

Effekt av fôr på melaninflekker i laks infisert med både PRV og SAV

Turid Mørkøre, Jens-Erik Dessen, Thomas Larsson, Raúl J. Guerrero og Kjell-Arne Rørvik





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 Johnsensgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5828 Bergen

Sunnalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

	ISBN: 978-82-8296-403-6 (trykt) ISBN: 978-82-8296-404-3 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Tittel:</i> Effekt av fôr på melaninflekker i laks infisert med både PRV og SAV	<i>Rapportnr.:</i> 31/2016
	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Turid Mørkøre, Jens-Erik Dessen, Thomas Larsson, Raúl J. Guerrero og Kjell-Arne Rørvik	<i>Dato:</i> 27.juni 2016
<i>Avdeling:</i> Ernæring og fôrteknologi	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 23
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og Havbruksnæringens forskningsfond (FHF)	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF # 901216
<i>Stikkord:</i> Oppdrettslaks, melanin, mørke flekker, HSMB, PD, kvalitet	<i>Prosjektnr.:</i> 11552
<p>Sammendrag: Resultatene fra prosjektet viste at fôring av laks med et magert, proteinrikt fôr halverte dødeligheten etter sykdomsutbrudd ved SAV3 og PRV koinfeksjon, økte «superior»-andelen med 12 % enheter og reduserte forekomsten av mørke filetflekker med 11 % enheter. Forekomsten av store filetflekker var redusert ned til en tredjedel.</p> <p>I prosjektet undersøkte vi effekt av fôr på forekomst av mørke filetflekker etter sykdomsutbrudd ved PRV & SAV3 koinfeksjon. Laksen fikk et magert (25 % fett), proteinrikt (46 % protein) testfôr eller et ordinært fôr (35 % fett og 37 % protein) fôr, under og en periode etter et naturlig sykdomsutbrudd i juli 2015 (tre merder per fôrtype ved Nofimas FoU konsesjoner i Sør-Norge). All fisk ble undersøkt for mørke filetflekker ved samme slaktevekt (4 kg sløyd). Dødelighet og tilvekst varierte mellom merdene etter sykdomsutbruddet, med betydelig lavere dødelighet og bedre vekst for laksen som fikk testfôret (dødeligheten halvert). Mengden PRV i mørke flekker og normal muskel avtok i tid fra sykdomsutbruddet. Forekomsten av melaninflekker var 11 % enheter lavere for laksen som fikk testfôr sammenlignet med ordinært fôr (15,6 % vs. 26,3 %). I tillegg til å vurdere totale frekvensen av mørke flekker, er det også interessant å se på andelen fileter med store problematiske flekker som er vanskelige å trimme bort (> 3 cm). Testfôret reduserte forekomsten av store flekker med 2/3. For laksen som fikk det ordinære fôret var det en klar sammenheng mellom dødelighet og forekomst av mørke flekker mens forekomsten av mørke filetflekker i laks som fikk testfôret var stabil og uavhengig av dødelighet (2.600 fileter evaluert). PRV-virus ble funnet i nyre, hjerte og filet i all fisk, uavhengig av om den hadde flekker eller ikke. Mengden PRV i mørke flekker og normal muskel avtok i tid fra sykdomsutbruddet. For testgruppen ble 91 % av laksen klassifisert som «superior», mens «superior» andelen for laksen som fikk det ordinære fôret var på 79 %. Redusert fettinnhold og økt proteininnhold syntes derved fordelaktig med dagens fôringredienser.</p>	
<p><i>English summary:</i></p> <p>Commercially reared Atlantic salmon were fed a lean, protein rich test diet or a standard energy dense diet prior to, during and a period after a natural disease outbreak (07.2015) associated with PRV and SAV3 co-infection. The feed ingredients were the same in both diets. The test group had 11 % units lower frequency of dark spots and also significantly fewer fillets with serious large spots at slaughter. The occurrence of spots was higher in net pens with high mortality for salmon fed the standard diet, but the prevalence of dark spots was stable of the test group fed the lean diet. The proportion of salmon classified as “superior” by the slaughterhouse was 91 % for the test diet and 79 % for the standard diet. PRV was detected in skeletal muscle, kidney and heart, independent of the occurrence of dark spots. The amount of PRV virus in fillets decreased with time after the outbreak. The major feed effects on the response to SAV3 & PRV co-infection in form of decreased mortality, growth, proportion of “superior” salmon, and prevalence and severity of dark fillet spots at slaughter, shows that decreasing the fat level and increasing the protein level is advantageous with today’s blend of ingredients in feeds for Atlantic salmon.</p>	

Innhold

1	Innledning.....	1
1.1	Melanin og betennelse.....	1
1.2	Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB) og pankreas sykdom (PD)	2
1.3	Fôr.....	3
1.4	Styringsgruppen.....	3
2	Formål	4
3	Materiale og metode.....	5
3.1	Fiskemateriale, fôr og sykdomsutbrudd.....	6
3.2	Analyse av mørke flekker i filet	7
3.3	Kvalitetsgradering av sløyd laks.....	8
3.4	Virus.....	9
3.4.1	Laks fra slaktelinja (30 laks per uttak)	9
3.4.2	Laks fra filetlinja (400 fileter per uttak).....	9
3.5	Dataanalyse	9
4	Resultater	11
4.1	Dødelighet og fôr.....	11
4.2	Kvalitetsgradering («superior» og «pinner»)	12
4.3	Mørke filetflekker vs. dødelighet og fôr.....	14
4.4	Flekkenes størrelse.....	15
4.5	Virus.....	16
4.5.1	PRV, utvikling over tid	16
4.5.2	PRV, CT-verdi i forhold til størrelsen på flekkene.....	18
4.5.3	PRV, hjerte og nyre.....	19
5	Oppsummering	21
6	Referanser og leveranser.....	22

1 Innledning

Mørke flekker i laksefilet er et problem som ble beskrevet for mer en 20 år siden (Koteng, 1992), men det er først i de senere år at mørke flekker har utviklet seg til et vesentlig kvalitetsavvik. I 2003 viste registreringer ved et norsk røykeri at 7 av 100 fileter hadde mørke flekker, men allerede fire år senere, i 2007, hadde forekomsten steget til 18 av 100 fileter. Den markante økningen skjedde i en periode med vesentlige endringer av laksens førseddel samt økende utbrudd av sykdommene pankreas sykdom (PD) og hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB).

Forekomsten av mørke flekker i laksefilet varierer geografisk og mellom anlegg innenfor samme geografiske område. Landsgjennomsnittet var på 19 % i fjor (Tabell 1). Flekkene sitter hovedsakelig i overflaten av fremre bukområde av fileten. Flekkenes størrelse varierer, men de fleste har en diameter opp til 3 cm.

Tabell 1 Forekomst av mørke flekker i norsk oppdrettslaks (% av fileter) (Mørkøre m.fl. 2015-FHF 900824).

År	Forekomst Norge	Forekomst Nord-Norge	Forekomst Midt-Norge
2011	13 %	11 %	16 %
2012	16 %	15 %	18 %
2013	18 %	13 %	20 %
2014	19 %	15 %	23 %
2015	19 %	13 %	24 %

Mørkpigmentert muskel er normalt et lokalt kvalitetsavvik i laksefilet. Det vil si at ernæringsmessig og sensorisk vil filetene være på linje med resten av partiet dersom den mørkpigmenterte muskelen trimmes bort. For større og dypere flekker vil fjerning av mørk muskel resultere i avvikende utseende. Rund laks med mørke flekker i fileten har generelt et normalt utseende og det er ikke mulig å sortere ut laks med mørk pigmentert muskel ved å bedømme den visuelt fra utsiden. Kvalitetsavviket må derved håndteres av kunden dersom laksen omsettes sløyd. I dag er mørke filetflekker en viktig årsak til misnøye hos kundene, økonomiske tap og skadet omdømme for bedriftene. Kostnaden som bedriftene rapporterer ved slike fargeavvik varierer, men tapet beløper seg til flere hundre millioner kroner årlig. Det betyr at bare en beskjeden reduksjon av problemet med mørke filetflekker vil gi stor økonomisk gevinst for bransjen.

1.1 Melanin og betennelse

Melaninpigmenter er naturlige og nyttige antioksidanter som beskytter ulike vev, og de er viktige deler av immunforsvaret hos laks. Syntesen av melanin er en omstendelig prosess og i løpet av syntesen produseres ulike mellomprodukter. Det er vist at noen mellomprodukter kan være skadelige for nærliggende ved, for eksempel ved høyt fettinnhold i muskelen. Vi vet ikke om høyt melaninakkumulering kan øke innholdet av skadelige mellomprodukter.

Laks har melaninproduserende celler og en type betennelsesceller som produserer melanin, såkalte melanomakrofager. Insekter bruker melanin til å uskadeliggjøre virus, parasitter og bakterier ved å pakke de inn i substansen. Mye tyder på at laksen benytter tilsvarende mekanismer, men da ikke som fritt melanin, men som melanin lokalisert til melanomakrofager. I FHF prosjektet 900824 (Mørke flekker i laksefilet) ble det gjennomgående påvist betennelse (inkludert melanomakrofager), heling

(regenerasjon) og arrdannelse (fibrose) i mørke flekker. Flekkene kan således ha både akutte og kroniske forandringer samtidig. Arrdannelsene tyder på at flekkene kan blekne over tid men at det tar lang tid før vevet normaliseres, om noensinne. Det er ikke uvanlig at fileter har flere flekker med tilsynelatende forskjellige utviklingsstadier/ har oppstått på ulike tidspunkt (Figur 15). Genanalyser tyder på at betennelsen er forårsaket av antigener, dvs. enten hele mikroorganismer eller byggestener som laksen ikke klarer å kvitte seg med (Krasnov m.fl., 2016). Årsaken til at skaden oppstår i utgangspunktet er uvisst. Ideelt blir skadede celler fjernet av betennelsesceller som selv blir nedbrutt når vevet er normalisert. Hvis laksens betennelsesceller ikke klarer å fjerne årsaken (f.eks. bakterier, virus), kan betennelsen fortsette, eventuelt vil agens innkapsles og vevreaksjonen avtar. Helingsprosessen påvirkes av vevets helingsevne, årsaken til skaden samt ytre miljøfaktorer og ernæring (Mørkøre m.fl., 2015).

1.2 Hjerne- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB) og pankreas sykdom (PD)

PD og HSMB er utbredte sykdommer hos norsk oppdrettslaks i dag, og de kan opptre samtidig i en laksepopulasjon.

HSMB er en smittsom virussykdom (PRV virus) hos oppdrettslaks som ble påvist for første gang i 1999 (Kongtorp m.fl. 2004). Sykdommen forårsakes av viruset *Piscine orthoreovirus* (PRV) (Palacios m.fl. 2010), eller identiske salmon reovirus, ASRV (Mikalsen m.fl. 2012). I 2014 ble HSMB-utbrudd innrapportert for 181 lokaliteter til Veterinærinstituttet. Sykdomstegn på HSMB er blekt hjerte, blek lever og væske i bukhulen. De mest typiske skadene hos fisk med HSMB er nedbrytning og betennelse i hjerte- og skjelettmuskulatur, men leveren kan også være skadet. Skadeomfanget kan variere, men i fileten er skadene ofte tydeligst i den mørke muskelen under skinnet. Betydelige og varige skader av hjertemuskulaturen fører til sirkulasjonssvikt som gjør fisken sårbar for håndtering og annet stress, og laks som dør av HSMB, har ofte betydelige sirkulasjonsforstyrrelser (<http://www.vetinst.no>).

PRV finnes alltid hos laks med HSMB, men laks kan ha betydelige virusmengder uten å utvikle HSMB. Faktorer som trolig bidrar til å utløse sykdomsutbrudd er, ifølge Veterinærinstituttet, ernæring, stress, autoimmune reaksjoner, hypoksi, temperaturforhold mm. Andre agens kan også være involvert. Det finnes ingen behandling mot HSMB, og det finnes ingen vaksiner på markedet.

PD er også en svært smittsom virussykdom for laksefisk oppdrettet i sjø. Sykdommen skyldes infeksjon med viruset *Salmonid alfavirus* (SAV). I Norge forekommer to subtyper av viruset, marin SAV2 og SAV3. De første tilfellene av PD i Norge ble registrert i Hordaland i 1989, og i 2014 ble totalt 142 anlegg diagnostisert med PD (Bornø & Lie, 2014). Laks med PD sykdom har i likhet med HSMB, redusert appetitt, tilvekst og fôrutnyttelse. Skadene i hjerte og filet ligner de man finner ved HSMB, men i tillegg opptrer tap/skader av bukspyttkjertelen (eksokrin pankreas). Laksen kan ha betydelige betennelseskader i fileten som kan føre til blek filetfarge og unormalt hard tekstur, avhengig av alvorlighetsgraden av de patologiske forandringene (Larsson m.fl. 2012; Taksdal m.fl. 2012).

Stress av fisken øker risikoen for utbrudd av sykdommer. Økt alvorlighetsgrad og høyere dødelighet av både HSMB og PD er rapportert i forbindelse med f.eks. avlusing, splitting og flytting av fisk (Bornø & Lie, 2014). Forekomsten av både HSMB og PD varierer over året. Månedlig insidensrate for SAV3 har de siste fem årene vært høyest sommermånedene, juni – august (Fiskehelse rapporten 2015). HSMB kan, slik som PD, bryte ut hele året, men høyest forekomst antas å være fra mai-juni og okt-nov (Fiskehelse rapporten 2007).

Nyere forskning slo fast at mørke filetflekker i oppdrettslaks kun oppstår dersom PRV viruset er tilstede (Bjørngen m.fl. 2015). Det synes også å være økt risiko for utvikling av store, problematiske flekker ved PD-utbrudd tett opp til slakting (Lerfall m.fl. 2012) (høyere for SAV3 enn for SAV2) (Mørkøre m.fl. 2015). Det er imidlertid uvisst om alvorlighetsgrad av sykdomsutbrudd påvirker melanindeponering og i hvilken grad en koinfeksjon av SAV & PRV har betydning.

1.3 Fôr

FHF prosjektet 900824 (Mørke flekker i laksefilet) viste at sykdom, fysiske skader og dårlig vannkvalitet kan øke forekomsten mens antioksidanter i fôret kan hemme utviklingen av mørke flekker. Videre pekte prosjektet på at økningen av mørke flekker skjedde i en periode med vesentlige endringer av laksens fôrseddel og at det ikke kan utelukkes at endringer av fôrets råvaresammensetning kan påvirke deponering av melaninpigmenter i fileten. For eksempel er det sterke indikasjoner på at fettsyreprofilen i fôret har betydning for utviklingen av filetflekker. Den økte konkurransen om marine fôroljer har ført til en gradvis økende innblanding av planteoljer siden årtusen skiftet. I dag består hoveddelen av oljen i laksefôr av rapsolje.

Den økte etterspørselen etter fiskeoljer på det globale råvaremarkedet, og derav høye priser, gjør det vanskelig å justere fettsyresammensetningen i laksefôret mot en mer marin profil, som synes å kunne hemme betennelsesutvikling (f.eks. Martinez-Rubio m.fl. 2012) og utviklingen av melaninflekker (upublisert). Fôrsammensetningen påvirker fiskens evne til å takle infeksjoner og helingsevne (Tacchi m.fl. 2011), og det er tenkelig at den øvre grensen for fettinnhold i fôret bør justeres nedover for fôr med lavt innhold av fiskeolje og høy innblanding av planteråstoff, både av hensyn til fiskens evne til å takle infeksjoner og helingsevne etter sykdomsutbrudd; derav også kvalitetsfeil ved alvorlige sykdomsutbrudd og normalisering av filetkvaliteten etter sykdom.

1.4 Styringsgruppen

Øyvind Oaland, Marine Harvest ASA – Teknisk direktør

Geir Magne Knutsen, Bremnes Seashore AS – Oppdrettssjef

Erlend Haugarvoll, Lingalaks AS – Daglig leder

Line Rønning, Lerøy Midt AS - Kvalitetssjef

Ansvarlig FHF:

Kristian Prytz, fagsjef industri/foredling

2 Formål

Forutsigbar filétkvalitet er en forutsetning for god lønnsomhet og omdømmet i laksenæringen. Økt kunnskap om forhold som forårsaker kvalitetsfeil er viktig for å kunne iverksette forebyggende tiltak.

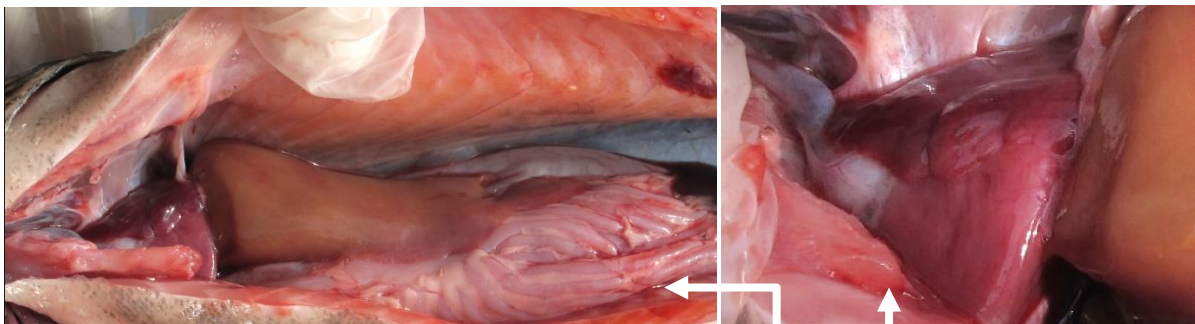
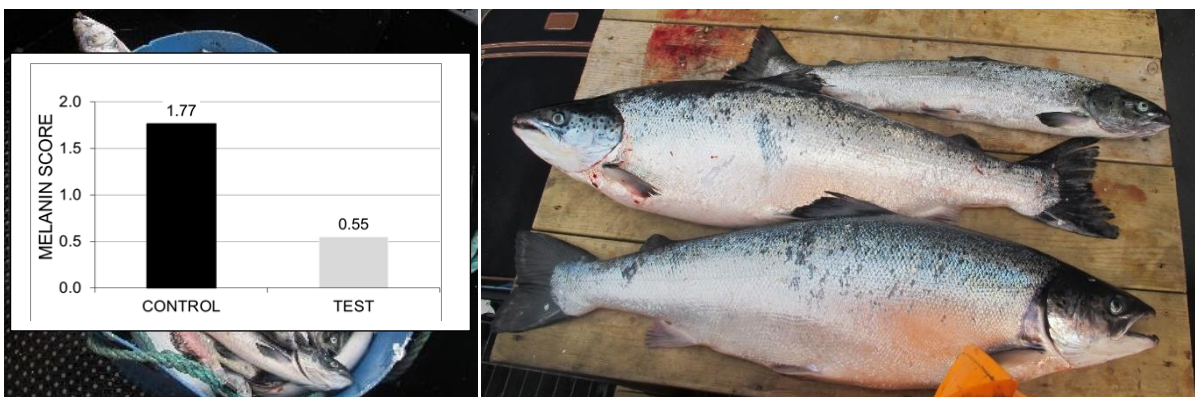
Hovedformålet i prosjektet var å øke kunnskapen om betydningen av SAV3 og PRV koinfeksjon samt fôr for forekomsten av melaninflekker i laksefilét.

Delmål

- Å undersøke om alvorlighetsgraden av sykdomsutbrudd ved SAV3 og PRV koinfeksjon påvirker melanindeponering i laksefilét.
- Å undersøke om forholdet mellom fett og protein i laksefôret påvirker melanindeponering etter sykdomsutbrudd av SAV3 og PRV (koinfeksjon).

3 Materiale og metode

Nofima har forskningskonsesjoner hos oppdrettere, hvorav to er samlokalisert med Blom Fiskeoppdrett utenfor Bergen (Figur 1). I dette anlegget ble det på sommeren 2015 påvist koinfeksjon av SAV3 & PRV av laks som var henholdsvis 1,3 kilo og 1,9 kilo (to tidspunkt for utsett, Tabell 4). FHF vurderte at en nærmere undersøkelse av denne kommersielt oppdrettede laksen kunne gi en pekepinn på betydningen av en koinfeksjon av SAV3 og PRV for utviklingen av melaninflekker, og også om et magert, proteinrikt fôr kan hemme forekomsten av melaninflekker.



Utseendet av innvollene varierte. Laksen over var tatt levende fra merd. Laksen under hadde vært død i maks 24 timer



Mørk filetflekk i laks

Figur 1 Merdene i forsøket (øverst) og død laks tatt ut til analyse 23/9-2015, to måneder etter sykdomsutbruddet. Figuren øverst til venstre viser resultater fra registrering av mørke flekker i filet (3 x lavere forekomst i laksen som fikk testfôret sammenlignet med kontrollfôret).

3.1 Fiskemateriale, fôr og sykdomsutbrudd

Laksen som ble benyttet i undersøkelsene var oppdrettet ved Radøy i Hjeltefjorden, Hordaland. Lokaliteten hadde seks merder (120 m omkrets), hver med ca. 100 000 laks. Fire av merdene tilhørte Nofimas FoU konsesjoner, mens to tilhørte oppdretter.

Laksesmolt ble overført til sjø i september (2 merder) og oktober (4 merder) 2014. Laksen fikk to ulike fôr (kontrollfôr i hele sjøfasen eller testfôr i en periode), 3 merder per fôrtype. Kontrolldietten inneholdt et protein / fett-forhold som vanligvis brukes i kommersielle fôr i henhold til fiskens størrelse, mens protein / fett-forholdet i testfôret var høyere. Fôringrediensene var standard råvarer som benyttes i fôr til norsk oppdrettslaks. Aminosyresammensetning og fettsyresammensetning var tilnærmet lik for begge fôrtypene. Sammensetningen av fôrene er vist i Tabell 2 (fra fisken veide 500 g, fôr sykdomsutbruddet) og Tabell 3 (fra fisken veide 1000 g, i løpet av og etter sykdomsutbruddet). Laksen gitt testfôr fikk et fôr med 40 % protein og 35 % fett fra 1. oktober (laksen som veide 1,9 kg ved sykdomsutbruddet) eller 1. november (laksen som veide 1,3 kg ved sykdomsutbruddet). Alt fôr ble produsert av Biomar.

Laksen ble fôret til metning flere ganger daglig, ved bruk av undervannskamera.

Tabell 2 Sammensetning av 5 mm fôret som ble brukt i studien.

	Testfôr	Kontrollfôr
Proteininnhold, %	46.9	41.6
Fettinnhold, %	26.2	31.1
Aske, %	7.7	6.6
Vanninnhold, %	6.8	6.0
Stivelse, %	9.1	9.3
Protein/ Fett ratio	1.8	1.3

Tabell 3 Sammensetning av 10 mm fôret som ble brukt frem til 1. september for laksen som veide 1,9 kg ved sykdomsutbruddet og 1. oktober for laksen som veide 1,3 kg ved sykdomsutbruddet.

	Testfôr	Kontrollfôr
Proteininnhold, %	46,1	36,5
Fettinnhold, %	24,7	34,5
Aske, %	6,3	5,0
Vanninnhold, %	7,4	5,5
Stivelse, %	7,4	7,4
Brutto energy, KJ/g	22,7	24,7
Protein/Fett ratio	1,9	1,1
EPA/DHA	0,9	1,1

I begynnelsen av juni 2015 ble alle nøter lusebehandlet og dette utløste en kortvarig økt dødelighet. I slutten av juni 2015, avtok appetitten og den lokale fiskehelsetjenesten ble tilkalt pga. mistanke om sykdom. Den 29. juni ble det tatt organprøver av fisken fra begge fôrbehandlingene. Veterinærinstituttet (NVI, Oslo) analyserte prøvene histologisk og Pharmaq Analytic (Bergen) analyserte vevsprøver av hjerte. Resultatene fra undersøkelsene viste at laksen var koinfisert med SAV (CT 15,8 – 19,8) og PRV (CT 21,5 – 31,7). Sekvensering viste SAV3. Histopatologiske undersøkelser av hjerte viste varierende grad av epikarditt og hypercellularitet og nekroser i kompakte og spongiosa. Det var atrofi av eksokrint pankreasvev i alle prøver. I rød skjelettmuskulatur var det nekroser og hypercellularitet i bindevevet mellom muskeltrådene i alle prøver. Nekroser og degenerasjon ble også påvist i hvit del, men mindre uttalt. Det vil si at koinfeksjon av SAV3 og PRV ble dokumentert før dødelighet ble observert i merdene. Akutt klinisk dødelighet karakteriseres som HSMB / PD relatert når den gjennomsnittlige daglige dødeligheten overstiger 0,05% (i henhold til definisjonen til Mattilsynet).

Den akutte kliniske dødelighet varte fra 1. til 20. juli 2015 (Figur 3). Vektprøver ble tatt av fisken og fisk fra de fire FoU-merdene ble tatt ut for undersøkelse av kjemiske sammensetning i filét den 12. august.

Laksen ble slaktet når den hadde oppnådd en sløydvekt på 4 kg i gjennomsnitt. Slaktetidspunktet varierte derfor mellom merdene og reflekterte størrelsen på fisken ved sykdomsutbruddet juli 2015 og hvor alvorlig laksen var rammet av koinfeksjonen. En oversikt over når laksen fra de 6 merdene ble overført i sjø, fôrtype, kroppsvekt ved sykdomsutbruddet og slaktedato er vist i Tabell 4 nedenfor.

Tabell 4 Oversikt over tidspunkt ved overføring av laksen i sjø, kroppsvekt ved sykdomsutbrudd (SAV3 og PRV koinfeksjon), fôrtype og slaktetidspunkt for merdene i forsøket.

Overføring sjø	Merd	Kroppsvekt ved sykdomsutbrudd juli 2015	Fôr	Slaktedato
Oktober 2014	1	Liten fisk – 1.3 kg	Kontroll	23.mai 2016
September 2014	2	Stor fisk – 1.9 kg	Kontroll	11.februar 2016
Oktober 2014	3	Liten fisk – 1.3 kg	Kontroll	28.april 2016
Oktober 2014	4	Liten fisk – 1.3 kg	Test	01.april 2016
September 2014	5	Stor fisk – 1.9 kg	Test	14.januar 2016
Oktober 2014	6	Liten fisk – 1.3 kg	Test	18.mars 2015

3.2 Analyse av mørke flekker i filet

All laks ble slaktet ved Sotra Fiskeindustri, Sotra. Ved slakt ble 200 laks (4 - 5 kg) registrert umiddelbart etter filetering på filetlinja for mørke flekker, 200 venstre fileter og 200 høyre fileter. Laksen fra de seks merdene ble filetert med maskin, som fjernet ryggbein og ribbein med bukhinne. Registreringene omfattet plassering av flekkene (B1=fremre buk, B2=bakre bukdel, Rygg), og størrelsen av flekkene (1 poeng = svak, grålig skygge, 2 poeng = tydelig mørk pigmentflekk opp til 3 cm i diameter, 4 poeng = tydelig mørk pigmentflekk 3 – 6 cm i diameter, 8 poeng = tydelig mørk pigmentering av et område større enn 6 cm) (Mørkøre 2012). Fileter med flekker fra de 4 merdene tilhørende Nofimas FoU konsesjon ble tatt fra linjen og undersøkt nærmere. Prøver ble tatt av utvalgte fileter med flekker av ulik intensitet og størrelse (se avsnitt 3.4.2).

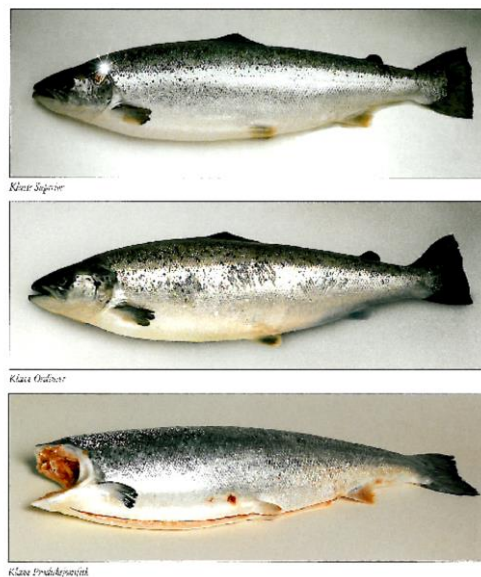
I tillegg til registrering av flekker ved filetlinjen, ble laks fra tre størrelsesklasser: 4 kg, 5 kg og 6 kg selektert tilfeldig på slaktelinjen fra merdene tilhørende Nofimas forsøkskonsesjon; 10 laks per størrelsesklasse, til sammen 120 laks fra de fire merdene. Etter vektregistreringer og prøvetaking av hjerte og nyre (RNA-later), ble laksen iset i isoporkasser og transportert til Nofima, Ås for analyse. Forekomst av mørke flekker i filet ble registrert i henhold til samme mal som beskrevet overfor (0 – 8 poeng), 6-7 dager etter slakting.

Gjennomføring av forskningsprosjektet i samarbeid med et kommersielt slakteri og prosessanlegg gav oss muligheten til å registrere forekomst av mørke flekker av et stort fiskemateriale. Registreringer av et så stort fiskemateriale styrker resultatene, men krever stor innsats. Det tette samarbeidet mellom forskning (Nofima) og industri (Blom fiskeoppdrett og Sotra Fiskeindustri) anses som svært nyttig, både for å få relevante registreringer av et tilstrekkelig stort fiskemateriale og for å oppnå relevant kunnskap for industrien. Registrering av et høyt antall fileter er spesielt viktig for et kvalitetsavvik som mørke filetflekker som viser betydelig variasjon både mellom nøter og innen samme not. Forekomst av mørke flekker og flekkstørrelse ble registrert av mer enn 2.600 fileter totalt.

3.3 Kvalitetsgradering av sløyd laks

Tilgang på data fra slakteriets egen kvalitetsgradering («superior», «ordinær», «produksjonsfisk», «utkast») av all sløyd laks fra merdene i forsøket bidrar med svært nyttig kunnskap om kvaliteten av laksens utvendige utseende. Klassifiseringen av laks i «superior», «ordinær», «produksjonsfisk», «utkast» er frivillig for bedriftene. Følgende gradering ble kunngjort av Eksportutvalget for fisk i 1999:

- *Superior fisk*: Et førsteklasses produkt med egenskaper som gjør det velegnet til alle formål. Produktet er uten betydelige feil, skader eller mangler og har et positivt helhetsinntrykk.
- *Ordinær fisk*: Et produkt med begrensede ytre eller indre feil, skader eller mangler. Produktet skal ikke ha vesentlige feil, skader eller mangler som vanskeliggjør videre anvendelse.
- *Produksjonsfisk*: Fisk som ikke tilfredsstillende kravene til Superior eller Ordinær på grunn av feil, skader eller mangler sorteres i klassen Produksjon som leveres hodekappet (Figur 2). Utkast omfattet i hovedsak «pinner», dvs. taperfisk med kroppsvekt lavere enn vekten av fisken ved sykdomsutbruddet (hhv 1,3 eller 1,9 kg i gjennomsnitt).



Figur 2 Eksempler på fisk fra ulike kvalitetsklasser: Superior (øverst), Ordinær (midten), Produksjon (nederst).

3.4 Virus

Alle prøver som ble tatt ut i forsøksperioden ble analysert samtidig (2/6-2016). En lav CT-verdi for en prøve indikerer mer virus-RNA enn en høy verdi (deteksjonsgrense = 37).

3.4.1 Laks fra slaktelinja (30 laks per uttak)

Prøver av hjerte (hjertespiess) og hodenyre ble tatt av samtlige laks fra tre størrelsesklasser: 4 kg, 5 kg og 6 kg fra nøtene tilhørende Nofimas forsøkskonsesjon; 10 laks per størrelsesklasse (fire merder x 30 fisk = 120 laks). Prøvene ble konserverert i merkede rør med RNA-later. Blant laksen som viste seg å ha mørke flekker etter *post-rigor* filetering, ble utvalgte individer selektert for virusanalyse (PRV og SAV3) av hjerte og hodenyre, samt for *renibacterium salmoninarum* i hodenyre (forårsaker Bakteriell nyresyke, BKD). Laksen som ble valgt ut til virusanalyse hadde et spekter med flekker av ulik størrelse/alvorlighetsgrad. Virus- (PRV og SAV3) og bakterieanalyser ble foretatt ved Patogen Analyse Ålesund.

3.4.2 Laks fra filetlinja (400 fileter per uttak)

Muskelprøver ble tatt til virusanalyser (PRV og SAV3) fra fileter med flekker med ulik størrelse og pigmentering (1 - 4 poeng), samt referansemuskel fra samme filet uten avvikende pigmentering. Prøvene ble konserverert på RNA-later frem til analysering av PRV og SAV3 hos Patogen Analyse, Ålesund.

3.5 Dataanalyse

Resultatene ble bearbeidet statistisk ved bruk av Excel og SAS (version 9.4 for Windows, SAS, Institute Inc., 173 Cary, NC, USA).

Dødelighet ble analysert ved bruk av modellen: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i\beta_j + \epsilon_{ijk}$,

Y_{ijk} = dødelighet, μ = gjennomsnitt, α_i = fast effekt av klassevariabel fôr, i = kontroll, test, β_j = fast effekt av klassevariabel «fiskestørrelse, j = liten eller stor ved sykdomsutbrudd, $\alpha_i\beta_j$ = kovariat, stressrelatert dødelighet i enkeltnøter ved avlusing én måned før sykdomsutbrudd– kontinuerlig variabel, ϵ_{ijk} = tilfeldig effekt.

Modell brukt for observert klinisk dødelighet (%) for de 6 nøtene på lokaliteten: Klinisk dødelighet = Fôr + Fiskestørrelse + Stress

Pearson korrelasjonsanalyse/regresjon ble benyttet for å studere sammenheng mellom parametere. T-test og ikke-parametrisk test (Kruskal-Wallis) ble benyttet for å undersøke effekt av fôr på melanindeponering i filet og sammenheng med forekomst av virusmengde i vev.

4 Resultater

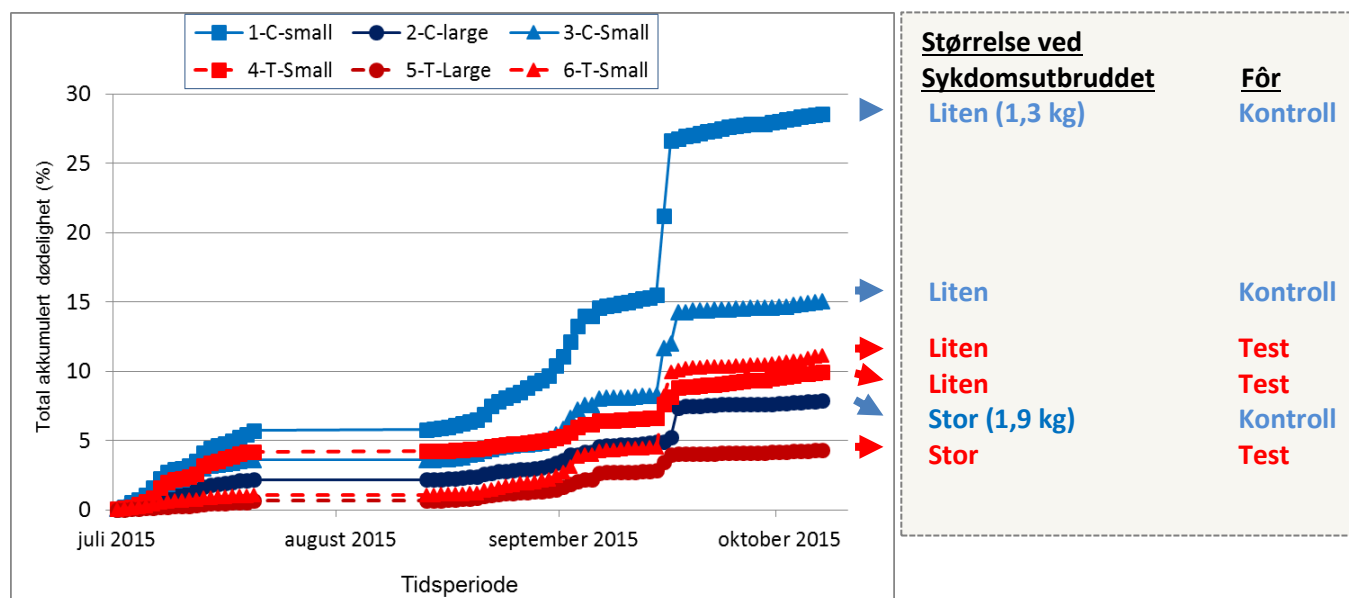
4.1 Dødelighet og fôr

Den akutte dødeligheten ved sykdomsutbruddet i juli 2015 var påvirket av fôrtype, fiskestørrelse ved sykdomsutbruddet samt dødelighet i enkeltløter ved avlusing én måned før sykdomsutbruddet ($P = 0,01$ for både modellen og hver av enkeltfaktorene; $R^2 = 99\%$)

Det proteinrike testfôret halverte den akutte dødeligheten etter sykdomsutbruddet (kontroll = 3,8 % vs. test = 2,0 %). Videre var dødeligheten betydelig høyere for laksen som veide 1,3 kg ved sykdomsutbruddet (3,7 % i gjennomsnitt) sammenlignet med laksen på 1,9 kg (1,4 % i gjennomsnitt).

I etterkant av et PD utbrudd vil det gradvis utvikle seg taperfisk, også kalt «pinner». Dette er fisk som langsomt blir lange og tynne, sannsynligvis fordi de ikke klarer å nyttiggjøre seg fôr på grunn av kronisk skadet bukspyttkjertel (=pankreas) (Jansen m.fl. 2015). Andelen fisk som utvikler seg til taperfisk i etterkant av et utbrudd er rapportert å variere fra 1 % til 31,5 % på lokalitetsnivå i Irland og Skottland (McLoughlin m.fl., 2003). I dette forsøket var det i all hovedsak «pinner» som døde i etterkant av utbruddet. Dødeligheten av «pinner» i etterkant av utbruddet varierte fra 4 til 23 % mellom løtene. I gjennomsnitt 13,4 % for kontrollfôret og 6,5 % for testfôret. Det proteinrike, magre fôret syntes derfor både å forbedre laksens evne til å motstå det akutte sykdomsutbruddet og å dempe negative langtidseffekter etter sykdomsutbruddet.

Produksjonstiden frem til laksen veide 4 kg i gjennomsnitt var en måned kortere for testgruppen sammenlignet med kontrollgruppen (Tabell 5).



Figur 3 Total akkumulert dødelighet for laksen i perioden juli 2015 til oktober 2015. Registreringene i perioden fra oktober frem til slakt er usikre. Hver linje markerer dødelighet for hver av de seks løtene. Laksens størrelse ved sykdomsutbruddet (koinfeksjon SAV3 & PRV) og fôrtype for hver av løtene er markert i boksen til høyre.

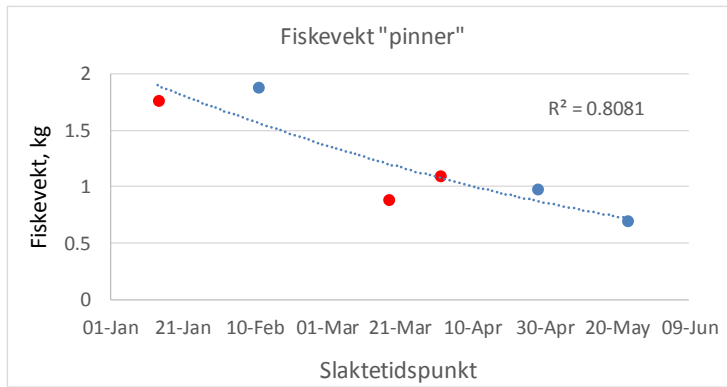
4.2 Kvalitetsgradering («superior» og «pinner»)

Resultatene for sløydvekt og prosentandel for hver av kvalitetsklassene superior, ordinær og produksjon er for all fisken i nøtene i forsøket, bedømt av slakteriet (Tabell 5). Den gjennomsnittlige sløydvekten av laksen fra kvalitetsklassene superior, ordinær og produksjon var henholdsvis 4,2 kg, 3,7 kg og 4,0 kg. Laks som slakteriet kategoriserte som «utkast» var i hovedsak «pinner» med lav kroppsvekt (1,2 kg i gjennomsnitt) med tynn kroppsform (lav kondisjonsfaktor).

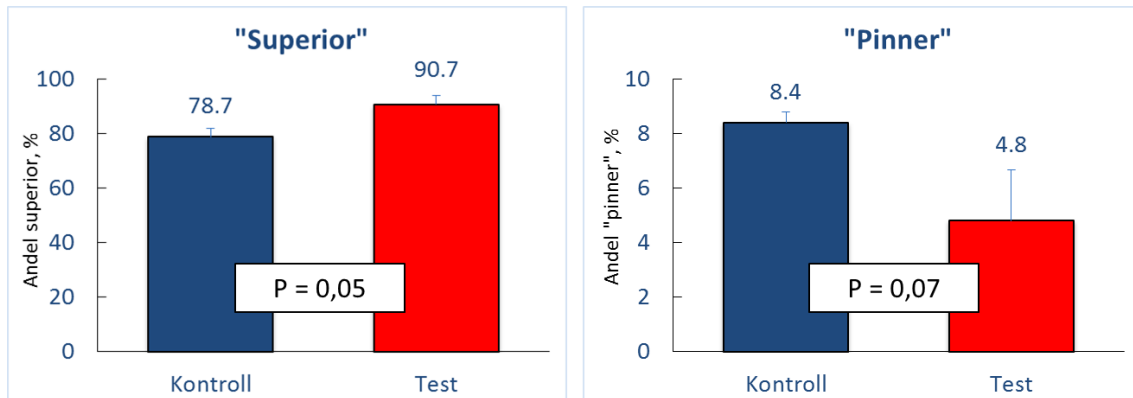
Kroppsvekten av «utkast» laksen avtok fra januar til mai, fra 1,8 kg til 0,7 kg (Figur 4). Den høyere vekten av «utkast» laksen i januar og februar var som forventet, siden denne laksen var fra nøtene med høyest vekt ved sykdomsutbruddet (1,9 kg vs. 1,3 kg). Bedriftens registreringer av andelen «utkast» laks fra testgruppen var 43 % lavere enn for kontrollgruppen (4,8 % vs. 8,4 %), men variasjonen innen fôrgruppe var høy ($P = 0,07$). Bedriftens registreringer viste 12 %-poeng høyere «superior» andel for laksen som var fôret med testfôret sammenlignet med kontrollfôret (90,7 % vs. 78,7 %). Forskjellen mellom fôrgruppene var statistisk signifikant ($P = 0,05$) (Figur 5).

Tabell 5 Sløydvekt og prosentandel for hver av kvalitetsklassene: superior, ordinær, produksjon og utkast. Resultatene er vist for hvert slaktetidspunkt (gjennomsnitt for all laks fra hver merd).

	FÔR	SUPERIOR	ORDINÆR	PRODUKSJON	UTKAST
SLØYD VEKT					
14.01.2016	Test	4,2	3,0	3,8	1,8
11.02.2016	Kontroll	4,1	3,5	3,7	1,9
18.03.2016	Test	4,1	3,5	3,8	0,9
01.04.2016	Test	4,3	3,8	4,0	1,1
28.04.2016	Kontroll	4,2	3,9	4,1	1,0
23.05.2016	Kontroll	4,2	4,3	4,5	0,7
<i>GJENNOMSNITT</i>		4,2	3,7	4,0	1,2
PROSENT					
14.01.2016	Test	96,4	1,3	0,9	1,3
11.02.2016	Kontroll	83,3	6,4	1,6	8,7
18.03.2016	Test	89,8	2,8	2,0	5,4
01.04.2016	Test	85,9	3,2	3,3	7,6
28.04.2016	Kontroll	79,7	5,7	5,9	8,8
23.05.2016	Kontroll	73,1	11,9	7,4	7,6
<i>GJENNOMSNITT</i>		84,7	5,2	3,5	6,6



Figur 4 Vekten av «pinner» registrert ved slakteriet (rød: testfôr, blå: kontrollfôr). Hvert punkt er gjennomsnitt av all laks fra hver merd, registrert ved slakteriet perioden januar til mai 2016.



Figur 5 Andel «superior» laks (A) og «pinner» (B) for laks som fikk henholdsvis kontrollfôr eller testfôr.

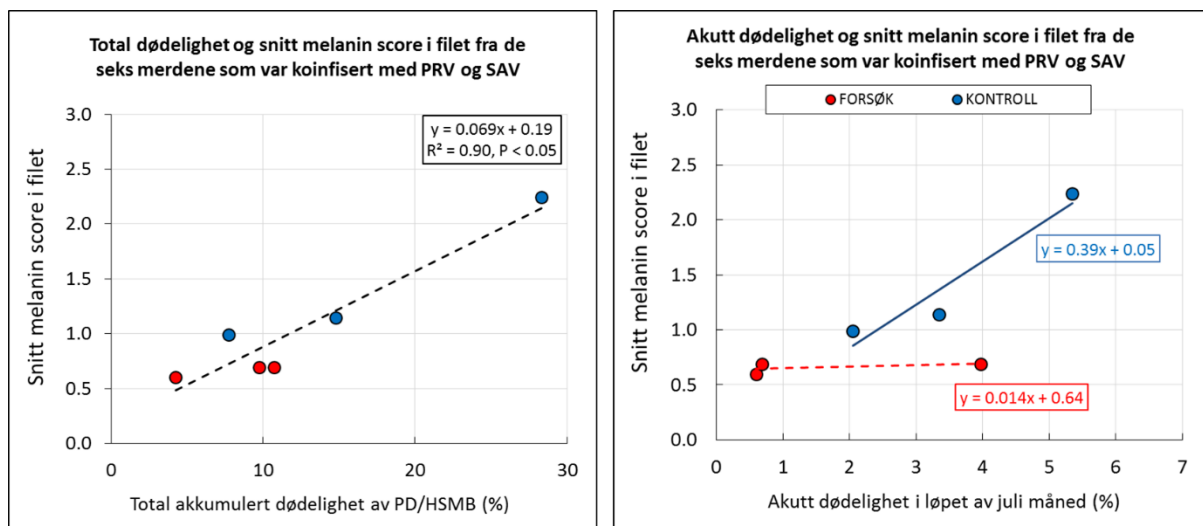
4.3 Mørke filetflekker vs. dødelighet og fôr

Gjennomsnittlig melanin score i filet økte med økende akutt dødelighet for laksen som fikk kontrollfôret (Figur 6). For laksen som fikk testfôret var gjennomsnittlige graden av mørkpigmentering stabil og uavhengig av den akutte dødeligheten. Mønsteret gjentok seg for totale dødeligheten (akutt dødelighet rett etter sykdomsutbruddet + etterfølgende dødelighet av taperfisk, «pinner»), med signifikant lavere melanin score for laksen som fikk testfôr. Laksen som veide 1,3 kg ved sykdomsutbruddet hadde betydelig flere flekker enn laksen som veide 1,9 kg.

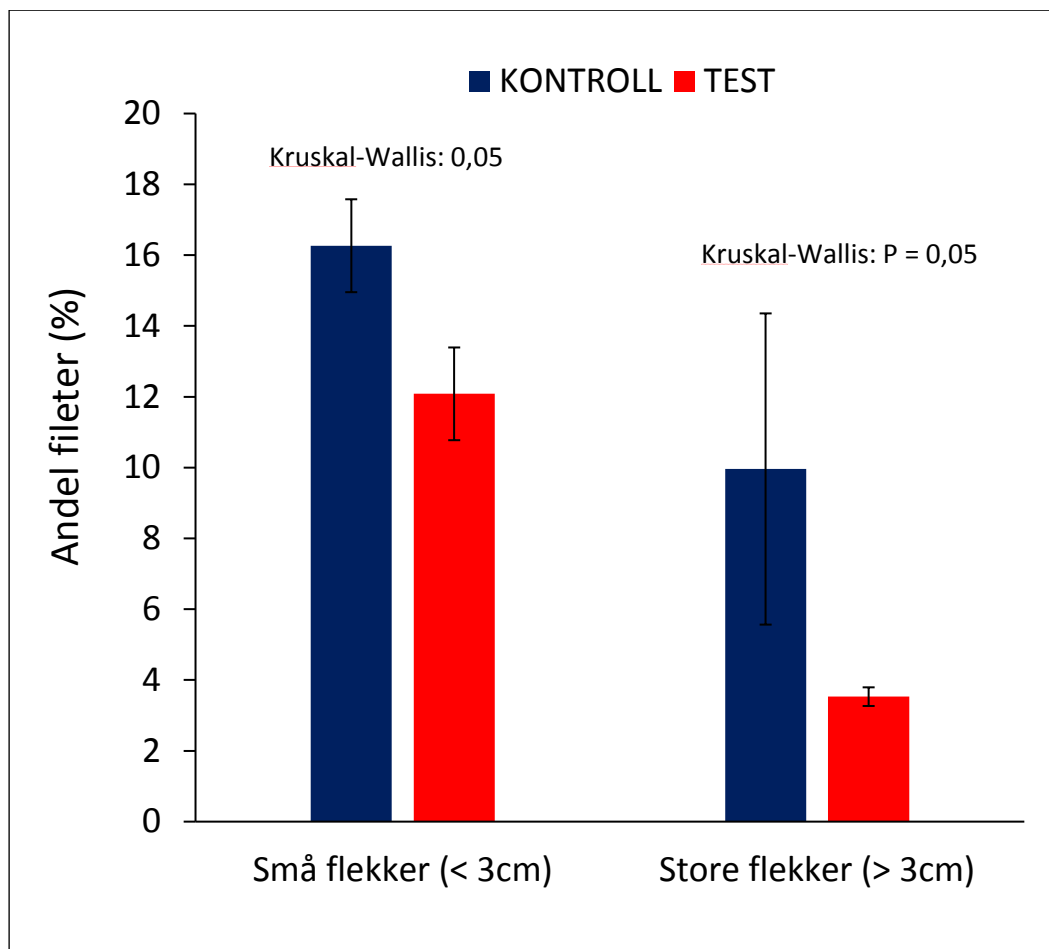
Som det fremgår av Figur 6, var det hovedsakelig dødeligheten av laks som fikk kontrollfôret som forklarer sammenhengen mellom dødelighet og flekkdannelse i fileten, mens scoren for melanin var stabil og uavhengig av dødeligheten for testgruppen. Selv om resultatene tyder på økt melanisering i laks som er kraftig angrepet etter sykdomsutbrudd assosiert med SAV3 og PRV koinfeksjon, ser det ikke ut til å være mulig å forutsi graden av flekkdannelse i laksefilet ut fra dødelighetstall.

Resultatene viser at fôret kan spille en vesentlig rolle. Den lavere deponeringen av melanin i filet av dødfisk i etterkant av sykdomsutbruddet (september 2015; Figur 1), sammen med resultatene på melaninscore ved slakt tyder på at fôret kan ha en viss egeneffekt på melanindeponering i tillegg til å øke laksens motstandsevne.

Det er svært interessant at laksen som fikk testfôret hadde en redusert forekomst av mørke flekker på 10,7 %-enheter sammenlignet med laksen som fikk kontrollfôret (15,6 % vs. 26,3 %) (Figur 7). Gjennomsnittscoren var også lavere (Figur 8). Det betyr at det magre, proteinrike fôret førte til at færre laks fikk flekker og at størrelsen på flekken var betydelig mindre.



Figur 6 Gjennomsnittlig melaninscore ved slakt i forhold til total (venstre) og akutt (høyre) dødelighet etter sykdomsutbrudd (SAV3 og PRV koinfeksjon) for laksen som fikk henholdsvis kontrollfôr (standard kommersielt fôr, blå) eller testfôr (magrere og mer proteinrikt fôr, rød). Hvert punkt i figuren er gjennomsnitt av 230 laks, 460 fileter.



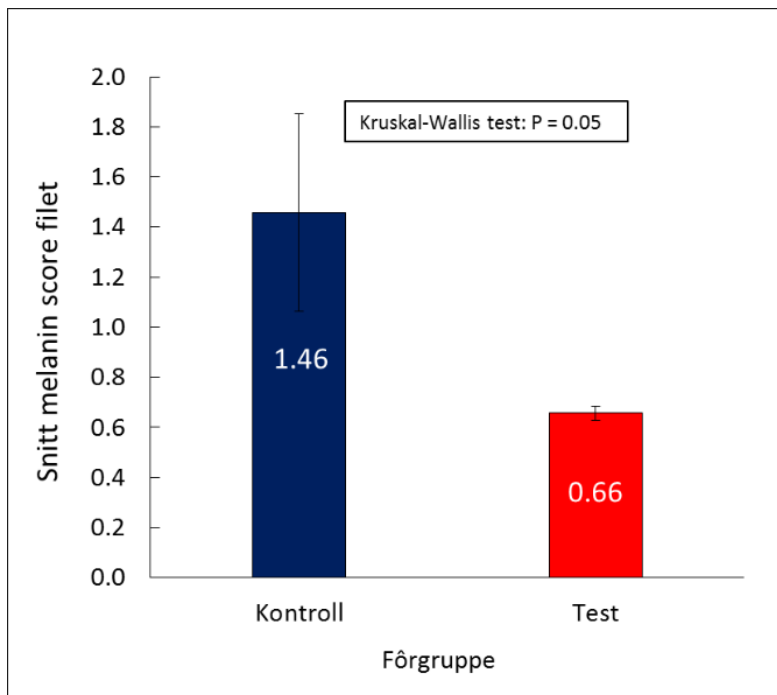
	Antydning Score 1	Små, tydelige flekker opp til 3 cm Score 2	Tydelige flekker større enn 3 cm Score 4
Kontrollfôr	21,2 ± 3,9	16,3 ± 1,3	10,0 ± 4,4
Testfôr	17,9 ± 0,8	12,1 ± 1,3	3,5 ± 0,3
P-verdi	1,0	0,05	0,05

Figur 7 Andel fileter (%) med flekker for hver av fôrgruppene. Tabellen viser gjennomsnittverdiene ± standardfeil med tilhørende P-verdi for hver fôrgruppe.

4.4 Flekkenes størrelse

Størrelsen av flekkene ble vurdert etter en skala fra score 1 til score 8 (FHF standard), der 1 poeng = svak, grålig skygge, 2 poeng = tydelig mørk pigmentflekk opp til 3 cm i diameter, 4 poeng = tydelig mørk pigmentflekk 3 – 6 cm i diameter, 8 poeng = tydelig mørk pigmentering av et område større enn 6 cm (Figur 14). Flekker som får score 1 er svake, små og svært lite synlige pigmenterte områder. For kontrollgruppen fikk 22 % av filetene score 1. For testgruppen fikk 18 % av filetene score 1.

Det er spesielt flekker større enn 3 cm i diameter som er problematiske. Generelt vil fileter med flekker over 6 cm utgå. Kontrollgruppen hadde tre ganger flere alvorlige flekker over 3 cm i diameter (10 % for kontrollgruppen og 3,5 % for testgruppen). Forskjellen mellom fôrgruppene var statistisk signifikant (Figur 7, Figur 8).



Figur 8 Gjennomsnittlig melaninscore (\pm SE) for fôrgruppene i forsøket. Forskjellen mellom laksen som fikk kontrollfôr (blå) og laksen som fikk et magrere og mer proteinrikt fôr (rød) var statistisk signifikant.

4.5 Virus

CT-verdier for SAV3 og PRV ble undersøkt i filet, hodenyre og hjerte.

Det ble kun detektert SAV3 i januar og februar i filet og hjerte. SAV3 ble ikke detektert i nyre (Tabell 6). PRV ble detektert i alle vev som ble undersøkt og ved alle uttakstidspunkt. CT-verdiene for de pre-selekterte prøvene (i forhold til forekomst og størrelse av mørke flekker i filet) for kontrollgruppen og testgruppen var ikke signifikant forskjellige.

Tabell 6 Andel (%) positive prøver per uttaksdato der SAV3 ble detektert. Totalt antall fileter analysert var 36, og totalt antall fisk for nyre- og hjerteanalyser var 27.

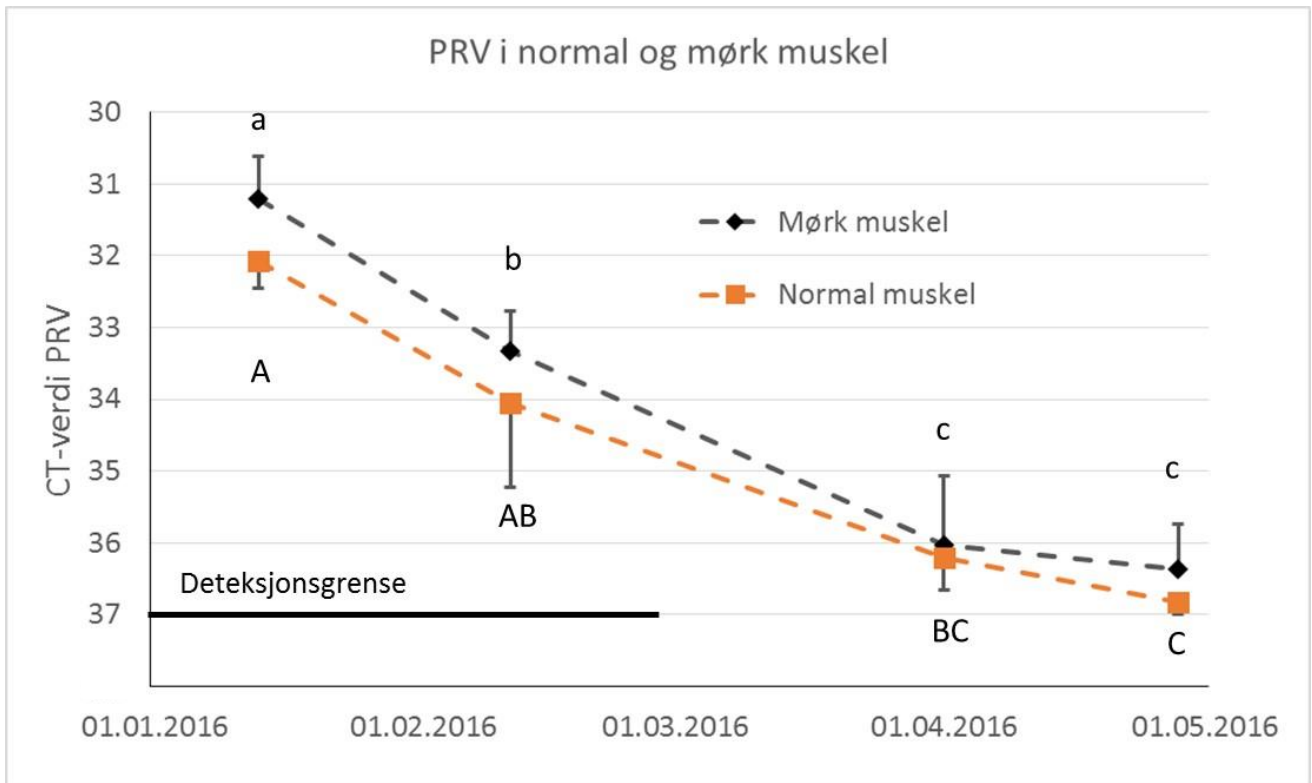
Andel prøver (%) med detektert SAV3				
Uttak	Filet		Hjerte og nyre	
	Normalt utseende	Mørk flekk	Hjerte	Nyre
14. januar	18 %	36 %	14 %	0
11. februar	50 %	8 %	29 %	0
1. april	0	0	0	0
28. april	0	0	0	0

4.5.1 PRV, utvikling over tid

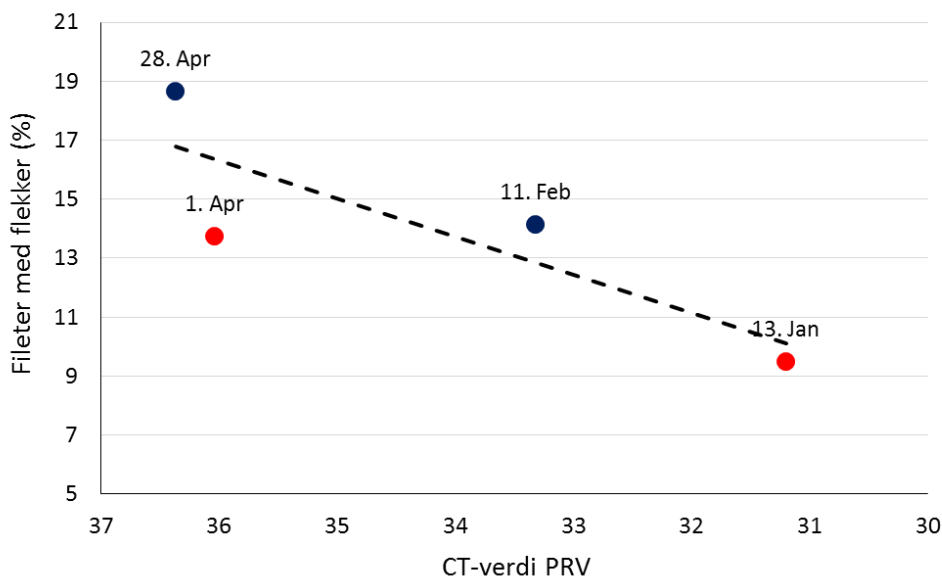
PRV ble funnet både i mørkpigmentert muskel og i vev med normalt utseende fra samme filetområde (3 - 4 cm ved siden av flekken). PRV nivået i muskel avtok med tid fra januar til mai ($R^2=99\%$; $P < 0,05$), men forskjellen mellom PRV CT-verdier i april og mai var ikke statistisk signifikant (Figur 9). Forskjellen i PRV CT-verdier var ikke statistisk signifikant mellom mørke flekker og muskel med normalt utseende.

PRV infiserer de røde blodcellene i fisken. Vi har i tidligere undersøkelser sett at blodmengden i flekker kan være forhøyet sammenlignet med muskel med normalt utseende (Mørkøre og Heia, 2012). Den svake antydningen til høyere PRV mengde i flekkene ($P = 0,68$; innen uttakstidspunkt $P = 0,38 - 0,82$) kan tenkes å være assosiert med forhøyede blodnivåer i flekkene. Høyere nivå av immun celler og makrofager med forhøyede nivåer av PRV kan også være en årsak.

Mengden PRV i flekkene avtok samtidig som andelen fileter med flekker økte utover i slakteperioden, fra januar til mai (Figur 10). Det vil si at høy andel fileter med flekker i et lakseparti, ikke trenger å bety at filetene inneholder høye virusmengder.



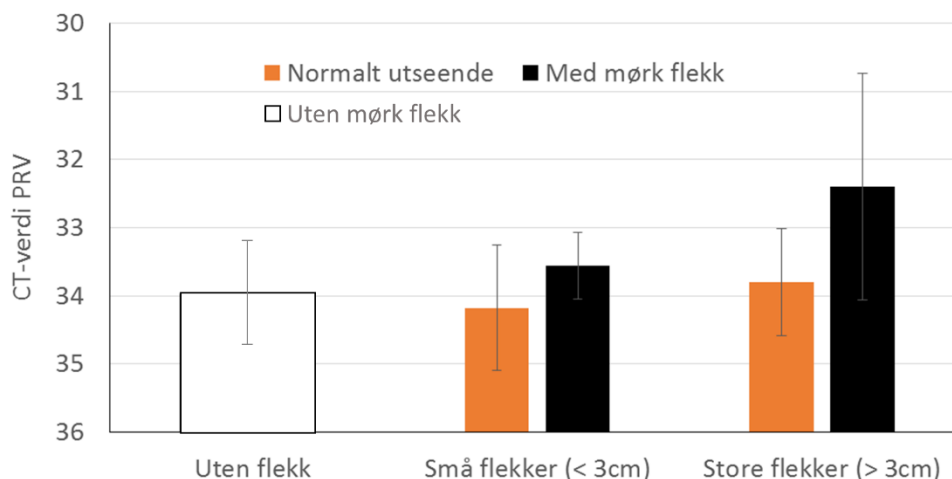
Figur 9 *Piscine orthoreovirus (PRV) CT verdier med standardfeil i mørkpigmenterte flekker med tilsvarende utseende og størrelse (score 2, tydelige flekker opp til 3 cm i diameter) og vev med normalt utseende fra samme filetområde (bukpartiet). Laksen tilhørte vektklassen 4 – 5 kg.*



Figur 10 Sammenheng mellom PRV CT-verdi i flekkene og prosentandel fileter med markante flekker opp til 3 cm (score 2) $y = 1.29x - 30.2$; $R^2 = 0.71$. Blått indikerer at laksen fikk kontrollfôr, rødt indikerer at laksen fikk testfôr.

4.5.2 PRV, CT-verdi i forhold til størrelsen på flekkene

PRV CT-verdier indikerte tilsvarende virusmengder i fileter uten mørke flekker som i muskel ved siden av en mørk flekk (Figur 11). Det var en tendens til høyere virusmengde i store sammenlignet med små flekker, men forskjellen var ikke signifikant forskjellig mellom små (mindre enn 3 cm) og store flekker (større enn 3 cm).

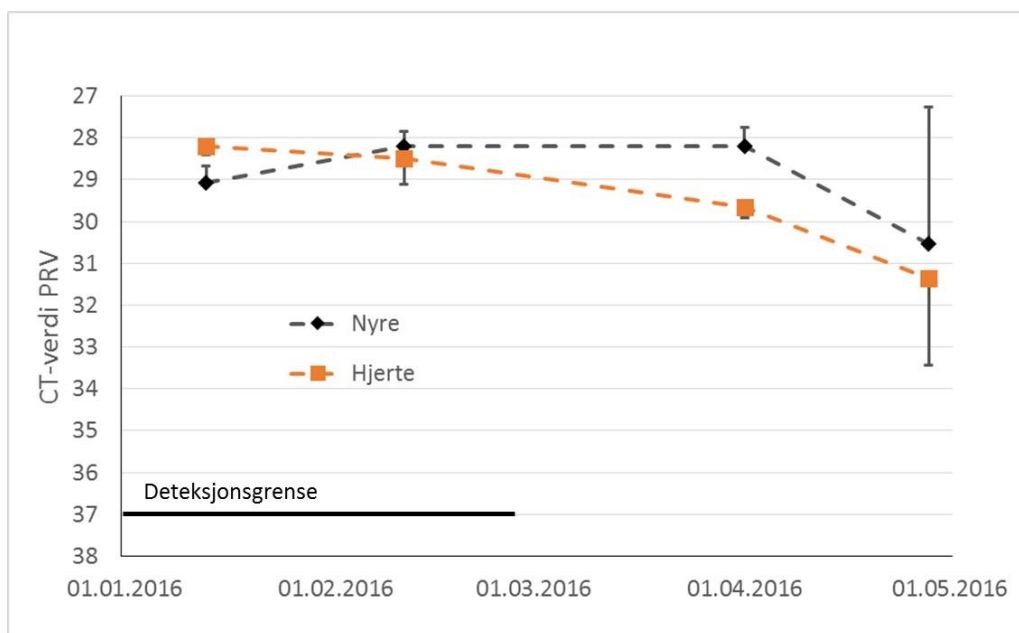


Figur 11 Gjennomsnittlig Piscine orthoreovirus (PRV) CT verdier med standardfeil i vev fra små flekker (opp til 3 cm) og store flekker (større enn 3 cm). For laksefilene med flekker (svart), ble vev fra den mørke flekken og vev med normalt utseende fra samme filetområde (oransje) analysert for PRV CT-verdi. Laksefileter uten flekker ble benyttet som referanse (hvitt felt). Laksen tilhørte vektclassen 4 – 5 kilo.

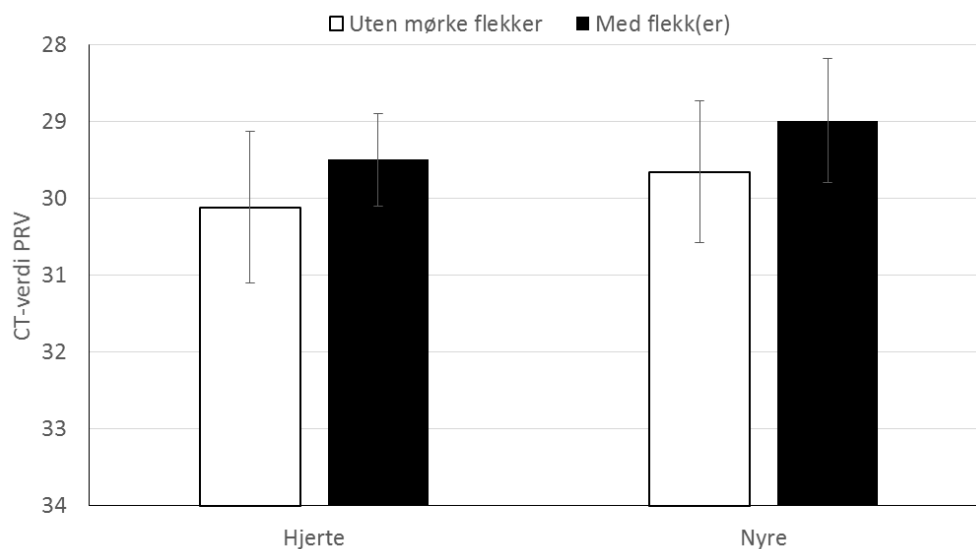
4.5.3 PRV, hjerte og nyre

PRV CT-verdiene var tilsvarende i hjerte og nyre, og høyere enn i filet (Figur 12). Virusmengden viste ikke samme klare nedgang over tid som for filet, men det var en svak avtakende tendens for hjerte i slakteperioden ($P = 0,24$) og for nyre fra april til mai ($P = 0,35$).

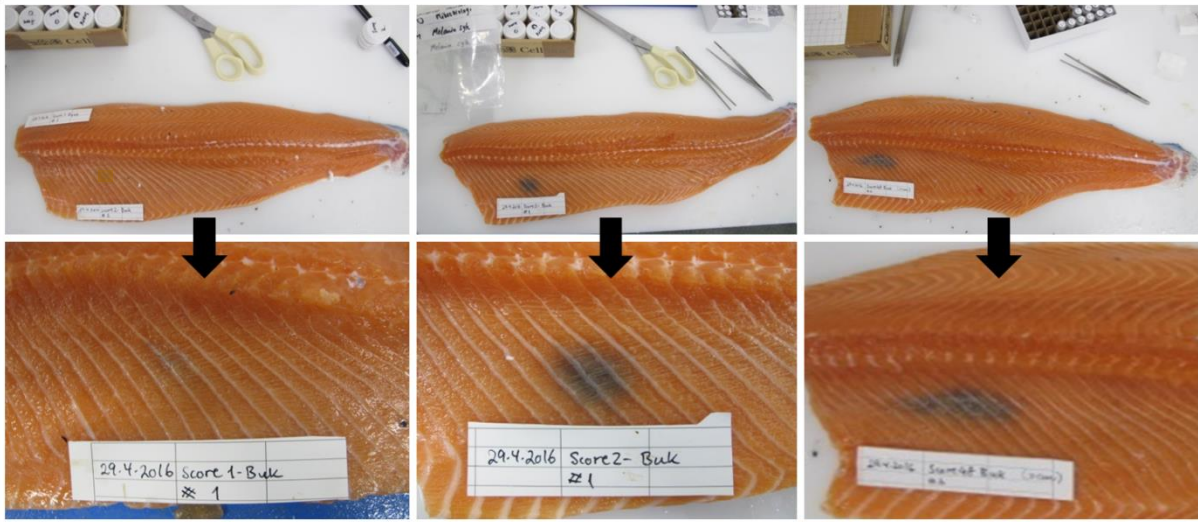
Numeriske PRV CT-verdi i hjerte og nyre viste en tendens til høyere nivå av viruset i laks med mørke flekker sammenlignet med laks uten mørke flekker, men forskjellen var ikke statistisk signifikant ($P > 0,57$) (Figur 13).



Figur 12 *Piscine orthoreovirus (PRV) CT-verdier med standardfeil i hjerte og nyre av laks med mørkpigmenterte flekker i bukpartiet (score 2, tydelige flekker ≤ 3 cm). Høye CT-verdier indikerer lave virusmengder. Laksen tilhørte vektclassen 4 – 5 kilo.*



Figur 13 *Gjennomsnittlige PRV CT-verdier med standardfeil i hjerte og nyre av laks med fileter uten mørkpigmenterte flekker (hvitt) og fileter med mørke flekker (svart). Høye CT-verdier indikerer lave virusmengder. Laksen tilhørte vektclassen 4 – 5 kilo.*



Figur 14 Bilder som viser fileter med flekker av ulik størrelse og intensitet (score 1, 2, 4).



Figur 15 Fileter med flere flekker. Andel fileter med flere flekker økte i slakteperioden fra januar – mai 2016.

5 Oppsummering

Magert, proteinrikt fôr sammenlignet med ordinært fôr:

- Halvert dødelighet etter sykdomsutbrudd ved SAV3 & PRV ko-infeksjon
- 11 %-enheter lavere forekomst av tydelige melaninflekker (15,6 % vs. 26,3 %)
- 2/3 reduksjon av store flekker (> 3 cm)
- 12 %-enheter høyere «Superior» andel (91 % vs. 79 %)

Virus, CT-verdi PRV

- Tilstede i muskel, hjerte og nyre, uavhengig av om laksen hadde filetflekker eller ikke
- Virusmengden målt i 3 cm store filetflekker avtok med tid etter sykdomsutbruddet

Resultatene fra prosjektet viser at fôret er en vesentlig faktor som påvirker melanindeponering i laksefilet. Redusert melanindeponering i filet etter sykdomsutbrudd ved PRV og SAV koinfeksjon var sammenfallende med fôrets helsefremmende effekt.

Dette er nyttig kunnskap som bør følges opp med kontrollerte forsøk der betydningen av enkeltkomponenter i fôret klarlegges.

6 Referanser og leveranser

- Bjørngen, H., Wessel, Ø, Fjellidal, P.G., Hansen, T., Sveier, H., Sæbo, H.R., Enger, K.B., Monsen, E., Kvellestad, A., Rimstad, E., Koppang, E.O. (2015). *Piscine orthoreovirus* (PRV) in red and melanised foci in white muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Veterinary Research* 49.
- Finstad, Ø. W., Dahle, D.K., Lindholm, T.H., Nyman, I.B., Løvoll, M., Wallace, C., Olsen, C.M., Storset, A.K., Rimstad, E. (2014). *Piscine orthoreovirus* (PRV) infects Atlantic salmon erythrocytes. *Veterinary research*, 45, Article Number 35.
- Fiskehelse rapporten 2014. Bornø G & Lie Linaker M (red), Harstad: Veterinærinstituttet 2015.
- Kongtorp R.T., Kjerstad A., Taksdal T., Guttvik A., Falk K. (2004). Heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L: a new infectious disease. *J Fish Dis* 27: 351–358.
- Koteng A (1992) Markedsundersøkelse norsk laks (Market investigation Norwegian salmon). *Prosjekt God Fisk, Bergen, Norway*, 165.
- Krasnov, A., Moghadam, H., Larsson, T., Mørkøre, T. (2016). Gene expression profiling in melanised sites of Atlantic salmon fillets. *Fish and Shellfish Immunology*, 55, pp. 56-63. doi:10.1016/j.fsi.2016.05.012.
- Larsson, T., Krasnov, A., Lerfall, J., Taksdal, T., Pedersen, M., Mørkøre, T. (2012). Fillet quality and gene transcriptome profiling of heart tissue of Atlantic salmon with pancreas disease (PD). *Aquaculture* 330-333, 82-91.
- Lerfall, J., Larsson, T., Birkeland, S., Taksdal, T., Dalgaard, P., Afanasyev, S., Bjerke, M.T., Mørkøre, T., (2012). Effect of pancreas disease (PD) on quality attributes of raw and smoked fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 324, 209-217.
- Jansen, M.D., Jensen, B.B., Taksdal, T., Sindre, H., Lillehaug, A. (2015). Pankreassykdom hos laksefisk – en review med fokus på forebygging, kontroll og bekjempelse. Veterinærinstituttets rapportserie, Rapport 5, 2015.
- Martinez-Rubio, L., Morais, S., Evensen, Ø., Wadsworth, S., Ruohonen, K., Vecino, J.L.G., Bell, J.G., Tocher, D.R. (2012). Functional feeds reduce heart inflammation and pathology in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following experimental challenge with Atlantic salmon Reovirus (ASRV). *PLoS One* 7(11) e40266
- Mikalsen, A.B., Haugland, O., Rode, M., Solbakk, I.T., Evensen, Ø. (2012). Atlantic salmon reovirus infection causes a CD8 T cell myocarditis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *PLoS One*. 7(6): e37269.
- Mørkøre, T., Heia, K. (2012). Mørke flekker i laksefilet – Omfang og målemetoder. *Norsk Fiskeoppdrett* 3, 50-52.
- Mørkøre, T., Larsson, T., Kvellestad, A.S., Koppang, E.O., Åsli, M., Krasnov, A., Dessen, J-E., Moreno, H.M., Valen, E.C., Gannestad, K.H, Gjerde, B., Taksdal, T., Bæverfjord, G., Meng, Y., Heia, K., Wold, J.P., Borderias, A.J., Moghadam, H., Romarheim, O.H., Rørvik, K.A. (2015). Mørke flekker i laksefilet. Kunnskapsstatus og tiltak for å begrense omfanget. Rapport 34/2015. Oppdragsgiver FHF, ref. 900824. 79 s.
- McLoughlin, M.F., Peeler, E., Foyle, K.L., Rodger, H.D., O’Ceallachain, D., Geoghegan, F. (2003) An epidemiological investigation into the re-emergence of pancreas disease in Irish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in 2002. *Marine Environment and Health Series*, No. 14., Marine Institute, Galway, Ireland.
- Mørkøre, T. (2012). Filet av oppdrettslaks: Kvalitetsavvik og årsakssammenhenger. FHF-prosjekt 900339. Rapport 17/2012, Nofima, Ås.

Palacios, G., Lovoll, M., Tengs, T., Hornig, M., Hutchison, S., Hui, J., Kongtorp, R-T., Savji, N., Bussetti, A.V., Solovyov, A., Kristoffersen, A.B., Celone, C., Street, C., Trifonov, V., Hirschberg, D.L., Rabadan, R., Egholm, M., Rimstad, E. (2010). Heart and Skeletal Muscle Inflammation of Farmed Salmon Is Associated with Infection with a Novel Reovirus. PlosOne 5, e11487

Taksdal, T., Wiik-Nielsen, Birkeland, S., Dalgaard, P., Mørkøre, T. (2012). Quality of raw and smoked fillets from clinically healthy Atlantic salmon, *Salmo salar* L., following an outbreak of pancreas disease (PD). J Fish Diseases 35, 897-906.

Tacchi, L., Bickerdike, R., Douglas, A., Secombes, C.J., Martin, S.A. (2011). Transcriptomic responses to functional feeds in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Fish Shellfish Immunol. 31(5):704-15.
<http://www.vetinst.no/layout/set/print/Faktabank/Hjerte-og-skjelettmuskelbetennelse-HSMB>

Resultater fra prosjektet har blitt presentert for oppdrettere på interne seminarer og vil bli presentert på NORDNORSK FISKEHELSEAMLING, Tromsø 24. august 2016

Resultater fra prosjektet vil inngå i en vitenskapelig artikkel med fagfellelvurdering. Artikkelen forventes å være komme på trykk i 2017.

