



N I F E S
NASJONALT INSTITUTT
FOR ERNÆRINGS- OG
SJØMATFORSKNING

Rapport
2017

Nasjonal undersøkning av førekomst av *Anisakis simplex* i norsk oppdrettsaure (*Onchorhynchus mykiss*)

Irja Sunde Roiha, Amund Maage &
Arne Levsen

**Nasjonalt institutt for ernærings- og
sjømatforskning (NIFES)**

13.01.2017



ENGLISH SUMMARY

Parasites are very common in wild fish from the sea. This is particularly true for the larvae of certain parasitic nematodes, commonly known as “kveis” in Norwegian. The most important species in Northeast Atlantic waters is *Anisakis simplex*, which may cause acute gastrointestinal illness if accidentally eaten alive. However, the nematodes will die at freezing, frying, boiling, or strong salting over an extended period. The current legislation is based on the so-called freezing requirement to ensure that fish products do not contain any viable parasites. In Norway, farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) has for several years been exempted from this freezing requirement, since the risk of farmed salmon containing viable nematodes was regarded negligible. This view rests on the assumption that the nematodes’ life cycle is broken when the salmon is exclusively fed heat-treated dry feed, which cannot contain viable parasites. According to the current EU regulation, farmed fish species in general can be excepted from the freezing requirement provided that it can be documented that there is no risk of attaining parasitic nematodes if the fish is eaten raw. The Norwegian Food safety authority (NFSA) wants to include this freezing exemption in national regulations, and include other farmed species, where documentation of the absence of *Anisakis* is satisfactory. Therefore, there is need for update documentation, similar to the documentation for salmon, showing that the fillets of farmed rainbow trout do not pose any health hazard with regards to the presence of nematodes.

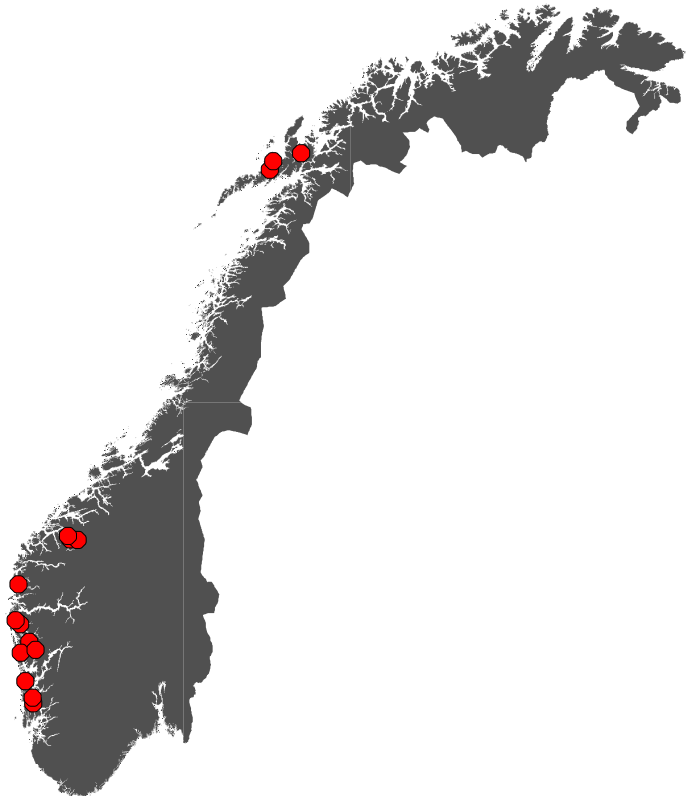
The main objective of this project was to establish the epidemiological baseline concerning the occurrence of “kveis” in Norwegian farmed rainbow trout, as the basis for assessment of the exemption from the freezing requirement before raw consumption. In addition to being an important contribution to the revision of existing regulations, the project also provided increased knowledge of important factors affecting the occurrence of *Anisakis* in Norwegian cultured rainbow trout.

In total, 1038 farmed rainbow trout were sampled followed by examinations for nematodes between August 2015 and September 2016. The fish originated from 15 farms along the coast from Hordaland, Møre og Romsdal, Sogn og Fjordane, and from Nordland. All samplings took place at processing facilities during regular slaughtering procedures and consisted of rainbow trout processed for human consumption (860), but also discarded fish (178, incl. runts and fish discarded for other quality defects). Immediately following sampling, all fish were transported to our laboratory, either fresh or frozen, before further freeze storage to ensure proper core freezing of all fish. After thawing, weighing and measuring, the rainbow trout were examined for nematodes by applying the UV-press method. In brief, the flesh sides and visceral organs of each fish were put in separate clear plastic bags and pressed to 1-2 mm thickness in a hydraulic pressing device at 7-8 bar. The bags were then examined under UV-light (366 nm) where any nematodes present would emerge as more or less brightly fluorescent spots or threads.

No “kveis” was found in any of the food quality rainbow trout intended for human consumption. The only nematode findings were from five (5) runts, originating from three different farms, two in northern Norway and one in western Norway. One single infected runt from western Norway had 1, whereas two (2) runts from the same farm in northern Norway had 2 and 3, respectively, adult non-zoonotic *H. aduncum* in their intestines. From another farm in northern Norway, 1 and 3, respectively, *A. simplex* were found in the fillets of two (2) runts. The runt trout infected with one *A. simplex*, also had 27 adult non-zoonotic *H. aduncum* in its intestines. The nematode findings occurred in the summer in western Norway and in the autumn in northern Norway. In northern Norway, no cleaner fish were used, whereas in western Norway, at the actual farm, wild-caught and cultured wrasses (Labridae) were used for delousing purposes.

The present project represents the most comprehensive study of parasitic nematodes in farmed rainbow trout ever conducted, both on a national and international level. The results confirmed that infections with “kveis” in Norwegian farmed rainbow trout seem to be restricted to runts. Thus, the

absence of nematodes in the food quality rainbow trout examined here, strongly suggests that the probability of any “kveis” to occur in the flesh of farmed Norwegian rainbow trout intended for human consumption is very low.



Figur 1. Lokaltetar for regnbogaure som inngjekk i undersøkinga for mogleg førekomst av kveis.
Figure 1. Positions for sampling of rainbow trout included in the assessment of presence of nematodes.

Parasittar er vanlege i praktisk talt all marin villfisk, særleg larvane frå enkelte parasittiske rundmarkar, på folkemunne det vi kjenner som «kveis». I våre farvatn er dei viktigaste artane *Anisakis simplex* og *Pseudoterranova decipiens*. Begge desse artane kan gi akutte magesmerter, diaré og oppkast dersom dei vert konsumerte levande. Kveis dør ved frysing, steiking, koking eller sterk salting over lengre tid. For marin fisk som skal konsumerast rå, eller i tilnærma rå tilstand, som t.d. i sushi og sashimi, samt for enkelte fiskerivarer som skal kaldrøykast, har EU sett eit krav om frysing til ein kjernetemperatur på minst -20°C i minst 24 timar (eller -35 °C i minst 15 timar). Dette er for å sikre at produktet ikkje inneheld levande kveis.

I ei årrekke har Noreg hatt unntak frå dette frysekravet for oppdretta atlantisk laks (*Salmo salar*). Utgangspunktet for unntaket er at risikoen for at oppdretta laks inneheld kveis vert vurdert som liten, først og fremst fordi livssyklusen til parasitten vert broten i og med fisken et tørrfôr som er varmebehandla. No er unntaket frå frysekravet teke inn i regelverket til EU (forordning nr. 1276/2011), slik at det kan omsetjast rå fersk oppdretta laks, utan frysing på førehand. I same forordning opnast det dessutan for at også andre oppdretta fiskeslag enn laks kan fritakast frå frysekravet dersom det føreligg dokumentasjon på at produktet ikkje utgjer ei helsefare med tanke på førekomst av parasittar. Mattilsynet ønskjer å føre vidare frysefritaket i nasjonal forskrift, og vurderer å utvide frysefritaket til også å gjelde andre oppdrettsarter, dersom tilstrekkeleg dokumentasjon på fråværet av kveis er tilgjengeleg.

På bakgrunn av dette var det behov for ei nasjonal undersøking av førekomst av *Anisakis* i norsk oppdretta regnbogeaure (*Onchorhynchus mykiss*), lik den som i 2015 vart fullført for oppdrettslaks. Føremålet var å undersøkje om fisken/fileten av norsk regnbogeaure frå oppdrett er fri for anisakislarvar, og eventuelt vurdere om slike larvar var levande ved tidspunktet for prøvetaking. Regnbogeaure er ikkje inkludert i fritaket frå frysekravet og denne undersøkinga vil kunne bidra med kunnskap i vurderinga om frysefritaket også kan gjelde norsk oppdretta regnbogeaure. Denne undersøkinga er også viktig, sidan EFSA har konkludert med at laksefisk (salmonidar) ikkje kan regnast som ei (1) gruppe i høve til frysefritaket.

Hausten 2012 vart det gjort funn av kveis, inkludert *Anisakis simplex*, i taparfisk av laks frå eit produksjonsanlegg på Sørlandet. Funna vart gjort og publisert av Veterinærinstituttet (Mo, et al., 2014). Taparfisk har dårleg tilvekst og er såleis små og tynne i høve til deira friske kohortsøsken. Taparfisk er vanlegvis lette å identifisere og vert som regel sortert ut og destruert i ein tidleg fase i slakteprosessen og går dermed ikkje til konsum. Funna av kveis fekk likevel stor merksemd i media. Som ei oppfølging har NIFES i samarbeid med Mattilsynet i perioden mai 2012 til juni 2013 undersøkt om lag 600 laks frå det same produksjonsanlegg der funna i taparfisken vart gjort. I den studien vart laks frå same kull følgd, frå settefisk til slakteklar konsumfisk. Opptil 30 % av laksen per uttak var taparfisk, og hjå to (2) av desse vart det funne til saman sju (7) anisakislarvar der ein (1) satt i kjøtet og resten på innvolane. I tillegg vart det funne fleire eksemplar av den ikkje-zoonotiske kveisarten *Hysterothylacium aduncum* i innvolane til to taparfisk ved eit uttak i mai 2012. Det vart ikkje funne kveis i konsumfisk, korkje i innvolar eller i muskulatur (Levsen, 2013).

Etter desse funna, vart det i 2013 sett i gang ei nasjonal undersøking av førekomsten av *Anisakis* i norsk oppdrettslaks, med støtte frå FHF. NIFES var hovudansvarleg for gjennomføring av prosjektet (FHF, prosjekt nr. 900846; *Nasjonal undersøkelse av forekomst av Anisakis i norsk oppdrettslaks*) som vart fullført i 2015 (Levsen & Maage, 2015). I det prosjektet vart det funne *Anisakis* og *Hysterothylacium* i taparlaks, men det vart ikkje gjort noko funn av *Anisakis* i produksjonsfisk rekna til konsum. Det vart dermed konkludert med at det vil vere lite sannsynleg at ein vil finne *Anisakis* i oppdrettslaks tenkt til humant konsum i Noreg.

Mattilsynet sitt pågåande arbeide med ny nasjonal forskrift i høve fritak frå frysekravet for oppdretta laks, samt næringa sitt behov for kunnskap om mogleg førekomst av nematodar i slakte- og marknadsklar oppdrettsfisk, viser at ny, omfattande og oppdatert dokumentasjon på situasjonen for kveis også i norsk oppdretta regnbogeaure har vore etterspurd. Denne undersøking vil såleis kunne gi viktige faglege innspel til dette arbeidet.

MÅLSETTINGA MED PROSJEKTET

Hovudmålsettinga med prosjektet var å oppdatere status med tanke på førekomst av *Anisakis* i norsk oppdretta regnbogeaure, spesielt å dokumentere at fisken/fileten er fri for levande anisakislarvar, for då å kunne vurdere om fritak for frysekravet også kan gjelde denne arten. Moglege sesongrelatert førekomst av *Anisakis* i konsum- og taparfisk vart også kartlagt.

- Delmål 1: Kartlegge geografisk førekomst av *Anisakis* i konsumfisk
- Delmål 2: Kartlegge geografisk førekomst av *Anisakis* i utkast-/taparfisk
- Delmål 3: Kartlegge moglege sesongrelatert førekomst av *Anisakis* i konsum- og taparfisk

PRØVETAKING

For å ivareta kravet om ei landsdekkande undersøking, var målet å ta ut fisk frå alle fylka der det føregår produksjonen av regnbogeaure, og uttak vart lagt i høve til to regionar, Nord-Noreg (Finnmark, Troms og Nordland), og Vestlandet (Møre og Romsdal, Sogn og Fjordane og Hordaland) som vist i Tabell 1. I 2013 var produksjonsvolumet av regnbogeaure på om lag 71 tusen tonn, noko som representerer 6 % av volumet for laks same år. Per september 2014 var det 18 produsentar av regnbogeaure i Noreg, fordelt på 56 lokalitetar. Fylkesvis sal av regnbogeaure i 2013 fordelte seg slik på prosentbasis: Finnmark 3,8 %, Troms 3,6 %, Nordland 4,8 %, Møre og Romsdal 18,1 %, Sogn og Fjordane 18,0 %, Hordaland 51,5 %, Rogaland 0,07 % og andre fylke 0,06 % (www.fdir.no/Statistikk).

Tabell 1. Mengd regnbogeaure teke ut for kveisanalyse per region og kvartal. Tala er justerte i høve til prosentvis produksjon av aure i 2013 og med tanke på å sikre eit representativt utval frå kvar region. Tala for uttak av konsum- og taparfisk er noko justert i høve planen på 80:20 grunna få/ingen taparfisk ved enkelte uttak.

Region	Produksjon per region i 2013 (%)	Uttak per region (%)	Mengd konsumfisk (83-84 %)	Mengd taparfisk (16-17 %)	Uttak 2015		Uttak 2016		
Kvartal					3	4	2	3	Sum
Nord-Noreg	12,2	20	174	33	69		69	69	207
Vestlandet	87,8	80	686	145	207	69	277	278	831
Sum	100	100	860	178	276	69	346	347	1038

Undersøkinga inkluderte berre hausteklar regnbogeaure og uttak av denne med påfølgjande analysar vart gjennomført i perioden august 2015 til oktober 2016. I alt 1038 oppdretta regnbogeaure (860 sortert slaktefisk og 178 utkastfisk) vart teke ut, fordelt på 15 uttak ved ulike slakteri, med fisk frå ulike lokalitetar frå Vestlandet og Nord-Noreg. Figur 1 viser oppdrettslokalitetane for den undersøkte regnbogeauren, i alt 15 stader, medan Tabell 2 viser detaljar for uttak per region, inkludert mengd regnbogeaure og vektdata per uttak, mengd og prosentvis førekomst av taparfisk per uttak, bruk av reinsefisk ja/nei per lokalitet, i tillegg til funn av nematodar.

Ulike slakteri vart kontakta i byrjinga av prosjektet for at vi på førehand kunne få ei oversikt over planlagt slakting per region og sesong. Kvart uttak vart gjennomført meir eller mindre tilfeldig og på kort varsel, etter at NIFES hadde teke direkte kontakt med aktuelle slakteri. I forkant av uttaket fekk aktuelle slakteri tilsendt et infoskriv som gjorde greie for bakgrunnen for og målsettinga med prosjektet. For å sikre at prosjektet var uavhengig av næringa, var ein representant frå NIFES til stades for personleg å ta ut auren i startfasen av slakteprosessen.

Regnbogaure vart plukka frå transportbandet etter spyling og ved første utsortering av fisk med tydelege kvalitetslyter, men før bløding. Det vart også plukka fisk frå utkastkaret, som i mengd varierte mellom uttak, frå der det ved enkelte uttak ikkje var nokon fisk i utkastkaret og til om lag 20 % av totalprøven. No var det slik at ikkje all regnbogaure som var teke frå utkastkaret var typiske taparfisk, men også fisk som av ulike årsaker vart sortert ut tidleg i slaktefasen. Bilete 1 viser regnbogaure frå utkastkaret ved eit av uttaka på Vestlandet i august 2015, der fisk 68 og fisk 69 har karakteristisk taparstorleik, medan dei andre fiskane vart sortert ut av andre årsaker.



Bilete 1. Regnbogaure teke frå utkastkaret ved eit av uttaka på Vestlandet i august 2015. Her kan ein tydeleg sjå at fisk 68 og fisk 69 har karakteristisk taparstorleik, medan dei andre fiskane vart sortert ut av andre årsaker. Målt lengde var 28,5-54.0 cm og med stor variasjon i K-faktor (1,09-2,71).

Identifisering av taparfisk vart gjort på laboratoriet på grunnlag av storleik og utsjånad i høve til anna utkastfisk. I studien for laks (Levsen & Maage, 2015) viste det seg at Fulton's kondisjonsfaktor K , som er ein funksjon av fiskens lengde og vekt, ikkje alltid kunne nyttast som kriterium for eintydig identifisering av taparfisk. Dette fordi nokre av taparlaksen hadde ein tilsynelatande normal K -verdi og kroppsfasong, men var monaleg mykje mindre enn «normallaksen». Bilete 2 viser regnbogaure som ut i frå storleik (gjennomsnittleg vekt 4,5 kg og K -faktor 2,29) ikkje vart klassifisert som typiske taparar, men som hadde tydeleg deformert fasong og difor vart teke ut.



Bilete 2. Regnbogaure frå uttaket i Nord-Noreg i mai 2016, fisk som ut i frå storleik (gjennomsnittleg vekt 4,5 kg og K -faktor 2,29) ikkje er klassifisert som typiske taparar, men som har tydleg deformert fasong og difor vart teke ut.

For å ivareta kravet om fagleg sjølvstende og nøytralitet vart det betalt marknadspris for regnbogaure frå transportbandet, men ikkje noko for utkastfisken. I samband med dei fleste uttaka fekk NIFES kopi av slakteprotokollen med viktig informasjon om produksjonslokaliteten og –prosessen, som m.a. alder på fisken, fôringsregime og sjukdomshistorie/behandling inkludert avlusing og mogleg bruk av leppefisk. I tillegg kunne vi då også sikre sporing av regnbogauren frå slakteria tilbake til dei aktuelle anlegga og merdane. Informasjon om bruk av leppefisk vart likevel ikkje gjort tilgjengeleg frå alle anlegga (sjå Tabell 2). Rett etter prøvetaking vart regnbogauren frakta som kjøle- eller frysevare med båt (Hurtigruten/Norlines) eller bil til NIFES og lagra frosen (-30°C) fram til opparbeiding og analyse for kveis. Djupfrysing av fisken så raskt som mogleg etter uttak var ein viktig føresetnad for å unngå eventuelle problem med tyding av resultat, særleg knytt til spørsmålet rundt eventuell *post-mortem* vandring, dersom funn av *Anisakis* i filet skulle bli gjort. I forkant av analysane vart det teke bileter av all fisken, i grupper à 5-10 stk, der kvar enkelt fisk var individuelt merkt slik at seinare oppfølging i høve til utsjånad og kategorisering (typisk taparfisk eller deformert/skada aure etc.) var mogleg. Etter fotografering vart kvar fisk vege (g) og målt (lengde i mm).

Tabell 2. Detaljar for uttak per region, inkludert mengd (N) regnbogeaure og vektdata per uttak, mengd og prosentvis forekomst av taparfisk per uttak, bruk av reinsefisk ja/nei per lokalitet, i tillegg til funn av nematodar.

Region	Uttaksdato	Slakteri	Lokalitet		N aure	Vekt (g)±Stdav. (min-maks)	N taparaure	% taparaure	N aure per region	Bruk av reinsefisk	Kommentar
			Fjord/ Kyst	Lat_N Long_A							
Nord-Noreg (Finnmark, Troms, Nordland 65-71°)	26.08.2015	Nordlaks AS, Stokmarknes	Kyst	68.72 16.04	69	3455 ± 1439 (616-6162)	14	20.3	207	Nei	Fisk nr. 62; 2 stk. <i>Hysterothyliacium</i> . Fisk nr. 67; 3 stk. <i>Hysterothyliacium</i>
	25.05.2016	Nordlaks AS, Stokmarknes	Kyst	68.45 14.82	69	5012 ± 801 (3421-6526)	5	7.2		Nei	Ingen fiski utkastkaret, men 5 fisk var deformert
	07.09.2016	Nordlaks AS, Stokmarknes	Kyst	68.58 14.94	69	3572 ± 1485 (583-6070)	14	20.3		Nei	Fisk nr. 6; 1 stk. <i>Anisakis</i> og 27 stk. <i>Hysterothyliacium</i> . Fisk nr. 8; 3 stk. <i>A. simplex</i>
Vestlandet (Møre og Romsdal 62-63°, Sogn og Fjordane 61-62°, Hordaland 59-61°)	12.08.2015	Sekkingstad AS	Fjord	60.58 5.40	69	3192 ± 1275 (328-491)	14	20.3	831	Nei	
	26.08.2015	Sekkingstad AS	Kyst	61.54 4.97	69	2713 ± 779 (816-3997)	14	20.3		Ingen svar	
	09.09.2015	Fjordlaks Aqua AS, Ålesund	Fjord	62.29 6.99	69	3285 ± 1406 (455-5766)	16	23.2		Nei	
	08.10.2015	Sjøtroll, Lerøy Brandasund	Fjord	59.56 5.55	69	3405 ± 1150 (767-4993)	12	17.4		Leppefisk villfanga, rognkjeks oppdretta	8 taparar + 6 småfisk
	06.04.2016	Sjøtroll, Lerøy Brandasund	Fjord	60.40 5.06	69	2873 ± 1098 (366-4591)	15	21.7		Villfisk bergnebb og oppdrett rognkjeks	
	11.05.2016	Fjordlaks Aqua AS, Ålesund	Fjord	62.29 7.28	70	2436 ± 1122 (345-4352)	15	21.4		Nei	Kontrollprøve: 1 stk. <i>Anisakis</i> lagt inn i posar høvesvis m/ invollar og filèt. Alle gjenfunne ved avlesing i UV-lys.
	31.05.2016	Sekkingstad AS	Kyst	59.93 5.23	69	3061 ± 1210 (603-4985)	14	20.3		Ingen svar	Kontrollprøve: 1 stk. <i>Anisakis</i> lagt inn i posar høvesvis m/ invollar og filèt. Alle gjenfunne ved avlesing i UV-lys.
	28.06.2016	Firda Seafood group, Firda Sjøfarmer AS	Kyst	60.88 5.03	69	3615 ± 885 (1816-6577)	0	0.0		Nei	Kontrollprøve: 1 stk. <i>Anisakis</i> lagt inn i posar høvesvis m/ invollar og filèt. Alle gjenfunne ved avlesing i UV-lys.
	06.07.2016	Sjøtroll, Lerøy Brandasund	Fjord	59.66 5.53	71	3367 ± 1687 (161-5520)	16	22.5		Rognkjeks oppdretta, bergnebb villfanga, grønnngylte villfanga	Fisk nr. 29; 1 stk. <i>Hysterothyliacium</i>
	19.08.2016	Sjøtroll, Lerøy Brandasund	Fjord	60.46 5.63	69	4149 ± 1482 (1273-6559)	15	21.7		Rognkjeks villfanga, stinter oppdretta	Kontrollprøve: 1 stk. <i>Anisakis</i> lagt inn i posar høvesvis m/ invollar og filèt. Alle gjenfunne ved avlesing i UV-lys.
	24.08.2016	Fjordlaks Aqua AS, Ålesund	Fjord	62.35 6.91	69	2470 ± 1023 (277-4109)	14	20.3		Nei	
20.09.2016	Firda Seafood group, Firda Sjøfarmer AS	Kyst	60.95 4.85	69	3555 ± 799 (1186-4932)	0	0.0		Nei		
Sum					1038	178	17	1038			33 <i>H. aduncum</i> ; 4 <i>A. simplex</i>

METODAR

Heile fisken, dvs. både filet og innvolgar vart undersøkte og til analysane for mogleg førekomst av kveis vart den tidlegare nemnte UV-pressmetoden nytta. Metoden går ut på å flatpresse heile fisken (filet og bukklapp) i tillegg til innvolane, i separate gjennomsiktige plastposar, ved hjelp av ei hydraulisk presse med omlag 10 tonn trykk/60x60 cm (Bilete 3 B). Etter djupfrysing og påfølgjande tining av posane vert desse undersøkte makroskopisk for nematodar under ei 366 nm UV-lyskjelde. Dette fordi anisakide nematodar som har vore frosne fluoriserer under UV-lys ved ovannemnte bølgjelengd, avhengig av type/art og individuell storleik (Bilete 3 B og C).



Bilete 3. Merking av plastposar til pressing (A). Innvolgar av regnbogeaurer etter pressing, sett under 366 nm UV-lys (B). Nematodar i innvolane til taparfisk av regnbogeaurer (C).

Ein annan metode for vitskapeleg kveisinspeksjon er kunstig fordøying av fiskens blautvev i ei pepsin/saltsyre-oppløysing. Metoden vert mellom anna tilrådd i *Codex* standard 244-2004, som inspeksjonsmetodikk for salta atlantisk sild og brisling. Medan metoden med kunstig fordøying er kjent for ein høg påvisingseffektivitet, er den både tids- og resurskrevjande. Under storskalatilhøve som i dette prosjektet er kunstig fordøying ueigna som rutinemetode for kveisinspeksjon. Molekylærbiologiske metodar for påvising av *Anisakis*, som til dømes PCR eller ELISA, har vist seg å vere ueigna som standardmetode for bruk på større og heile fisk. Sidan gjeldande regelverk tek omsyn til synlege parasittar (*obviously contaminated with parasites*), er data frå molekylærbiologiske analysar heller ikkje relevante som epidemiologisk dokumentasjonsgrunnlag. UV-pressmetoden er derimot retta inn mot påvising av heile intakte parasittar og er kjent for både høg treffsikkerheit og høg inspeksjonsfrekvens. Dette betyr at to erfarne operatørar kan, med det rette utstyret tilgjengeleg, opparbeide og analysere opp til 100 store fisk i løpet av ein arbeidsdag.

Våren 2014 deltok NIFES i ein ringtest i regi av det europeiske referanselaboratoriet for matborne parasittar (*Istituto Superiore di Sanità*), som hadde til hensikt å samanlikne effektiviteten i påvising av kveis mellom UV-pressmetoden og metoden basert på kunstig fordøying av fiskens blautvev i ei Pepsin/saltsyreløysing. Resultatet (p.t. ikkje publisert) viste at begge metodane har særskild høg scoreprosent, med litt høgare, men signifikant effektivitet i favør av UV-pressmetoden.

Som for laks rekna vi med lav førekomst av kveis i prøvane, så det var behov for å «kalibrere» medarbeidarane våre undervegs for å sikre at nødvendig merksemd var på plass under UV-analysane og i tilfelle kveis skulle dukke opp. Til dette gjennomførte vi 4 testar i høvesvis mai, juni og august i der vi «spika» ulike pressa innvol- og filetprøvar frå dei aktuelle uttaka, med ei kjend mengd frosne *Anisakis* frå nyleg fanga NVG-sild. På førehand fekk operatørane vite at dei aktuelle gruppene var «spika», men ikkje med kor mange *Anisakis* og kva for posar det gjaldt. I begge testane vart det korrekte talet på *Anisakis* funne igjen i dei aktuelle posane (sjå også kommentarar i Tabell 2).

FUNN AV KVEIS

Det vart funne kveis i fem (5) taparfisk frå høvesvis to lokalitetar i Nord-Noreg og ein lokalitet på Vestlandet. I ein fisk (Bilete 4) frå vestlandet vart det funne eit (1) kjønnsmodent eksemplar av den ikkje-zoonotiske kveistypen *Hysterothylacium aduncum*, medan det i to fisk (Bilete 5) frå same lokaliteten i Nord-Noreg vart funne høvesvis to (2) og tre (3) kjønnsmodne *H. aduncum*. Frå ein lokalitet i Nord-Noreg vart det påvist høvesvis ein (1) og tre (3) *Anisakis simplex* i fileten til to taparfisk (Bilete 6). I innvolane til auren med ein (1) påvist *A. simplex* vart det også funne 27 kjønnsmodne *H. aduncum*. Bilete 7 viser eit eksemplar av kjønnsmoden *H. aduncum* sett under UV-lys, påvist i taparfisk (fisk nr. 6) etter uttak i Nord-Noreg i september 2016. Alle dei fem infiserte fiskane vart eintydig identifisert som taparfisk og skilde seg tydeleg frå slaktefisken. På Vestlandet vart funna gjort om sommaren, medan i Nord-Noreg funna var gjort om hausten, altså i den perioden med størst biologisk aktivitet og produksjon i sjøen. I Nord-Noreg var det ikkje nytta reinsefisk, medan ved lokaliteten på Vestlandet var det brukt oppdretta rognkjeks og villfanga bergnebb og grøngylte til avlusing.

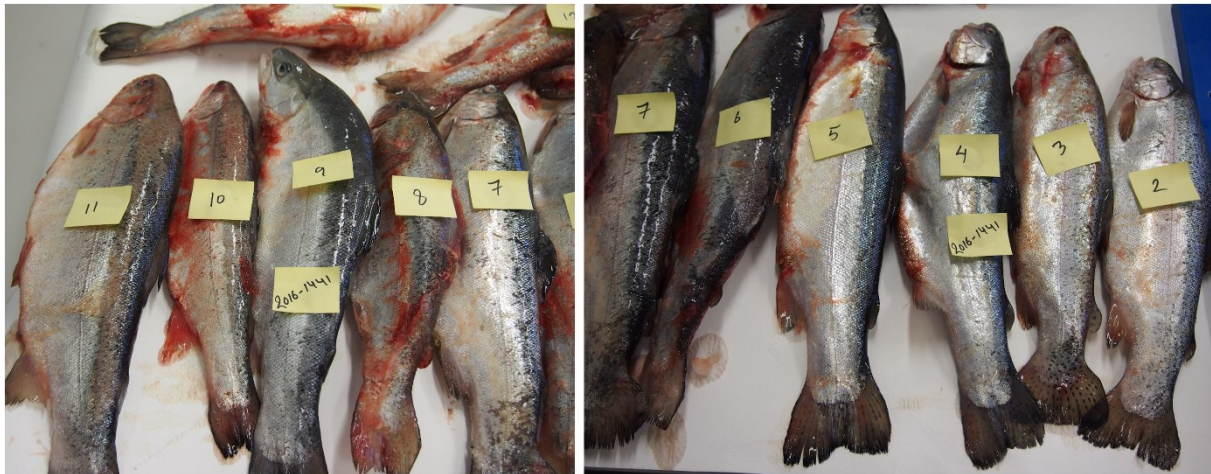


Bilete 4. Regnbøgeaure frå utkastkaret ved uttak på Vestlandet i juli 2016. Fisk nr. 29 (typisk taparfisk; vekt 340 g, K -faktor 0,99) var infisert med eit eksemplar av den ikkje-zoonotiske kveistypen *Hysterothylacium aduncum*

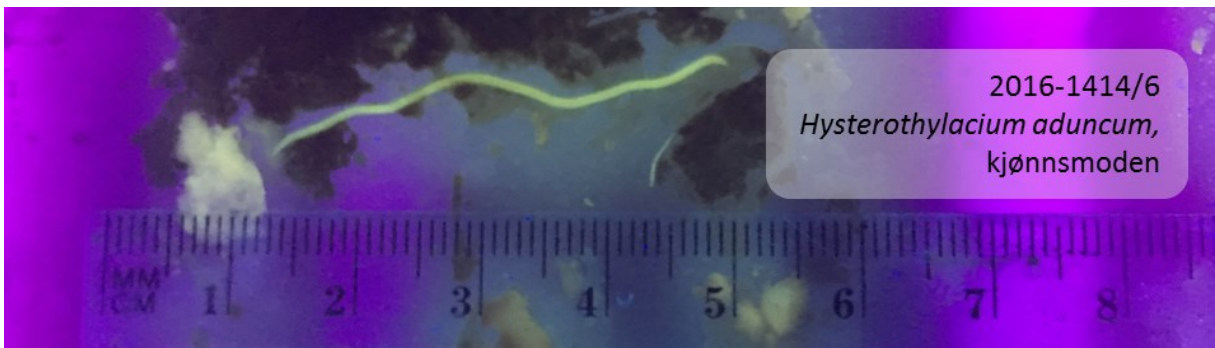
Alle 37 påviste eksemplar av kveis vart artsbestemt mikroskopisk, ut i frå morfologiske karakter til kvart enkelt eksemplar. For å kunne validera artsidentiteten vert kvar enkelt kveis i skrivande stund opparbeidd til molekylær identifisering ved hjelp av PCR. Dette er samstundes ein føresetnad for å kunne publisere prosjekresultata i eit anerkjent internasjonalt fagtidsskrift.



Bilete 5. Regnbogaure frå utkastkaret ved uttak i Nord-Noreg i august 2015. I fisk nr. 62 og nr. 67 vart det funne høvesvis 2 og 3 kjønnsmodne eksemplar av den ikkje-zoonotiske kveistypen *Hysterothylacium aduncum*.



Bilete 6. Regnbogaure frå utkastkaret ved uttak i Nord-Noreg i september 2016. I fisk nr. 6 vart det funne eit eksemplar av *Anisakis simplex* i fileten, samt 27 kjønnsmodne eksemplar av den ikkje-zoonotiske kveistypen *Hysterothylacium aduncum*. I fisk nr. 8 vart det funne 3 stk. *A. simplex* i fileten.



Bilete 7. Kjønnsmoden *H. aduncum* sett under UV-lys. Eksemplaret vart påvist i taparfisk (fisk nr. 6) etter uttak i Nord-Noreg i september 2016.

KOMMENTARAR

Det er ikkje tidlegare gjennomført ein slik omfattande studie av førekomst av kveis i oppdretta regnbogaure, verken nasjonalt eller internasjonalt. I ein studie av Skov et al. (2009) i Danmark vart totalt 166 sjøoppdretta regnbogaure undersøkt, der det ikkje vart gjort nokon funn av kveis, men det var heller ingen taparfisk som vart undersøkt i den studien. For oppdrettslaks har det vore gjennomført fleire nasjonale (Levsen & Maage, 2016; Lunestad, 2003; Mo, et al., 2014) og internasjonale studiar (Angot & Brasseur, 1993; Sepúlveda, Marín, & Carvajal, 2004; Wootten, Yoon, & Bron, 2010), og av desse er det to nasjonale studiar (Levsen & Maage, 2015; Lunestad, 2003) som har vore meir omfattande enn den vi no har gjennomført for regnbogaure. Trass det store omfanget av denne studien representerer dei undersøkte regnbogaurene berre ein liten brøkdel av den mengda fisk som til ei kvar tid er å finne i oppdrettsmerdane langs kysten. Per januar 2015 svømte det om lag 25 million regnbogaure rundt i norske oppdrettsmerdar, og den totale mengd regnbogaure undersøkt her dekkjer då 0,004 % av dette. Som for studien på laks var også her talet på undersøkte taparfisk nok større enn den faktiske førekomsten i merdane, men det var også her eit ønskje å ha eit ekstra fokus på taparfisk grunna tidlegare funn i desse (Mo, et al., 2014).

Denne undersøkinga viser, som for oppdrettslaks, at kveisinfeksjonar i regnbogaure i Noreg ser ut til å avgrense seg til taparfisk. Det vil seie at ingen regnbogaure teken frå transportbandet etter første sortering hadde kveis i seg. I denne studien vart *Anisakis* påvist i filet til taparfisk, som i studien av Mo et al. (2014), medan det i den store undersøking på laks fullført i 2015 (Levsen & Maage, 2015, 2016) vart *Anisakis* berre påvist i innvolane. Vidare har studien vist at kveis kan infisere taparfisk både på Vestlandet og i Nord-Noreg og at det dermed ikkje ser ut til å vere nokon geografisk avgrensing for mogleg førekomst av kveis i oppdrettsfisk. Problematikken knytt til taparfisk bør klargjerast, også med tanke på om taparfisk kan egne seg som markør for lokalitetar særleg utsett for kveis, og som difor bør følgjast opp med jamne mellomrom. Sjølv om det på Vestlandet berre vart gjort eit funn av den ikkje-zoonotiske, og dermed ufarlege kveistypen, *Hysterothylacium*, som på mellomvertsnivå har same grunnleggande livssyklus som *Anisakis*, viser funnet at faktiske smittekjelder er å finne i merdane. I kva grad dette dreier seg om infisert hoppekreps, krill eller småfisk som forviller seg inn i merdane kan vi ikkje seie noko om. Det vi med sikkerheit veit er at det i merdar ved det aktuelle anlegget på Vestlandet med funn av *Hysterothylacium* gjekk villfanga leppefisk. Som kjent kan både *Hysterothylacium* og *Anisakis* vere å finne i frittlevande leppefisk, medrekna bergnebb og grøngylt (Hansen & Solgaard, 2011). Omfanget av ville leppefisk som mogleg smittekjelde for kveis bør difor undersøkjast i ein eigen studie. Salmonidar, inkludert regnbogaure, kan ofte bli smitta av bendelmark (*Eubothrium* sp.) etter utsetting i sjøen, etter alt å døme ved vilkårleg inntak av infisert zooplankton. Ein kan difor ikkje sjå bort i frå at liknande mekanismar også gjeld for kveissmitte hjå oppdretta regnbogaure.

KONKLUSJON

Ingen produksjonsfisk meint til konsum var infisert med nematodar i denne studien. Vi kan dermed konkludere at det er særst lite sannsynleg at regnbogaure i Noreg til humant konsum er infisert med *Anisakis*, eller andre parasittar, i fileten. Funna i taparfisk viser like fullt at kveis, både *Anisakis* og *Hysterothylacium*, kan finne vegen inn i oppdrettsmerdane.

PROSJEKTORGANISERING OG TAKK

Prosjektet har vore leia av NIFES og finansiert med midlar frå Fiskeri- og Havbruksnæringens Forskningsfond (FHF). NIFES har medverka med ein betydeleg eigeninnsats, særskild knytt til tilpassingar på vår forskingsinfrastruktur (UV-pessmetodikk og PCR), og i høve til logistikken under prøvetakingane.

Vi ønsker å takke alle som har medverka til gjennomføringa av prosjektet, særleg medarbeidarane våre på prøvemottak og laboratorium for molekylærbiologi; og spesielt då Anne Margrethe Aase som effektivt organiserte og gjennomførte uttaka, samt Aina Bruvik, Vidar Fauskanger og Nawaraj Gautam for deira bidrag under opparbeiding og UV-analysane av regnbogearen. Deira erfaring, kompetanse og dedikerte medverking har gjort det mogleg å gjennomføre prosjektet som planlagt.

REFERANSAR

- Angot, V., & Brasseur, P. (1993). European farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) are safe from anisakid larvae. *Aquaculture*, 118(3-4), 339-344.
- Hansen, M. K., & Solgaard, J. (2011). Helse og kvalitetskontroll av leppefisk. In *Rensefisk* (Vol. 6a, pp. 18-21). Bergen: Norsk Fiskeoppdrett A/S.
- Levsen, A. (2013). Kveis i norsk oppdrettsfisk – usannsynlig eller reelt? In *Norsk Fiskeoppdrett* (Spesialutgave ed., Vol. 38, pp. 18-22). NF Xpert Teknologi: Norsk Fiskeoppdrett AS.
- Levsen, A., & Maage, A. (2015). Nasjonal undersøkelse av forekomst av *Anisakis* i norsk oppdrettslaks (pp. 10). Bergen: Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning (NIFES).
- Levsen, A., & Maage, A. (2016). Absence of parasitic nematodes in farmed, harvest quality Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway – Results from a large scale survey. *Food Control*, 68, 25-29.
- Lunestad, B. T. (2003). Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *Journal of Food Protection*, 66(1), 122-124.
- Mo, T. A., Gahr, A., Hansen, H., Hoel, E., Oaland, Ø., & Poppe, T. T. (2014). 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*, 37(2), 135-140.
- Sepúlveda, F., Marín, S. L., & Carvajal, J. (2004). Metazoan parasites in wild fish and farmed salmon from aquaculture sites in southern Chile. *Aquaculture*, 235(1-4), 89-100.
- Skov, J., Kania, P. W., Olsen, M. M., Lauridsen, J. H., & Buchmann, K. (2009). Nematode infections of maricultured and wild fishes in Danish waters: A comparative study. *Aquaculture*, 298(1-2), 24-28.
- Wootton, R., Yoon, G.-H., & Bron, J. E. (2010). A Survey of Anisakid Nematodes in Scottish Farmed Atlantic Salmon. FSAS project S14008. Final report 3rd (pp. 1-8). Stirling, UK: Institute of Aquaculture, University of Stirling, UK.