



UiT The Arctic University of Norway

## Beste praksis for prøvetakning av gjeller

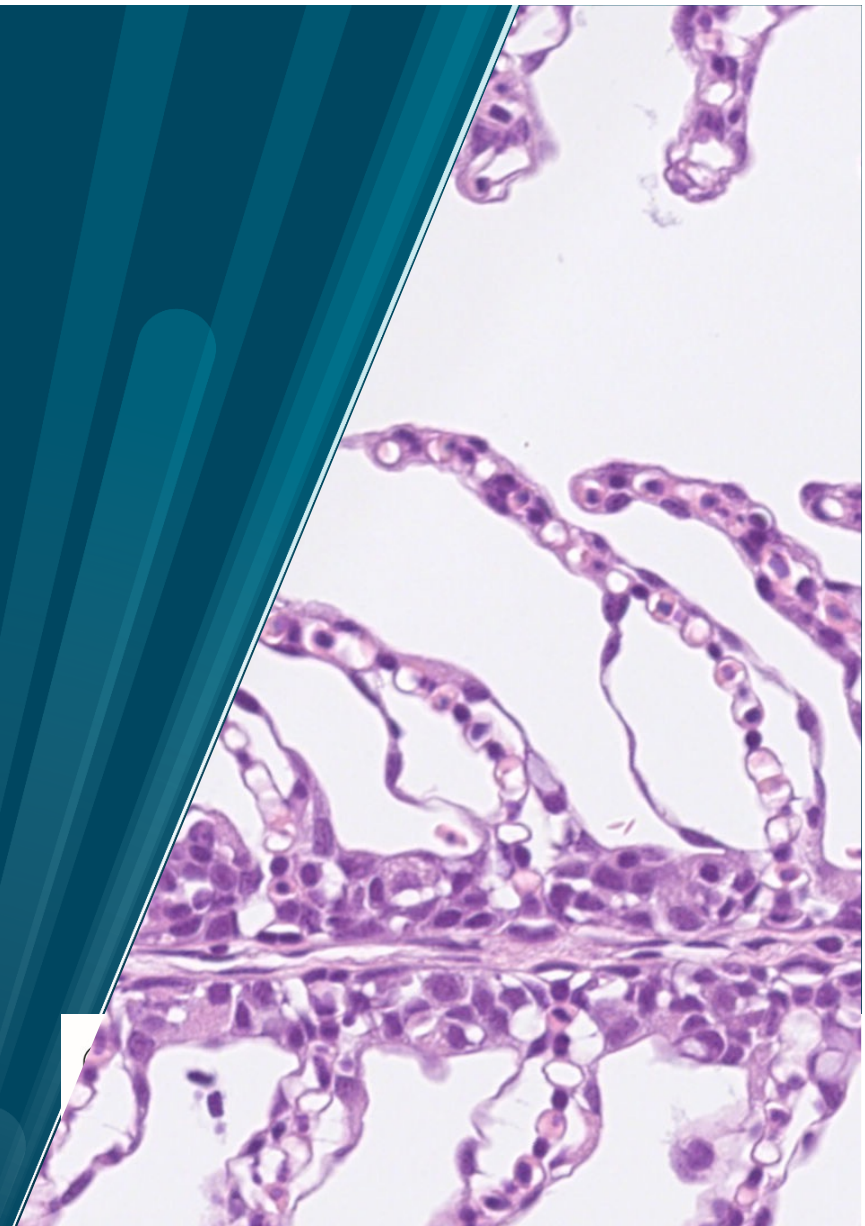
- Autolyse og post mortem endringer i gjeller, et spørsmål om minutter og ikke timer

Tore Seternes

Lisa Furnesvik, Miroslava Hansen, Muhammad Naveed and Toni Erkinharju

Arbeidsmøte om gjelleutfordringer i laksenæringen

*16th Mars 2023*



## Formål

Å identifisere og score histologiske postmortem autolytiske endringer i atlantisk laks lagret etter død ved ulike temperaturer og tidsintervaller

## Delmål

- Å komme med anbefalinger og beste praksis for prøveuttak basert på våre funn
- Å hindre innsending av materiale som ikke holder mål



## Bakgrunn for arbeidet

### Autolyse

- betyr selvoppløsning (er den prosessen som inntreffer når en levende celle dør)

### Post mortem

- Etter død

Eksempel 2020 ble det registrert autolyse eller postmortelle forandringer i **17,4 %** av alt materiale som ble sendt in til Veterinærinstituttet for histologisk undersøkelse.



## Kjemiske og biologiske endringer (degradering) i vev etter død

### Mekanismer for autolyse/postmortelle endringer

- Enzymatisk autolysis
- Oksidasjon
- Mikrobiell vekst

### Faktorer som påvirker autolyse/postmortelle end.

- Bakterie flora
- Håndtering/stress
- Sjøvann/ferskvann
- Livsstadie
- Helsestatus
- Lagringsbetingelser
- Temperatur
- Ph
- Organ type



## Bakgrunn for arbeidet

### Utfordringer ved prøveuttak av fisk:

- Varmblodige dyr opplever en temperaturnedgang ved død
- Laks lever i kaldt vann som ofte har lavere temperatur enn omgivelsene
- Når fisken tas opp av vann møter den ofte en temperatur økning



## Metode

**Forsøk 1.** Overview of the fish groups in study 1 stored at different temperatures and sampled at different time intervals. \* Three fish were immediately sampled (0 h) and used as control fish.

	Temperature			
Time	Room temperature (RT) (21 °C)	Refrigerator (4 °C)	Freezer (-20 °C)	Total
0 h		3		3*
1 h	3	3	3	9
4 h	3	3	3	9
24 h	3	3	3	9
48 h	3	3	3	9
Total	13	13	13	39

**Forsøk 2.** Overview of gills from Atlantic salmon stored at room temperature (21 °C) and sampled at different time intervals.

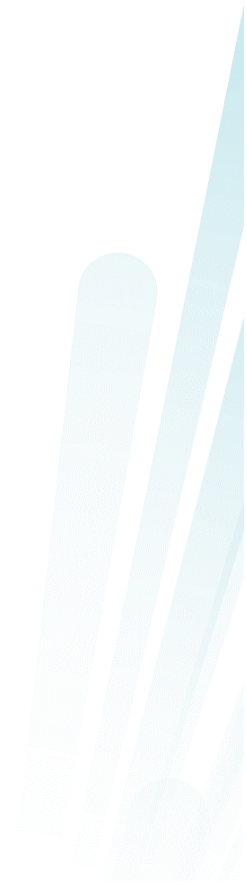
5 min	5
10 min	5
15 min	5
30 min	5
45 min	5
60 min	5
Total	35



## Metode

Histologiske postmortelle endringer ble scoret etter George, et al 2016

- score 0 ingen til minimalt
- score 1 mild eller sparsom
- score 2 moderat
- score 3 uttalt



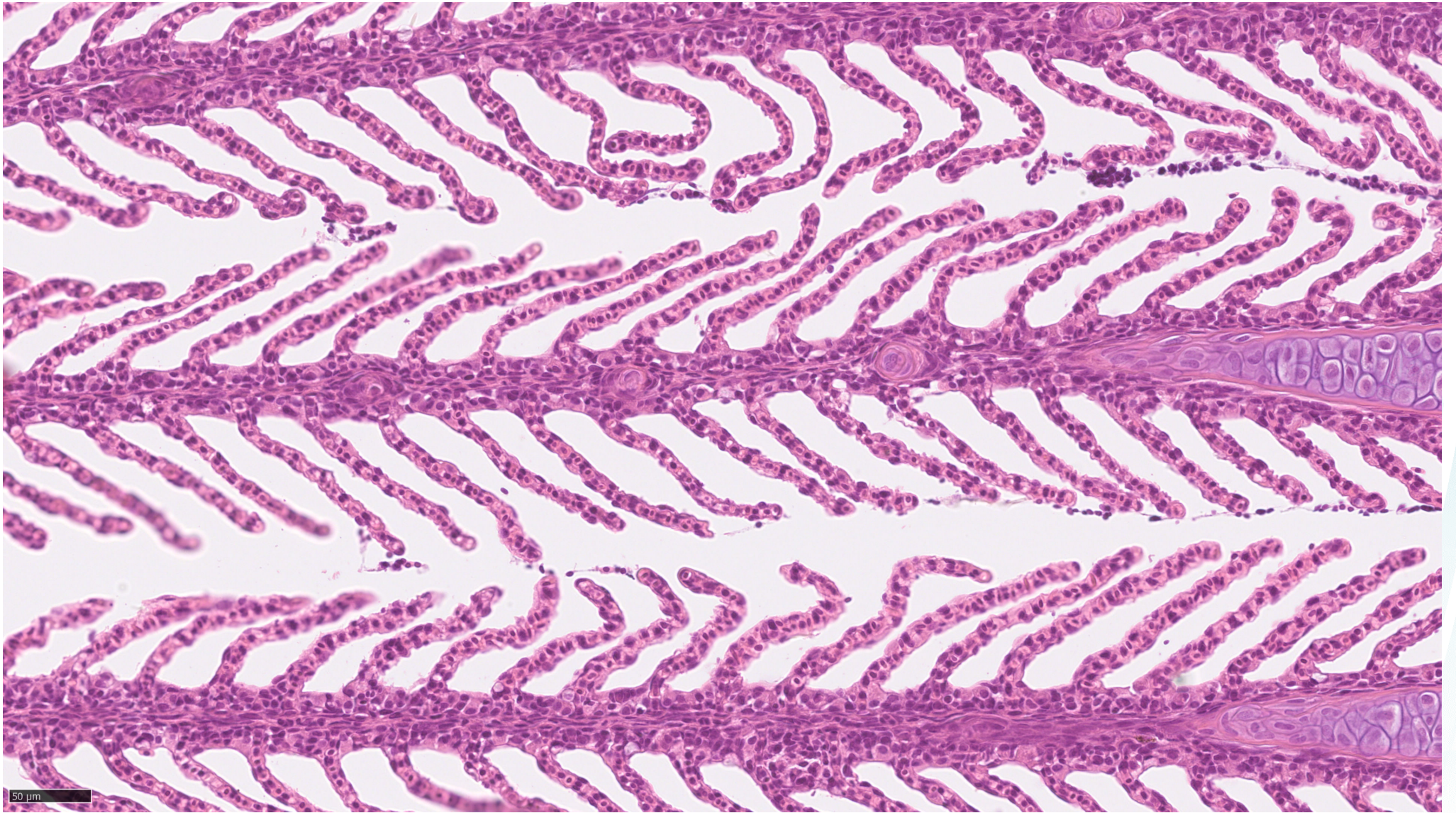
## Resultater

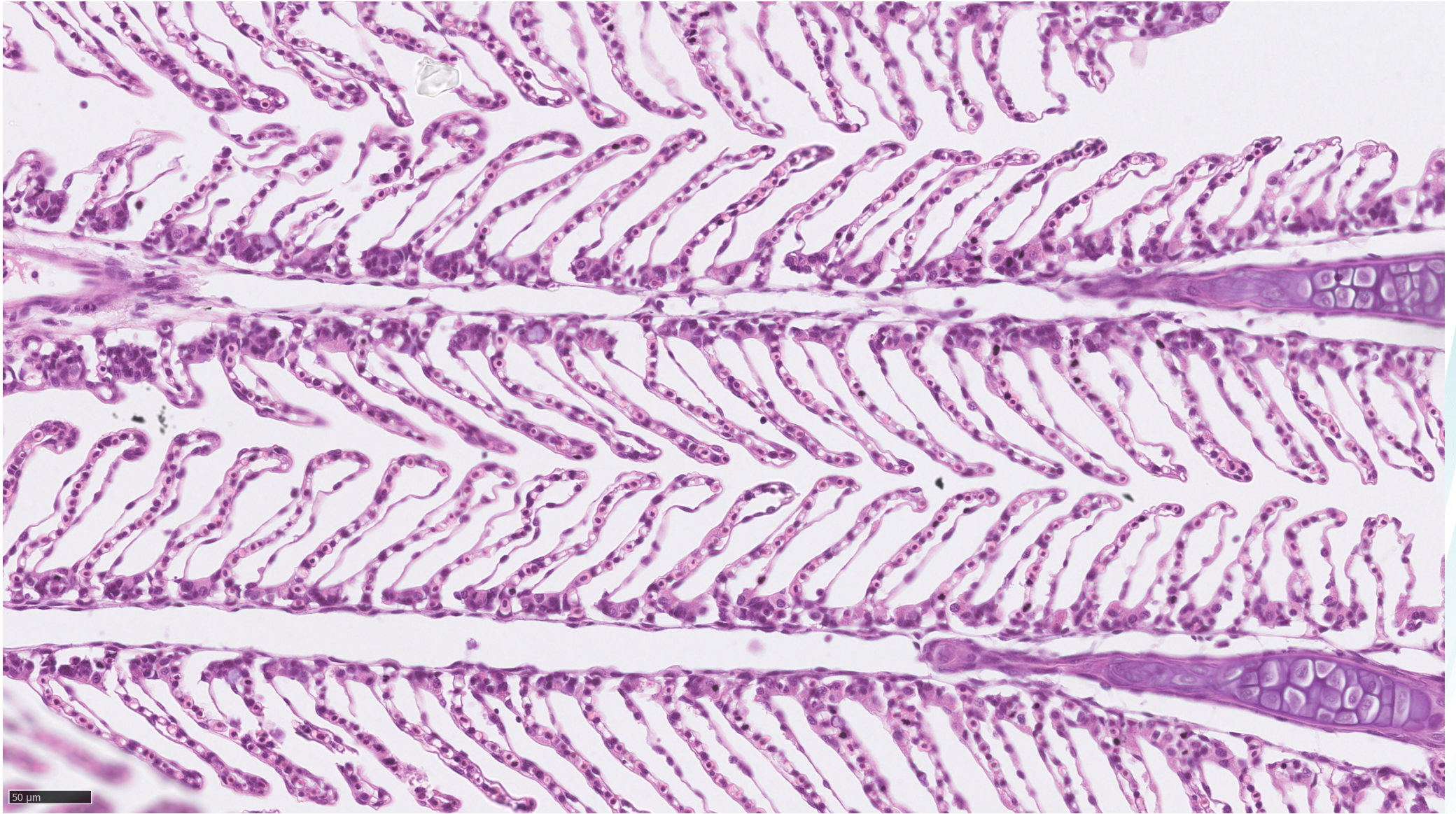
Table 2. Median score for organ autolysis over time at **21°C** (0 = minimal, 1 = mild, 2 = moderate and 3 = severe) N = 3 for all groups.

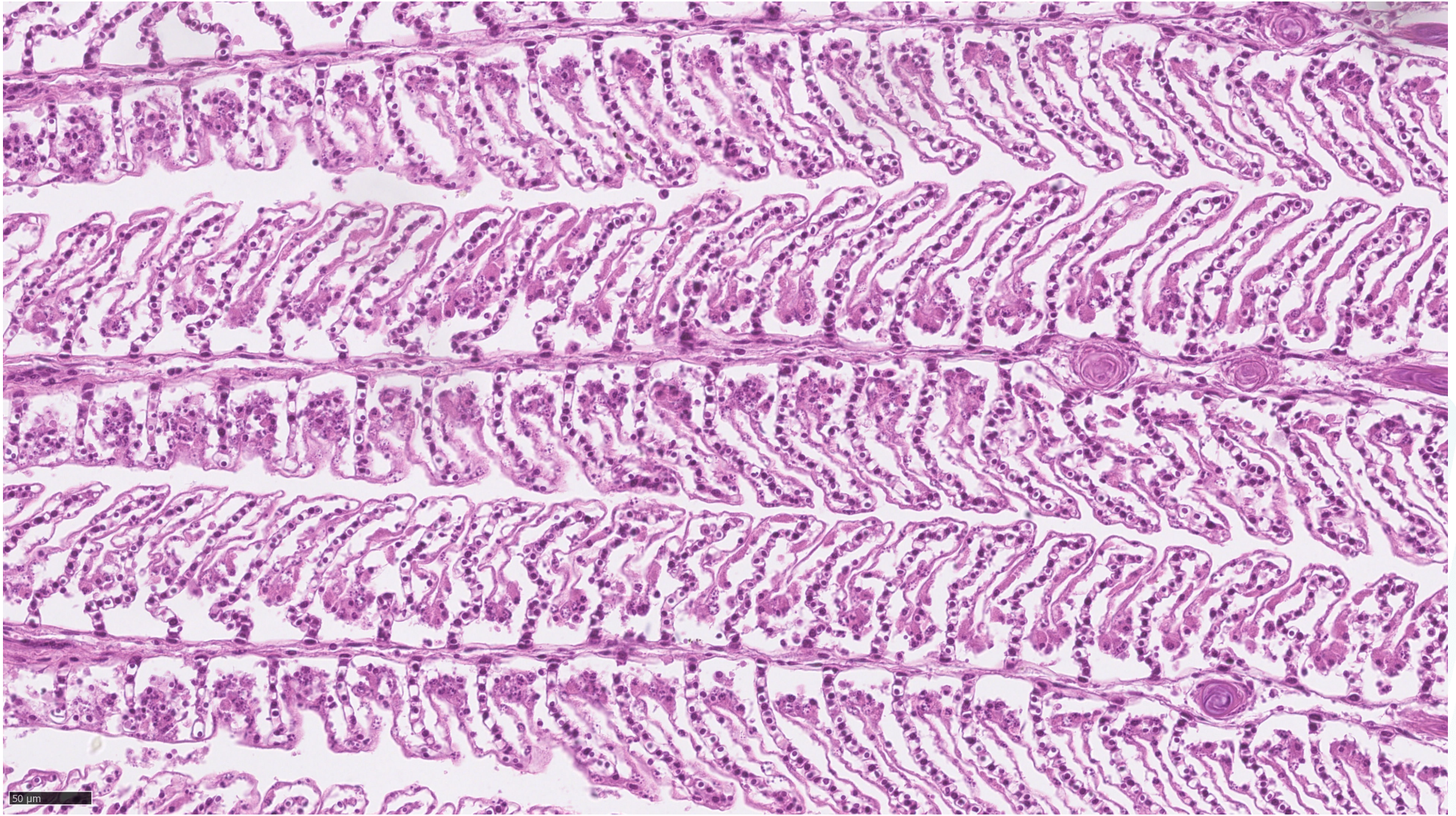
Organs/tissue Room temperature (RT) (21°C)	Histological score over different time intervals				
	0 hour	1 hour	4 hours	24 hours	48 hours
Gills	0	2	3	3	3
Pyloric caeca/pancreas	0	1	2	3	3
Liver	0	1	2	3	3
Stomach	0	0	0	3	3
Posterior kidney	0	0	1	3	3
Spleen	0	0	1	3	3
Skeletal muscle	0	0	1	1	1
Heart muscle	0	0	1	2	3

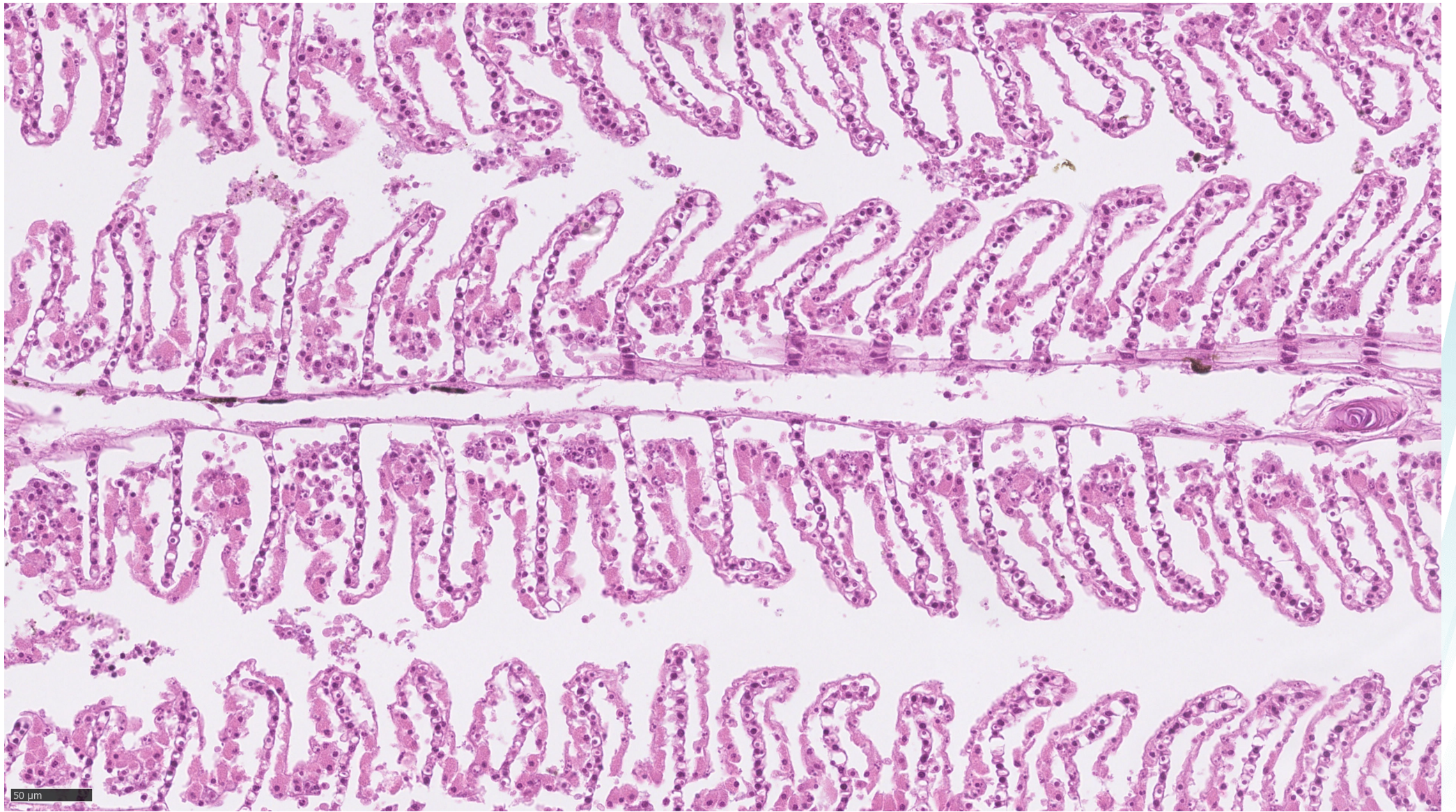






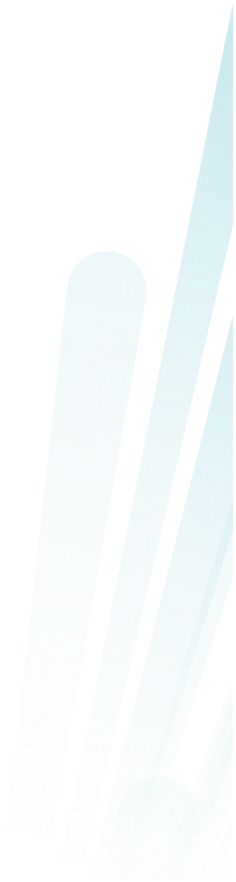
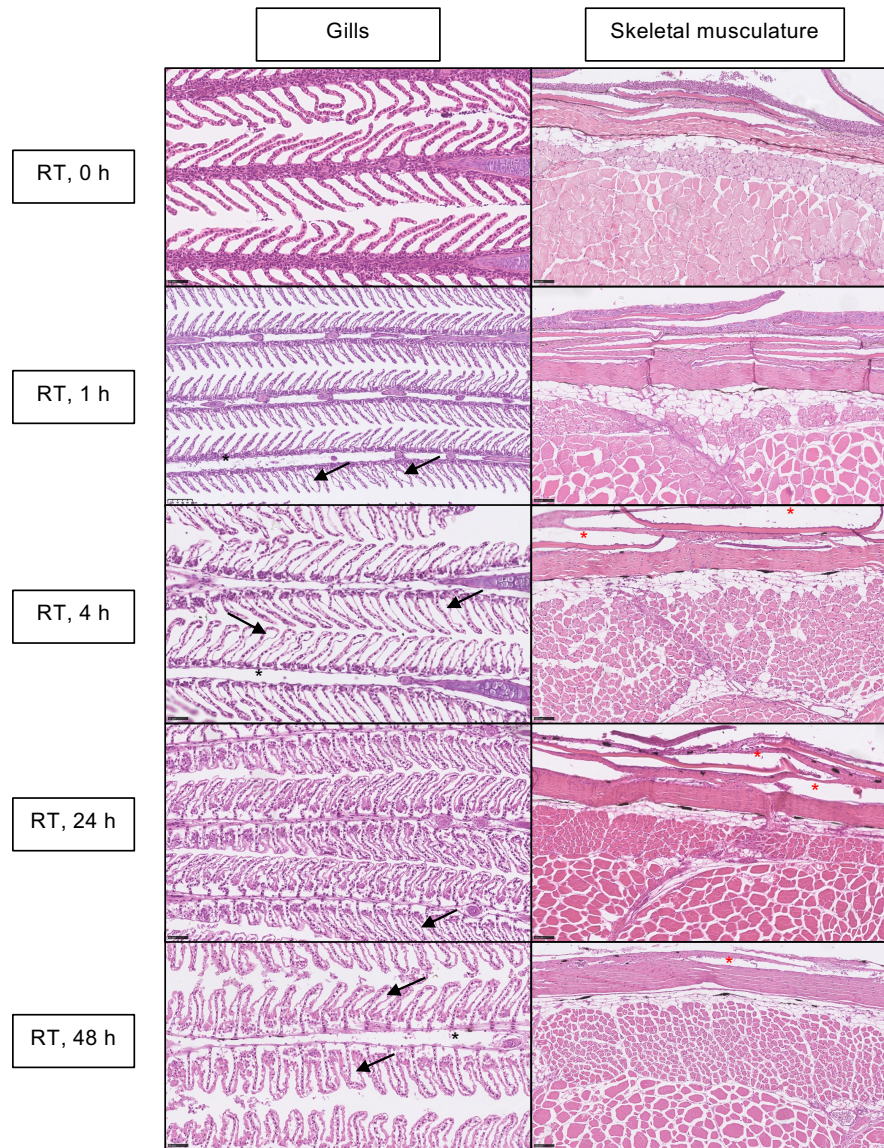




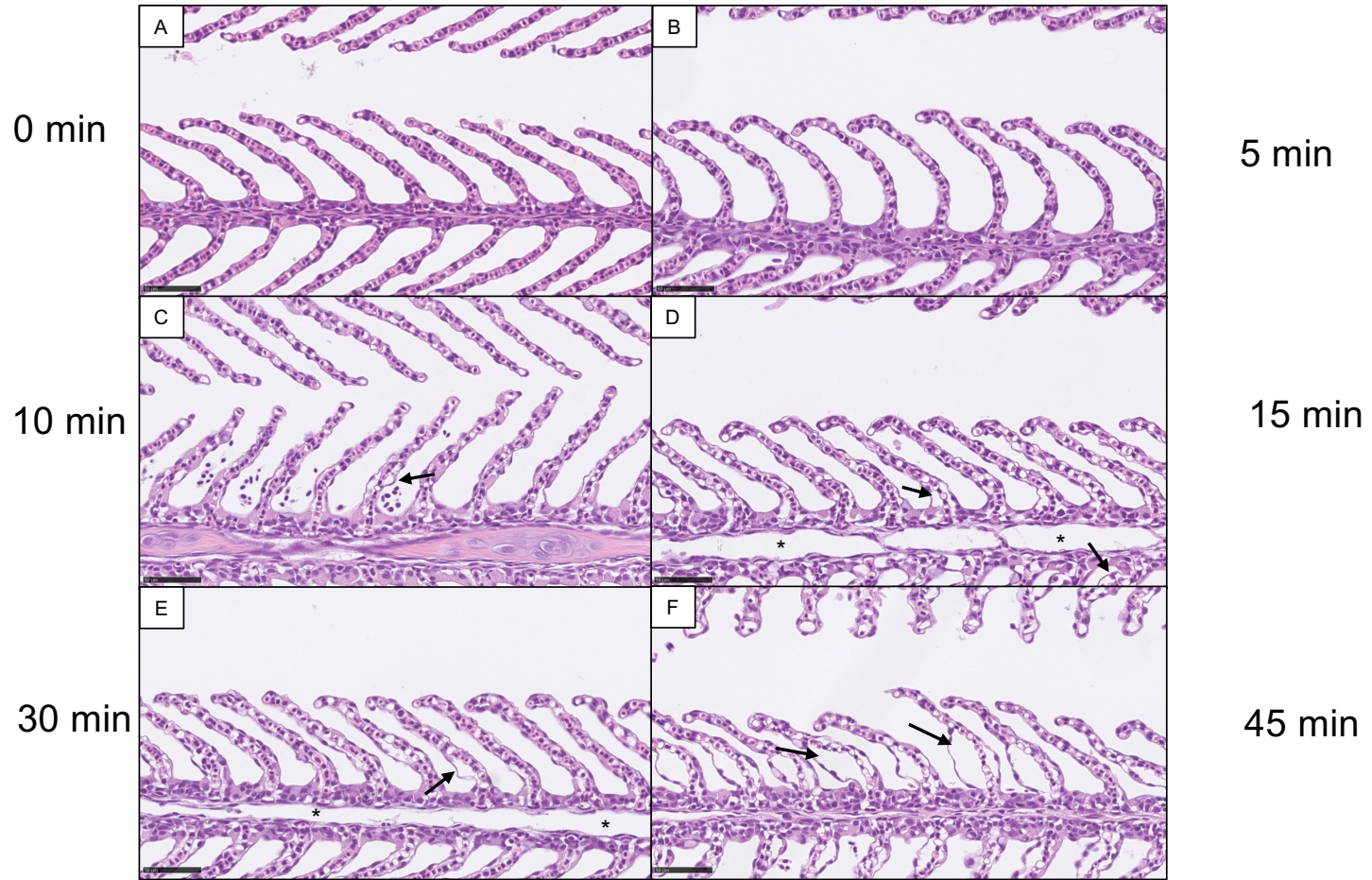


50  $\mu$ m

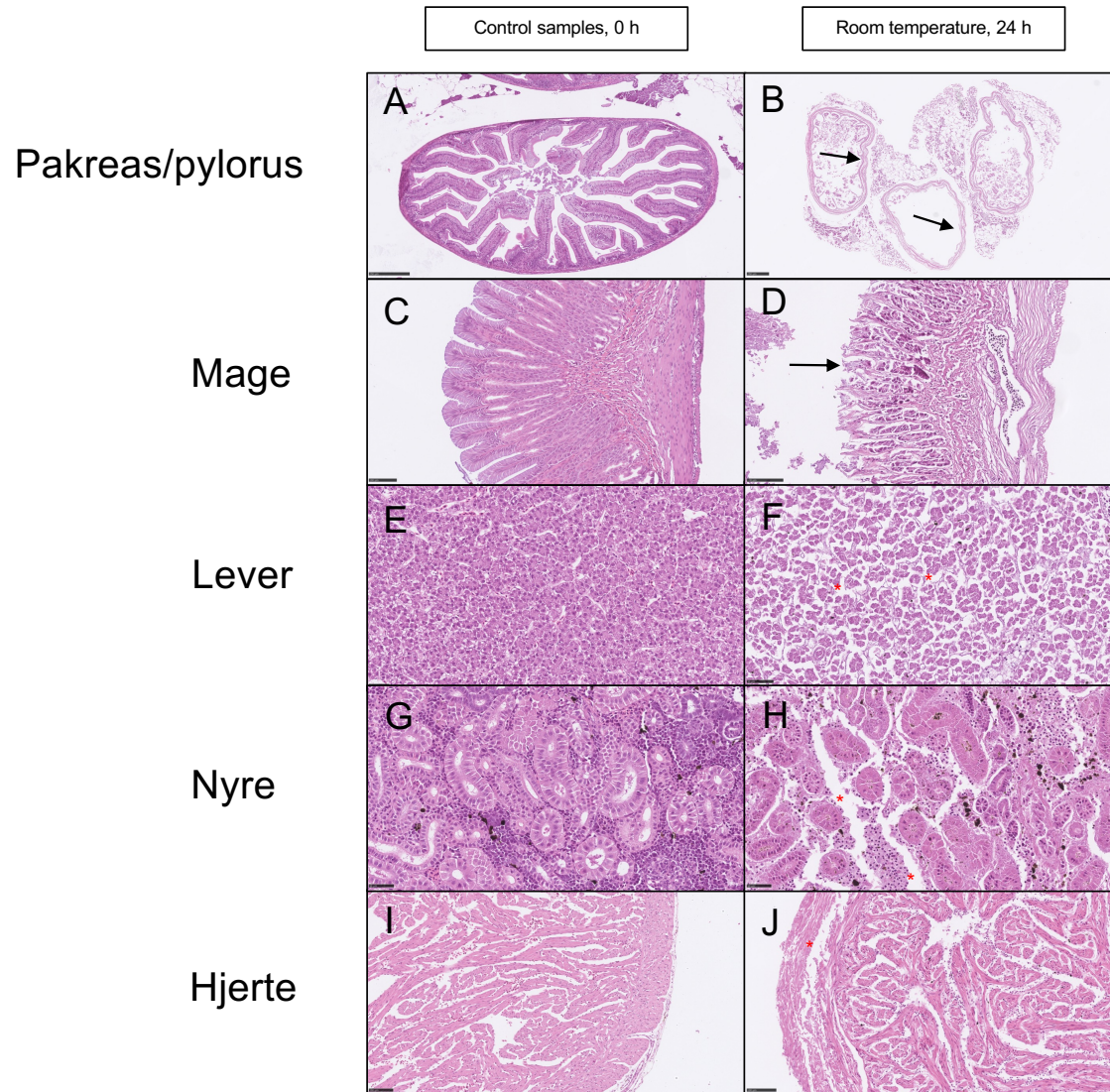
# Resultater



# Resultater



# Resultater



## Resultater

Table 3. Median score for organ autolysis over time at 4°C (0 = minimal, 1 = mild, 2 = moderate and 3 = severe) N = 3 for all groups.

Organs/tissue	Histological score over different time intervals				
	0 hour	1 hour	4 hours	24 hours	48 hours
Refrigerator (RF) (4°C)					
Gills	0	2	2	3	3
Pyloric caeca/pancreas	0	1	1	3	3
Stomach	0	0	0	3	3
Liver	0	0	0	3	3
Posterior kidney	0	0	2	2	3
Spleen	0	0	0	2	3
Skeletal muscle	0	0	0	0	1
Heart muscle	0	0	1	2	2





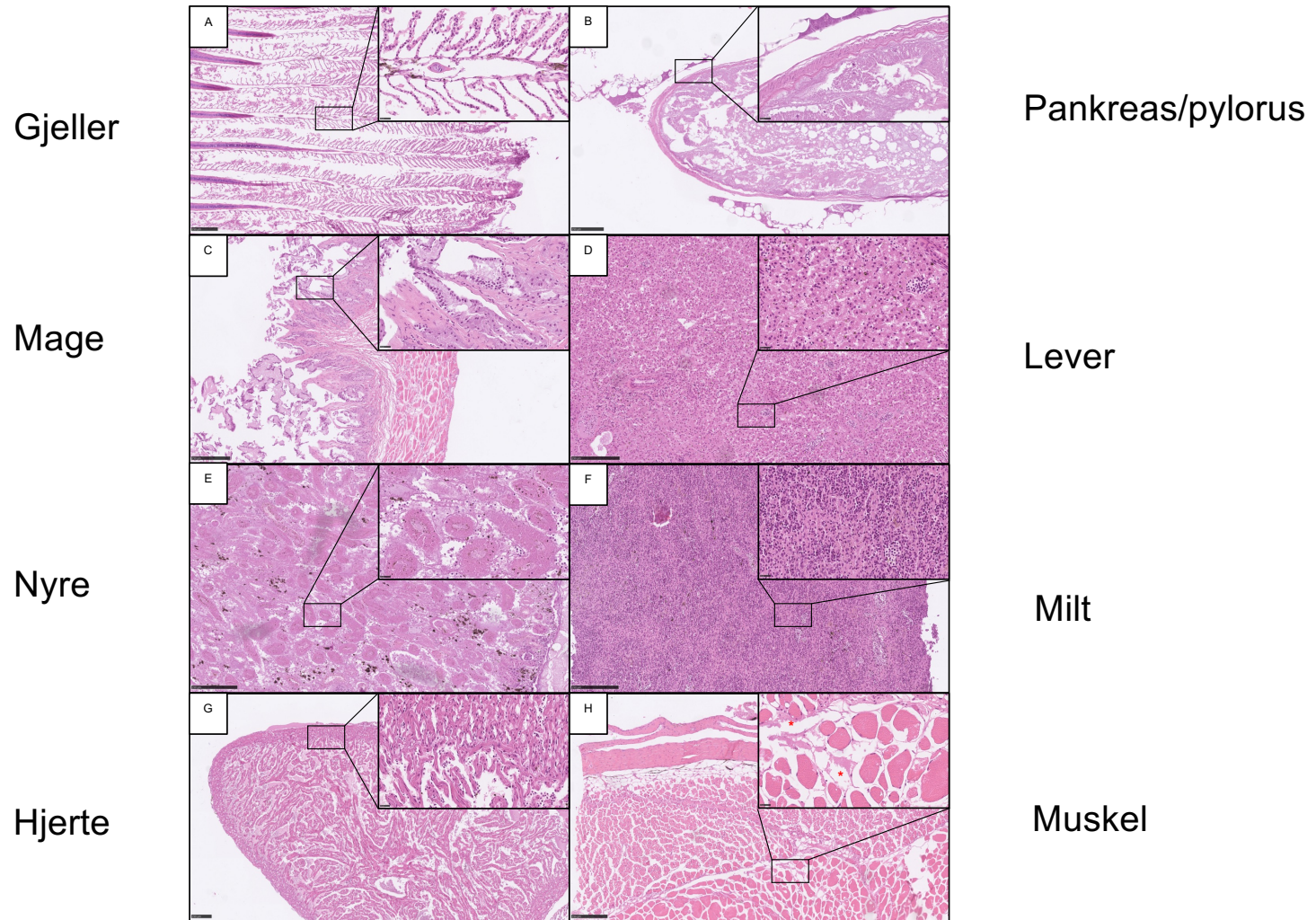
## Resultater

Table 4. Median score for organ autolysis over time at -20°C (0 = minimal, 1 = mild, 2 = moderate and 3 = severe) N = 3 for all groups.

Organs/tissue Freezer (-20°C)	Histological score over different time intervals				
	0 hour	1 hour	4 hours	24 hours	48 hours
Gills	0	3	2	3	3
Pyloric caeca/pancreas	0	0	3	3	3
Stomach	0	0	3	3	3
Liver	0	0	3	3	3
Posterior kidney	0	1	2	3	3
Spleen	0	0	3	2	3
Skeletal muscle	0	0	2	3	3
Heart muscle	0	0	1	1	1



# Fryseartefakter



## Konklusjon

- Utvikling av postmortelle endringer/ autolytiske forandringer varierer mellom ulike organer.
- Gjellene var mest utsatt og endringer kunne registrere så tidlig som 10 minutter etter død.
- Pylorus/pankreas var også svært utsatt for autolyse
- Hjerte/skjelettmuskulatur var mindre utsatt for autolyse
- Kjøling (4°C) ga liten eller marginal forskjell i utvikling av autolyse
- Frysing forhindret ikke autolyse men ledet i tillegg til dannelse av fryseartefakter







## Best praksis


1. Vi anbefaler at prøver fra laks til histologisk undersøkelse blir prøvetatt så tidlig som mulig etter død
2. Om mulig bør gjeller og pylorus/pankreas tas ut først og helst innen **10 minutter etter død**
3. Det må være nok fikseringsvæske (1 del prøve og 9 deler fikseringsvæske)
4. Materialet må ikke fryses



**JOURNAL OF  
FISH DISEASES**

RESEARCH ARTICLE |  Open Access |   

**Evaluation of histological post-mortem changes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at different time intervals and storage temperatures**

Lisa Furnesvik, Toni Erkinharju, Miroslava Hansen, Muhammad Naveed Yousaf, Tore Seternes 

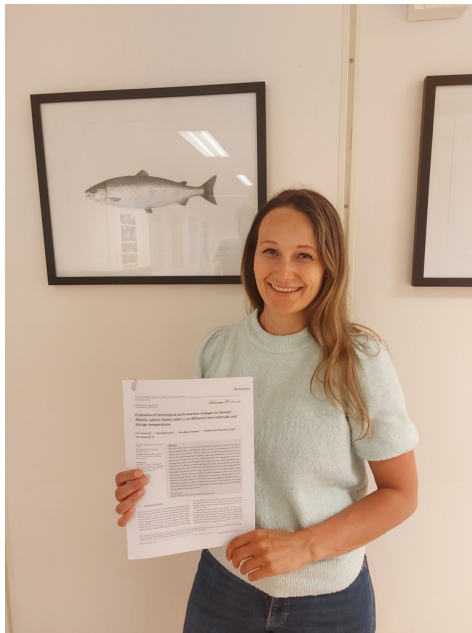
First published: 29 June 2022 | <https://doi.org/10.1111/jfd.13681>

<https://doi.org/10.1111/jfd.13681>



# En stor takk til mine kollegaer i Harstad

Lisa Furnesvik  
Miroslava Hansen  
Muhammad Naveed  
Toni Erkinharju



**Veterinærinstituttet**  
Norwegian Veterinary Institute