt)
- Konsekvenser av høyt mineralnivå og økende Vitamin D3 nivåer i fôret første delen av laksens liv?
- Mineralnivå i kommersielt fôr er like høyt eller høyere enn det laks spiser i det marine miljø
- Dagens teknologi og produksjonsprotokoller spiller ikke alltid på lag med laksens biologi

Population A - FTS



Mild nefrokalsinose

Population D - RAS



Alvorlig nefrokalsinose

Kunnskapsbehov og videre arbeid:

- Bedre og mer standardiserte målinger av **CO2/O2** for å se **variabiliteten** gjennom produksjon
- Målinger av **kalsium**, **magnesium** (hardhet) og **total fosfor** (få oversikt over deres vannkjemi)
- Mer fokus på vannkvalitet **før, under og etter flytting** til nye tanker
- Innsamling av **data vannkvalitet/fôr** fra flere anlegg er viktig for videre utvikling av **statistiske modeller**
- Videre arbeid med **tidlig diagnose** (Kirsti og Elisabeth)
- Fysiologiske konsekvensene fra **mineraler i dietten og vannet** blir viktig (for mye mineraler?)
- Mer kunnskap rundt **nyrefunksjon og urinkomposisjon** under ulike miljøforhold (Tom Ole Nilsen)
- **Urinkomposisjon** fra flere **kommersielle anlegg** med ulik grad av nefrokalsinose pågår (laks og ørret; fokus på anlegg med mild nefrokalsinose)

Nefrokalsinose – et symptom på utfordringene i dagens moderne produksjonsmiljø?

Ja sansynnlignvis men det er behov for mer kunnskap om fiskens fysiologi!

Takk til partnere og FHF for finansiering!



Marius Takvam:
m.takvam@uib.no

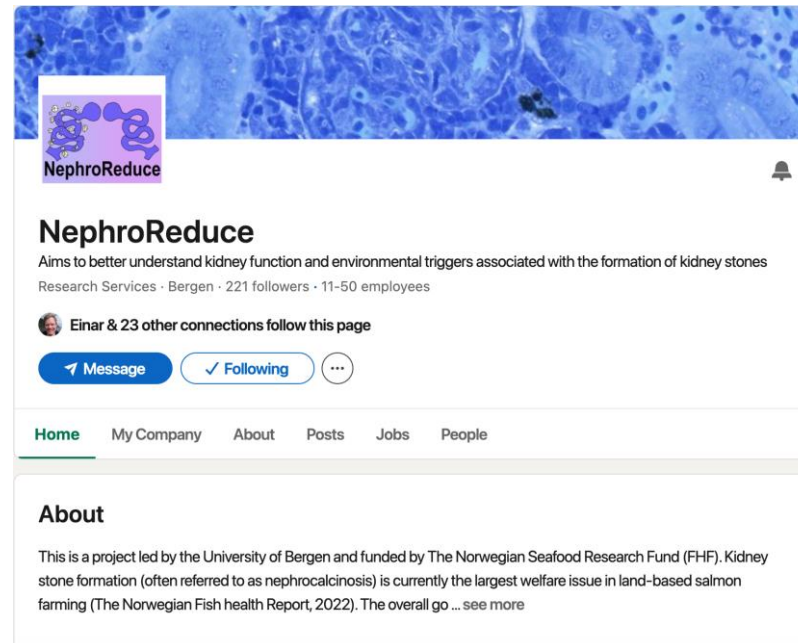
Tom Ole Nilsen (Prosjektleder) **Eivind Engan** (Masterstudent)

Thi Hong Gam le (Post-doc) **Emma Slutås** (Masterstudenter)

Elsa Denker (Senioringeniør) **Markus Knutsen** (Masterstudenter)

Marius Nilsen (NORCE) **Elen Garshol** (Masterstudenter)

Prosjektpartnere:



hima



HOFSETH



osland



CERMAQ AQUATICODE