



SLUTTRAPPORT

Kartlegge forekomst av kveis i hvitfisk i norske farvann gjennom året

FHF prosjekt nr. 901628



Arne Levsen

Paolo Cipriani, Miguel Bao, Lucilla Giulietti, Julia E. Storesund, Aina Bruvik

Havforskningsinstituttet (HI)

11. Mai 2023

1. Sammendrag

English summary

Atlantic cod (*Gadus morhua*), tusk (*Brosme brosme*) and saithe (*Pollachius virens*) are among the commercially most important fish species in Norway. The present study, organised within FHF-project 901628, aimed to map the occurrence and distribution of larvae of anisakid parasitic nematodes, called *kveis* in Norwegian, in these three fish species. The presence of *kveis* may have significant economic impact to the fisheries industry, as a zoonotic risk or by lowering the aesthetic appeal of fish products, thus reducing marketability and consumer confidence. Atlantic cod (n=443), tusk (n=101) and saithe (n=117) were sourced from commercial catches or research trawling in the western Barents Sea, coastal northern and western Norway, as well as the northern North- and Norwegian Sea during winter, spring, or autumn of 2019 - 2022. Fish were inspected for nematodes using the UV-press method while nematode species identification relied on sequencing of the mtDNA *cox2* gene. Additionally, the presence of “visible *kveis*” was experimentally assessed by applying three successively more effective nematode inspection methods on both viscera and fillets of 30 tusk. Cod sampled in coastal Norway were identified as either coastal cod or Arctic migrating cod (called *skrei* in Norwegian) based on genetic and parasitological markers.

Nine species of nematodes were identified: *Anisakis simplex* sensu stricto, *Pseudoterranova decipiens* sensu stricto, *P. krabbei*, *P. bulbosa*, *Contracaecum osculatum* sensu stricto, *C. osculatum* sp. A, *C. osculatum* sp. B, *Phocascaris cystophorae* and *Hysterothylacium aduncum*. *Anisakis simplex* (s.s.) was the most prevalent and abundant *kveis*-species, reaching high abundance in the flesh of tusk, often ten times higher compared to cod and saithe. *Pseudoterranova decipiens* (s.s.) and *P. krabbei* occurred at low to moderate prevalence and abundance in the flesh of cod and tusk, with significantly higher infection levels in coastal cod compared to *skrei*. *P. bulbosa* appeared only in the liver of cod. *Contracaecum osculatum* (s.l.) larvae, not occurring in the fish flesh, reached very high prevalence (>93 %) in *skrei* as well as in tusk and saithe from off Finnmark. *Anisakis* larvae showed much higher abundance in the belly flaps than in the dorsal fillet parts while *Pseudoterranova* also occurred frequently in the posterior parts of the fillets, especially in *skrei* and coastal cod from the Lofoten/Vesterålen-area.

Fish body size (length) was the single most important extrinsic factor to predict overall abundance of *Anisakis* in the fish species, while catching area appeared to be the main driver of *Pseudoterranova* infections in cod and tusk. Neither fishing season nor host gender did apparently have any significant effect as predictor of overall *Anisakis* abundance in either fish species.

Pseudoterranova larvae are usually readily visible in the fish fillets upon gross visual inspection during processing. Experimental visual assessment showed that the *de facto* infection level of *Anisakis* is likely to be underestimated or even overlooked in the belly flaps of tusk. Similarly, visual inspection of the fillets by candling did only detect 17% of the *Anisakis* larvae present. Thus, to mitigate the risk of *Anisakis* to be present in the final product, trimming of the flesh sides by removing the belly flaps could reduce the presence of *kveis* in the fillets of these gadoid fish species by 82 % to 97 %.

Norsk sammendrag

Torsk (*Gadus morhua*), brosme (*Brosme brosme*) og sei (*Pollachius virens*) er blant de kommersielt viktigste fiskeslagene i Norge. Prosjektet (FHF #901628) hadde som målsetting å kartlegge forekomst og utbredelse av larvene av parasittiske nematoder, kalt "kveis" på norsk, i disse 3 fiskeartene. Kveis har negative økonomiske konsekvenser for fiskerinæringen siden noen kveistyper er potensielt zoonotiske, og ved å redusere den estetiske verdien til produktene. Dette igjen kan påvirke tillitten i markedene og forbrukerpersepsjonen. Torsk (n=443), brosme (n=101) og sei (n=117) ble fisket kommersielt eller på forskningstokt på vinteren, våren eller høsten 2019 - 2022 i det vestlige Barentshavet, kysten av Nord-Norge og Vestland, i tillegg til nordlige Nordsjøen og Norskehavet. Fisken ble inspisert for kveis ved hjelp av UV-pressmetoden mens de ulike artene ble identifisert ved sekvensering av mtDNA cox2-genet. Forekomsten av "synlig kveis" ble vurdert eksperimentelt ved å bruke 3 gradvis mer effektive visuelle inspeksjonsmetoder på både innvoller og fileter av 30 brosme. Torsk tatt i Nord-Norge ble identifisert som enten kysttorsk eller skrei basert på genetiske og parasittologiske markører.

Ni kveisarter ble identifisert: *Anisakis simplex* sensu stricto, *Pseudoterranova decipiens* sensu stricto, *P. krabbei*, *P. bulbosa*, *Contracaecum osculatum* sensu stricto, *C. osculatum* sp. A, *C. osculatum* sp. B, *Phocascaris cystophorae* og *Hysterothylacium aduncum*. *Anisakis simplex* (s.s.) var den vanligste kveisarten og nådde svært høy forekomst (abundans) i kjøttet til brosme, som oftest ti ganger høyere sammenlignet med torsk og sei. *Pseudoterranova decipiens* (s.s.) og *P. krabbei* viste lav til moderat prevalens og forekomst i kjøttet hos torsk og brosme, med signifikant høyere infeksjonsnivåer i kysttorsk sammenlignet med skrei. *P. bulbosa* opptrådte hovedsakelig i leveren hos torsk. *Contracaecum osculatum* (s.l.) som bare infiserer innvollene, ikke fiskekjøttet, nådde svært høy prevalens (>93 %) i skrei, samt i brosme og sei fra Finnmark. *Anisakis* viste mye høyere forekomst i bukklappene enn i ryggfileten mens flere *Pseudoterranova* også kunne forekomme i bakre deler av filetene, spesielt hos skrei og kysttorsk fra Lofoten/Vesterålen-området.

Fiskestørrelse (lengde) var den viktigste enkeltfaktoren til å drive forekomsten (abundans) av *Anisakis* i de 3 fiskeartene, mens fangstområde så ut til å være hoveddriveren for *Pseudoterranova*-infeksjoner i torsk og brosme. Verken fiskesesong eller kjønn hadde tilsynelatende signifikant effekt som prediktor for forekomsten av *Anisakis* i noen av fiskeslagene.

Pseudoterranova er vanligvis lett synlig i filetene ved grov visuell inspeksjon under prosessering. Eksperimentell visuell estimering av kveisforekomsten i filetene hos brosme, viste at det faktiske infeksjonsnivået til *Anisakis* enten blir sterkt undervurdert eller at larvene overses. Påfølgende inspeksjon av filetene ved gjennomlysing på lysbord avdekket kun 17 % av larvene som faktisk var til stede. For minimering av risikoen for at *Anisakis* skal være til stede i sluttproduktet, kan trimming av bukklappene redusere forekomsten av kveis i kjøttet til disse hvitfiskartene med 82 % til 97 %.

2. Innledning

Atlantisk torsk (*Gadus morhua*), brosme (*Brosme brosme*) og sei (*Pollachius virens*) er blant de kommersielt viktigste fiskeartene i Norge. De tre artene består av forskjellige bestander, der de NØ-Atlantiske delbestandene danner grunnlaget for rike fiskerier. Spesielt den NØ-arktiske torskebestanden (skrei) skiller seg ut ved at den er forskjellig både genetisk og i fôrings- og gyteatferd fra den lokale, mer stasjonære bestanden av kysttorsk i Nord-Norge (Skarstein et al. 2007). Norge eksporterte over 370.000 tonn hvitfisk til en verdi av 18.5 milliarder kroner i 2022 (Norges Sjømatråd – seafood.no). Blant aktuelle arter er torsk i særklasse og utgjorde ca. 190.000 tonn til en verdi på over 12 milliarder kroner, etterfulgt av sei med 110.000 tonn. Brosme utgjorde med godt under 8 000 tonn langt mer beskjedne mengder.

Parasittiske nematoder, som oftest kalt «kveis» på norsk, er vanlig å finne på innvollene og i kjøttet hos mange kommersielt viktige pelagiske og marine fiskeslag i NØ-Atlanteren. Dette omfatter også hvitfiskartene torsk, sei, og brosme (Levsen et al. 2022, Levsen et al. 2018, Gay et al. 2018, Strømnes and Andersen 1998). Av disse er brosme så vidt vites ikke undersøkt systematisk for kveis tidligere.

De to viktigste kveisartene i fisk fra våre farvann er *Anisakis simplex* (s.s. – i snever forstand) og *Pseudoterranova decipiens* (s.l. – i vid forstand) som begge kan gi akutt mage/tarmsykdom eller utløse allergiske reaksjoner hvis de utilsiktet skulle bli spist levende (se Bao et al. 2019). En annen vanlig kveisart tilhørende samme gruppe er *Contracaecum osculatum* (s.l.) men som i motsetning til *Anisakis* og *Pseudoterranova*, praktisk talt aldri vandrer inn i fiskekjøttet. Alle disse kveisartene har innviklete livssykluser som involverer hval (*Anisakis*) og sel (*Pseudoterranova* og *Contracaecum*) som sluttverter,

fisk (og blekksprut for *Anisakis*) som mellom- eller transportverter, mens planktoniske eller halvplanktoniske krepsdyr fungerer som mellom- og/eller transportverter (se *Appendiks* for detaljer).

De senere år har norsk hvitfiskindustri hatt flere kveisrelaterte utfordringer, først og fremst på grunn av kveisens frastøtende effekt når den opptrer i større mengder i produktet. Nyere saker med søkelys på kveis i norske produkter av hvitfisk som vår faggruppe var involvert i som sakkyndig instans, relaterte seg til klippfisk av brosme eksportert til Brasil, naturlig tørket tørrfisk solgt i Italia, i tillegg til avvisning av hele forsendelser av fersk skrei i Spania på grunn av lett synlig og til dels levende kveis i fisken og i transportkassene (det dreide seg om den ikke-zoonotiske kveistypen *Hysterothylacium*) (se Bao et al. 2021). Det sier seg selv at slike saker kan være svært skadelig, både på kort og lang sikt, for omdømmet til norske produsenter og eksportører av hvitfisk i de ulike markedene. Skadepotensialet er dermed betydelig, særlig i hvitfisk produsert for eksport siden flere eksportdestinasjoner som for eksempel Spania, Frankrike og Brasil, er svært følsomme når det gjelder kveis. Oppdatert informasjon om forekomst og fordeling av kveis i hvitfisk kan dermed bidra til en bedre vurdering og håndtering av risikoen som er forbundet med forekomst av kveis i disse verdifulle fiskeressursene.

2.1 Prosjektorganisering

Prosjektets varighet

Startdato: 10.08.2020, Sluttdato: 01.04.2023

Deltakere

Havforskningsinstituttet (HI): Arne Levsen (prosjektleder), Paolo Cipriani, Miguel Bao, Lucilla Giulietti, Julia Storesund, Aina Bruvik

Referansegruppen: Terje Kjølsvøy (Aalesundfisk AS), Lene Risbakk/Veronica Samuelsen (Brødrene Sperre AS), Martin Flåten (Lerøy Seafood Group ASA), Kjetil Holmeset (H.P. Holmeset AS – M/S Geir), Kristoffer Engeseth (Grytastranda fiskeindustri AS), Tom Vegar Kiil (Slottet fiskebåtrederi ANS – M/S Helena)

FHF-prosjektkontakt: Frank Jakobsen

3. Målsettinger

Prosjektets hovedmålsetning er å kartlegge forekomsten av kveis hos torsk, brosme og sei. Hovedtyngden av kveisundersøkelsene legges på kveistypene *Anisakis*, *Pseudoterranova* og *Contracaecum* hos alle 3 fiskeslag.

Delmål

- Kartlegge kveis i torsk, brosme og sei fra hovedfangstområdene i Barentshavet og Norskehavet, samt langs kysten av Nord-Norge og Vest-Norge, i løpet av et år.
- Kartlegge forekomst av «synlig kveis» i filetene til aktuelle fiskeslag.
- Formidle resultatene gjennom kart og «heat-maps» som viser forekomsten av kveis pr sesong, fangstområde og art, i tillegg til fordelingen av kveis i filetene. Dataene skal formidles gjennom en egnet webportal som brukes jevnlig av aktørene i hvitfisknæringen.

4. Gjennomføring

4.1 Prøvetaking av fisk

Vi møtte en del utfordringer når det gjaldt å få nok fiskeprøver fra kommersielle fangster. Etter et til å begynne med godt samarbeid med ulike næringsaktører, ble det utover 2020 problemer med å få tak i fisk, særlig brosme, som ville gjenspeile en autentisk markedssituasjon. På grunn av koronarelaterte reiserestriksjoner, særlig i 2021 men også i første del av 2022, kunne vi heller ikke oppsøke aktuelle mottak for å hente fisk selv eller inspisere fisken på stedet. Det viste seg dessuten at flere av mottakene og grossistene vi kontaktet, ikke var så veldig interessert i å selge fisk til oss siden det dreide seg om relativt beskjedne kvanta pr bestilling (30 fisk) men som likevel ville medføre omfattende logistikk. Vi har delvis klart å kompensere for dette ved å innhente fisk fra HIs egne tokt, men disse prøvene gjenspeiler ikke en autentisk fangst-, bearbeidings- og markedssituasjon.

Totalt 661 fisk ble enten fanget av yrkesfiskere (jigg, line eller snurrevad), i hovedsak utenfor kysten av Finnmark og Vestland (310 torsk, 93 brosme, 60 sei; totalt 463), eller skaffet gjennom HIs egne tokt (133 torsk, 8 brosme, 57 sei; totalt 198) (Tabell 1 og Figur 1). Fiskene ble rundfrosset så raskt som mulig etter fangst og sendt til vårt laboratorium for parasittologisk inspeksjon. Hver fisk ble målt (total kroppslengde i mm) og veid (total kroppsvekt i g), i tillegg til veiing av lever og gonader samt bestemmelse av kjønn. Mageinnhold ble registrert når det var mulig. Biometriske grunndata

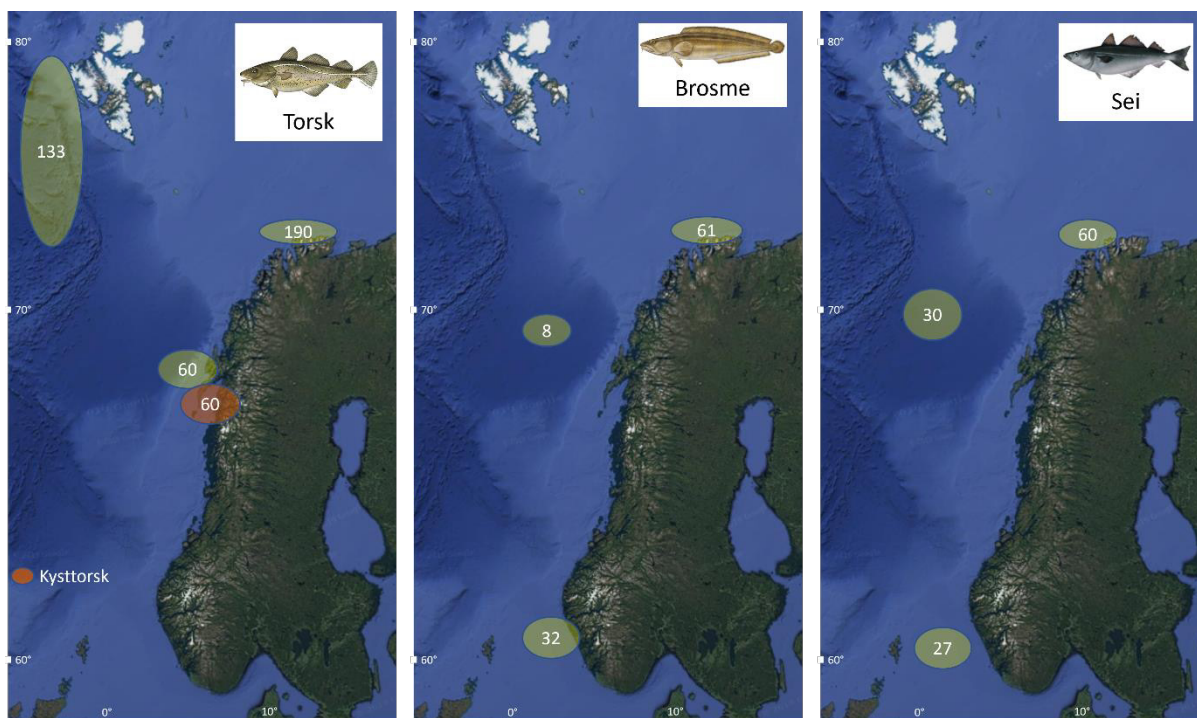
(gjennomsnittlig kroppslengde og vekt $\pm$ standardavvik og variasjonsbredde) samt antall undersøkte fisk pr fangstdato og lokalitet, vises i Tabell 1.

Tabell 1. Biometriske grunndata for NØ Atlantisk torsk, brosme og sei pr fangstområde og fangstdato. Lengde og vekt vises som Gjennomsnitt $\pm$ Standardavvik og variasjonsbredde.

Fiskeslag	Fangstområde og dato		
TORSK	Vestlige Barentshavet	Finnmark	Lofoten/Vesterålen
Dato:	Aug. 2019, Sep. 2020, Sep. 2021	Feb. 2019, Mar. 2019, Mai 2019, Apr. 2021, Juni 2021, Mai 2022	Feb. 2021 (Kysttorsk □), Apr. 2021, Feb. 2022 (Skrei #)
N fisk	133	190	60 □ / 60 #
Tot. lengde (mm)	678 $\pm$ 126 (465 - 1180)	801 $\pm$ 143 (470 - 1080)	745 $\pm$ 118 (510 - 1000) □ 887 $\pm$ 57 (750 - 1000) #
Tot. vekt (g)	3047 $\pm$ 2057 (920 - 13500)	5103 $\pm$ 2929 (950 - 13700)	4636 $\pm$ 1998 (1600 - 9510) □ 6803 $\pm$ 1339 (4650 - 11060) #
Ratio ♂ / ♀	59 / 56 (18 uident.)	85 / 105	41 / 19 □ 39 / 21 #
BROSME*	Nordsjøen (Fedjeosen)	Finnmark (Nordkapp)	Finnmark (Båtsfjord)
Dato:	Nov. 2020, Des. 2020	Juni 2021	Okt. 2022
N fisk	32	31	30
Tot. lengde (mm)	738 $\pm$ 85 (590 - 910)	573 $\pm$ 60 (470 - 700)	479 $\pm$ 52 (410 - 620)
Tot. vekt (g)	4638 $\pm$ 1671 (2550 - 8850)	2296 $\pm$ 796 (1096 - 4546)	1243 $\pm$ 415 (773 - 2360)
Ratio ♂ / ♀	13 / 19	7 / 24	16 / 14
SEI	Nordlige Nordsjøen	Nordlige Norskehavet	Finnmark
Dato:	Feb. 2021	Okt. 2020	Apr. 2019, Mai 2019
N fisk	27	30	60
Tot. lengde (mm)	574 $\pm$ 41 (490 - 680)	488 $\pm$ 32 (430 - 550)	572 $\pm$ 82 (415 - 940)
Tot. vekt (g)	1977 $\pm$ 484 (1080 - 3490)	1014 $\pm$ 193 (744 - 1500)	1899 $\pm$ 901 (750 - 7170)
Ratio ♂ / ♀	10 / 17	7 / 13 (10 uident.)	23 / 37

*I tillegg ble n=8 brosme fra det sentrale Norskehavet (HI-tokt) undersøkt for kveis. I prøven var det stort sprik i størrelse (L: 360 - 740 mm; V: 492 - 5020 g) der den største fisken hadde over 400 *Anisakis* i filetene.

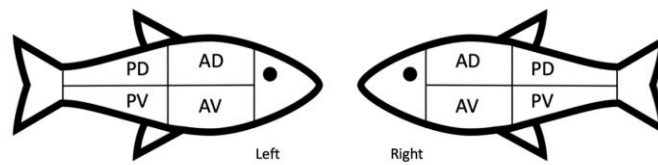
Hos torsk skilte vi mellom skrei og kysttorsk ved å bruke genetiske så vel som parasittologiske markører. Ved siden av kveis er kysttorsk gjerne infisert med andre parasitter som ses kun sjeldent hos skrei. Typisk i så måte er ikten *Cryptocotyle lingua*, bedre kjent som svartpriksyke, som utelukkende er knyttet til kystnære habitater der det finnes strandsnegl som er parasittens obligatoriske første mellomvert. Parasitten kan dermed fungere som biologisk markør for å skille kysttorsk fra skrei. Siden nyinfeksjoner av fisk med *Cryptocotyle* stort sett begrenses til varmere årstider, vil ikke denne ikten kunne infisere skrei under gytevandringen på vinteren.



Figur 1. Antall fisk prøvetatt pr fangstområdene for hvert av fiskeslagene.

4.2 Parasittpåvisning og artsidentifisering

Både innvoller og fileter av hver fisk ble inspisert for kveis ved hjelp av UV pressmetoden som er en av to internasjonale standardmetoder for påvisning av anisakide parasitter (kveis) i fiskerivarer (ISO 23036-1:2021). Metoden går ut på å flatpresse hele fiskesider (fileter og bukklapper) i tillegg til innvollene, i separate gjennomsluktige plastposer vha. en hydraulisk presse ved ca 10 tonn trykk. Etter dypfrysing og påfølgende tining av posene sjekkes disse for kveis under en 366 nm UV-lyskilde. Dette fordi anisakide nematoder som har vært frosne fluoriserer i varierende grad under UV-lys ved ovennevnte bølgelengde. UV-pressmetoden kjennetegnes av høy treffsikkerhet og høy inspeksjonsfrekvens (Gómez-Morales et al. 2018). Med metoden kan vi dessuten påvise nokså nøyaktig hvor i filetene eller i hvilke organer kveisen er lokalisert. Dessuten kan man skille grovt mellom de mest vanlige kveistypene *Anisakis*, *Contracaecum*, *Pseudoterranova* og *Hysterothylacium* basert på forskjeller i lysstyrke, farge og nyanse av fluoriseringen (Bao et al., 2021). For å rapportere larvenes plassering i filetene ble hver filetside delt inn i et rutenett med 4 ruter, der AV (fremre nedre del) utgjør det meste av bukklappen (Figur 2). Resultatene fra kartleggingen med UV-pressmetoden danner grunnlaget for å lage «heat maps» over parasittfordelingen i filetene. Disse kan igjen brukes som grunnlag for anbefalinger overfor industrien på målrettet trimming av filetene for å redusere sannsynligheten for at det er kveis i sluttproduktet (se også pkt. 5.5 – Effekt av trimming).



Figur 2. Skjematisk illustrasjon av inndelingen av filetsidene i ruter for nærmere beskrivelse av infeksjonsstedene til kveis i fiskekjøttet. AV – fremre nedre filetdel, PV – bakre nedre filetdel, AD – fremre øvre filetdel, PD – bakre øvre filetdel.

Identifisering av kveisartene

Kveisen ble innledningsvis identifisert på slektsnivå som *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contracaecum* eller *Hysterothylacium*, enten basert på måten larvene fluoreserte på, eller – i tvilstilfeller – ved å sjekke mikroskopisk for slekts-spesifikke morfologiske karakterer slik som boretann, ekskresjonspore, tarmblindsekk, spiserørventrikel eller haledetaljer (Berland 1961, 1989). En større delprøve av kveisen fra både innvoller og fileter hos alle tre fiskeartene ble identifisert molekylært ved å analysere *cox2*-gensekvensen (mitochondrial cytochrome c oxidase subunit II), og/eller i noen få tvilstilfeller hele ITS-genet av ribosomalt DNA.

4.3 Vurderinger av synlig kveis i filetene

Gjeldende regelverk (jfr. *EC regulation 853/2004* – den såkalte hygienepakken; *FAO Codex Alimentarius* 2004) stadfester at «Driftsansvarlige for næringsmiddelforetak skal sikre at fiskerivarer har gjennomgått en visuell kontroll med det formål å påvise synlige parasitter før de omsettes. De skal ikke omsette fiskerivarer til konsum som er tydelig angrepet av parasitter». For å belyse dette aspektet nærmere, gjennomførte vi et forsøk der vi så på effektiviteten til visuell vurdering av synlig kveis ved å sammenligne med gradvis mer effektive inspeksjonsmetoder, fra enkel grov estimering av synlig kveis med det blotte øye, via telling av synlig kveis ved gjennomlysning («candling»), til kartlegging av faktisk infeksjonsnivå ved hjelp av UV-pressmetoden (se Levsen et al. 2005 for detaljer om grunnleggende forsøksoppsett). Til forsøket brukte vi et parti på 30 brosme fisket i oktober 2022 utenfor Finnmark. Vi valgte brosme som modell på grunn av fiskens generelt høye infeksjonsnivå med kveis i både fileter og innvoller, som gjorde det enklere å kvantifisere og sammenligne forskjellene i påvisningseffektivitet mellom metodene. Hver fisk ble først inspisert visuelt for forekomst av synlig kveis i innvollene og filetene av samme erfarne operatør gjennom hele forsøket. Inspeksjonen ble gjort under fileteringsprosessen der kveisforekomsten ble raskt og grovt estimert som enten *Ingen* (0), *mellom 1 og 10*, *flere enn 10*, eller *mange flere enn 10*. Grovestimeringen ble fulgt av inspeksjon av de samme filetene på et standard industrielt lysbord. Antall synlig kveis ble registrert ved å granske hver filet i

noen sekunder. Til slutt ble det eksakte infeksjonsnivået i både innvoller og filetene slått fast ved bruk av UV-pressmetoden. Funnene fra forsøket er sammenstilt og presentert i tabellform (Tabell 3).

4.4 Dataanalyser

Infeksjonsnivåene i hvert av fiskeslagene og pr infeksjonssted i fiskene (innvoller og fileter) er beregnet og rapportert som både relative og absolutte termer (se også Bush et al. 1997):

Prevalens: Andel individer (i %) som er infisert med en parasitt i en vertspopulasjon eller prøve.

Abundans: Antall parasitter av samme art eller gruppe, i et vertsindivid, uansett om verten er infisert eller ikke. Abundansen kan dermed være null. Uttrykkes gjerne som gjennomsnittlig abundans.

Intensitet: Antall parasitter av samme art eller gruppe, i et infisert vertsindivid. Minste intensitet er dermed 1. Uttrykkes gjerne som gjennomsnittlig intensitet. Ved 100% prevalens er intensitet og abundans identiske.

For statistisk sammenligning av kveis-infeksjonsnivåene mellom fiskeslagene og fangstområder, i tillegg til testing for sammenhenger mellom infeksjonsnivå og ulike fiskebiometriske variabler, ble stort sett nonparametriske prosedyrer benyttet. Dette fordi nonparametriske tester er mer robuste enn tester basert på sammenligning av gjennomsnittsverdier mellom datasett med stor varians og spredning. Effekten av fiskestørrelse og kjønn samt fangstlokalitet og måned på sannsynligheten for *Anisakis*-infeksjonene hos hvert av fiskeslagene, ble analysert ved hjelp av prosedyrer for generaliserte lineære modeller (GLM). Dataene for fiskelengde og kveis-abundans ble log-transformert før analysene for å samsvare bedre med en normal log-link fordeling. Signifikansen til de enkelte parameterne bidrag til effekten på kveisinfeksjonene, ble vurdert ved hjelp av Likelihood Type 3 tester. Samtlige statistiske analyser, i tillegg til grafer og diagrammer, ble utført og produsert i Statistica 13.4.0.14.

5. Resultater og diskusjon

5.1 Artsidentifisering av kveisen

Totalt ble over 106.000 anisakide nematodelarver påvist og telt under prøvetakingen. Basert på utseende (morfologi) samt styrke, farge og nyanse av fluorescensen under UV-lys, ble larvene identifisert på slektsnivå som *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contracaecum* eller *Hysterothylacium*. Videre ble genetisk identifikasjon utført på en delprøve av nematoder for nøyaktig artsbestemmelse. Hver kveisart har særegne biologiske og økologiske egenskaper som for eksempel et foretrukket organ

som tilholdssted i fiskeverten, eller at hver art er avhengig av et bestemt utvalg av sluttverter. Det å kjenne til nøyaktig hvilke kveisarter som forekommer i en prøve, kan dermed gi verdifull informasjon. For genetisk artsbestemmelse ble det mitokondrielle DNA *cox2* genet sekvensert og følgende ni kveisarter ble påvist: *Anisakis simplex* sensu stricto, *Pseudoterranova decipiens* sensu stricto, *P. krabbei*, *P. bulbosa*, *Contracaecum osculatum* sensu stricto, *C. osculatum* sp. A, *C. osculatum* sp. B, *Phocascaris cystophorae* og *Hysterothylacium aduncum*.

Anisakis simplex (s.s.) var den vanligste kveisarten og forekom i innvollene (lever, tarmblindsekkene, gonader og rundt tarmen) og i kjøttet hos alle tre fiskeslag. Larvene av *Pseudoterranova decipiens* (s.s.) og *P. krabbei* ble nesten utelukkende funnet i filetene, mens *P. bulbosa* satt hovedsakelig i/på leveren hos torsk, mer sjeldent i innvollene, men aldri i kjøttet. *P. bulbosa* ble heller ikke påvist hos brosme. Praktisk talt alle *C. osculatum*-arter, i tillegg til *Phocascaris cystophorae*, lå mer eller mindre oppkveilet rundt tarmblindsekkene hos de tre fiskeartene, men ble aldri påvist i fiskekjøttet.

Hysterothylacium aduncum var til stede i samtlige prøver av torsk og sei. Voksne individer av denne parasitten er svært vanlig å finne i tarmen hos disse fiskeslagene. Den forekommer imidlertid aldri i fiskekjøttet. Infeksjonsnivået varierte med lokalitet og sesong. De høyeste infeksjonsnivåene ble funnet hos torsk og sei fisket om vinteren utenfor Vest-Finnmark, som oftest med godt over 90% prevalens. *H. aduncum* regnes som ikke-zoonotisk, men parasitten kan være kvalitetsnedsettende dersom fisken ikke spyles tilstrekkelig før transport og salg som «head-on» produkt. For detaljer rundt forekomst av *H. aduncum* hos skrei og nordøst-arktisk sei vises det til FHF-prosjektet 901543 som ble gjennomført i løpet av vinteren og våren 2019 (se Bao et al. 2021). Siden verken *Contracaecum*, *Phocascaris* eller *Hysterothylacium* ser ut til å infisere kjøttet hos de aktuelle fiskeslagene, ble disse kveistypene ikke inkludert i de videre epidemiologiske vurderingene.

5.2 Infeksjonsnivå og fordeling av kveisen i fiskene

Tabell 2 viser forekomst og fordeling i hhv kjøttet og innvoller av de tre hyppigste kveistypene (*Anisakis*, *Pseudoterranova* og *Contracaecum*) pr fiskeslag og fangstlokalitet. *Anisakis* ble påvist med 100% prevalens hos alle tre fiskeslag, dvs. samtlige fisk var infisert med minst én larve. Antall larver (abundans), både totalt og i kjøttet, var signifikant høyere hos brosme sammenlignet med torsk og sei, uavhengig av fiskestørrelse, fangstdato og lokalitet (Kruskal-Wallis ANOVA, $p < 0.001$ i alle tilfeller). Forskjellen var tydeligst med hensyn til abundansen i fiskekjøttet (Figur 3). Hos torsk og sei, men ikke hos brosme, var infeksjonsgraden med *Anisakis* i innvollene og i kjøttet signifikant og positiv korrelert med fiskelengde (Spearman R test, $p < 0.001$ i samtlige tilfeller) (Figur 4).

Tabell 2. Forekomst og fordeling av 3 kveistyper hos torsk (A), brosme (B) og sei (C), pr infeksjonssted og fangstlokalitet.

A. Torsk		<i>Anisakis simplex</i> (s. s.)				<i>Pseudoterranova</i> spp.				<i>Contracaecum osculatum</i> (s. l.)			
Infection parameters:	Site:	Barents Sea	Finnmark (Skrei)	Lofoten (Skrei)	Lofoten (Kyst)	Barents Sea	Finnmark (Skrei)	Lofoten (Skrei)	Lofoten (Kyst)	Barents Sea	Finnmark (Skrei)	Lofoten (Skrei)	Lofoten (Kyst)
Prevalence (%)	Flesh	97.7	98.4	95.0	78.3	16.5	17.4	16.7	63.3	0	0	0	0
	Viscera	100	100	100	100	17.3	18.4	18.3	36.7	97.0	99.5	100	46.7
	Total	100	100	100	100	30.1	30.0	28.3	66.7	97.0	99.5	100	46.7
Abundance (mean ± SD)	Flesh	7.4 ± 8.8	12.4 ± 10.9	8.3 ± 7.4	6.7 ± 10.9	0.3 ± 1.0	0.6 ± 2.1	0.7 ± 2.0	19.5 ± 49	0	0	0	0
	Viscera	49 ± 69	112 ± 86	125 ± 97	88 ± 118	0.3 ± 1.1	0.5 ± 2.2	0.8 ± 2.4	2.7 ± 7.5	45 ± 48	83 ± 83	111 ± 73	36 ± 65
	Total	57 ± 74	125 ± 91	133 ± 102	94 ± 125	0.7 ± 1.7	1.1 ± 3.1	1.5 ± 3.7	22 ± 52	45 ± 48	83 ± 83	111 ± 73	36 ± 65
Abundance range	Flesh	0 - 64	0 - 78	0 - 39	0 - 63	0 - 7	0 - 17	0 - 12	0 - 284	0	0	0	0
	Viscera	3 - 412	1 - 543	15 - 573	1 - 551	0 - 10	0 - 23	0 - 12	0 - 48	0 - 272	0 - 645	5 - 300	0 - 290
	Total	5 - 453	2 - 560	24 - 587	1 - 556	0 - 15	0 - 24	0 - 21	0 - 284	0 - 272	0 - 645	5 - 300	0 - 290

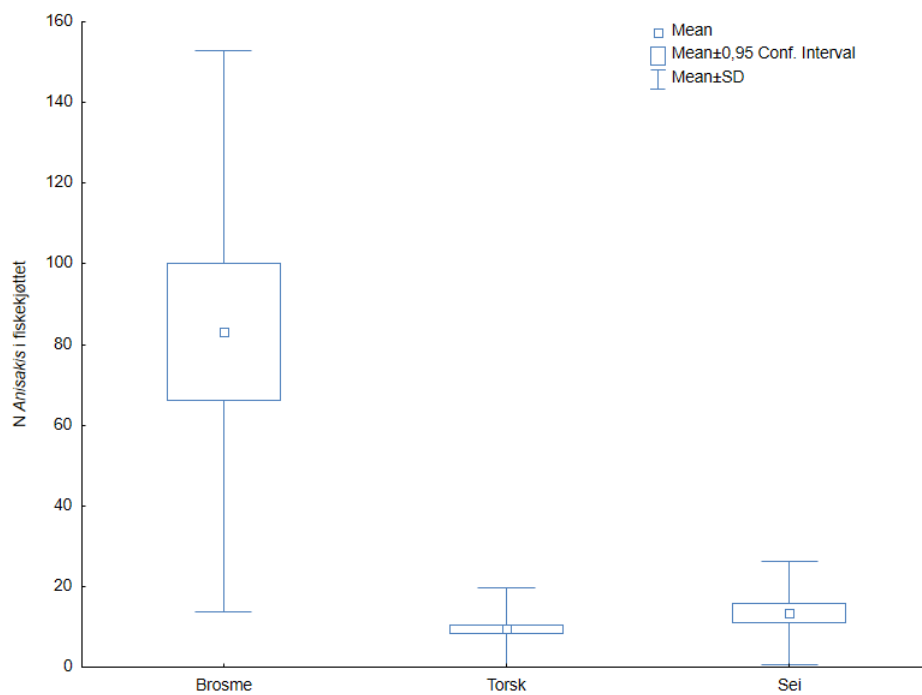
B. Brosme		<i>Anisakis simplex</i> (s. s.)			<i>Pseudoterranova</i> spp.			<i>Contracaecum osculatum</i> (s. l.)		
Infection parameters:	Site:	North Sea (Fedjeosen)	Norw. Sea	Finnmark	North Sea (Fedjeosen)	Norw. Sea	Finnmark	North Sea (Fedjeosen)	Norw. Sea	Finnmark
Prevalence (%)	Flesh	100	100	100	21.9	0	52.5	0	0	0
	Viscera	100	100	100	0	0	0	0	25	93.3
	Total	100	100	100	21.9	0	52.5	0	25	93.3
Abundance (mean ± SD)	Flesh	65 ± 59	143 ± 154	108 ± 54 (n=61)*	0.3 ± 0.6	0	3.9 ± 7.2	0	0	0
	Viscera	91 ± 98	121 ± 146	88 ± 45 (n=30)	0	0	0	0	0.4 ± 0.7	7.5 ± 5.8
	Total	156 ± 147	264 ± 290	166 ± 64 (n=30)	0.3 ± 0.6	0	3.9 ± 7.2	0	0.4 ± 0.7	7.5 ± 5.8
Abundance range	Flesh	2 - 224	2 - 472	18 - 343 (n=61)	0 - 2	-	0 - 29	-	-	-
	Viscera	2 - 468	2 - 349	26 - 187 (n=30)	-	-	-	-	0 - 2	0 - 21
	Total	4 - 692	6 - 821	83 - 319 (n=30)	0 - 2	-	0 - 29	-	0 - 2	0 - 21

*: Hos n=31 brosmes fisket utenfor Nordkapp i juni 2021 ble kun filetene undersøkt for kveis. Denne fisken var signifikant større en fisken fanget i Båtsfjord i oktober 2022. Brosme fra Finnmark tenderte mot høyere *Anisakis*-abundans i kjøttet enn i innvollene.

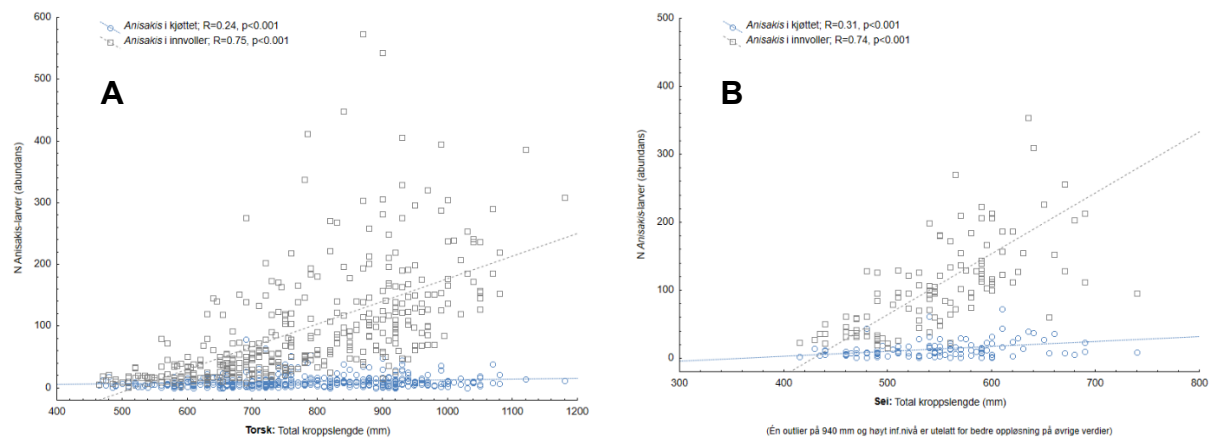
C. Sei #		<i>Anisakis simplex</i> (s. s.)			<i>Contracaecum osculatum</i> (s. l.)		
Infection parameters:	Site:	N North Sea	N Norw. Sea	Finnmark	N North Sea	N Norw. Sea	Finnmark
Prevalence (%)	Flesh	100	100	100	0	0	0
	Viscera	100	100	100	0	73.3	100
	Total	100	100	100	0	73.3	100
Abundance (mean ± SD)	Flesh	6.7 ± 4.8	9.2 ± 8.0	18.6 ± 15.2	0	0	0
	Viscera	138 ± 55	59 ± 36	122 ± 105	0	8 ± 10	38 ± 24
	Total	144 ± 58	68 ± 41	141 ± 116	0	8 ± 10	38 ± 24
Abundance range	Flesh	1 - 16	1 - 44	1 - 72	-	-	-
	Viscera	45 - 270	15 - 130	22 - 717	-	0 - 36	5 - 130
	Total	48 - 286	18 - 172	24 - 784	-	0 - 36	5 - 130

#: Det ble påvist i alt 3 *Pseudoterranova*-larver i kjøttet hos sei.

Alle tre fiskeslag viste dessuten en signifikant positiv korrelasjon mellom antall *Anisakis* i innvollene og antallet i kjøttet (Spearman $R = 0.55$, $= 0.58$, $= 0.50$ hos hhv brosme, torsk og sei; $p < 0.001$ i alle tilfeller). Den praktiske betydningen av denne sammenhengen er vanskelig å bedømme siden variansen av *Anisakis*-abundansen i både kjøttet og innvollene var svært høy hos alle tre fiskeslagene. Det er imidlertid sannsynlig at det ved høyt infeksjonsnivå i innvollene, med abundans >100 , også er høy abundans av *Anisakis* i kjøttet der noen vil være lett synlige (se også Tabell 3 på *Synlig kveis*). Blandingsinfeksjoner med *Anisakis* og *Contracaecum* og/eller *Pseudoterranova* i/rundt innvollene vil imidlertid påvirke dette bilde ytterligere (Figur 5).



Figur 3. Antall Anisakis-larver i fiskekjøttet, vist som gjennomsnittlig abundans $\pm$ 95% konfidensintervall $\pm$ standardavvik pr fiskeslag.



Figur 4. N Anisakis-larver (abundans) i innvoller og kjøttet som funksjon av fiskelengde hos **A** – Torsk og **B** – Sei.



Figur 5. Blandingsinfeksjon med *Anisakis*- og *Contracaecum*-larver på tarmblindsekkene hos torsk.

Leveren hos torsk, et eget kommersielt produkt, kunne være sterkt infisert med kveis, særlig hos kysttorsk der blandingsinfeksjoner med *Anisakis* og *Pseudoterranova bulbosa* på leveren var vanlig (Figur 6). Rognen til større skrei, et annet kommersielt produkt, hadde som regel noen få *Anisakis* på seg som gjerne satt løst festet på gonadehinnen, men aldri inne i selve rognsekken.



Figur 6. Blandingsinfeksjon med *Anisakis* og *Pseudoterranova bulbosa* på leveren hos torsk.

Kun brosme og torsk var nevneverdig infisert med *Pseudoterranova* (selmark); hos sei ble kun tre selmark funnet, alle i kjøttet. Bare *Anisakis simplex* (s.s.), *Pseudoterranova krabbei* og *P. decipiens* (s.s.) ble påvist i kjøttet hos de tre fiskeslagene. *Anisakis* er som regel vanskelig å få øye på i kjøttet mens de to aktuelle *Pseudoterranova*-artene (*P. krabbei* og *P. decipiens*) er større, gjerne 3-4 cm, og

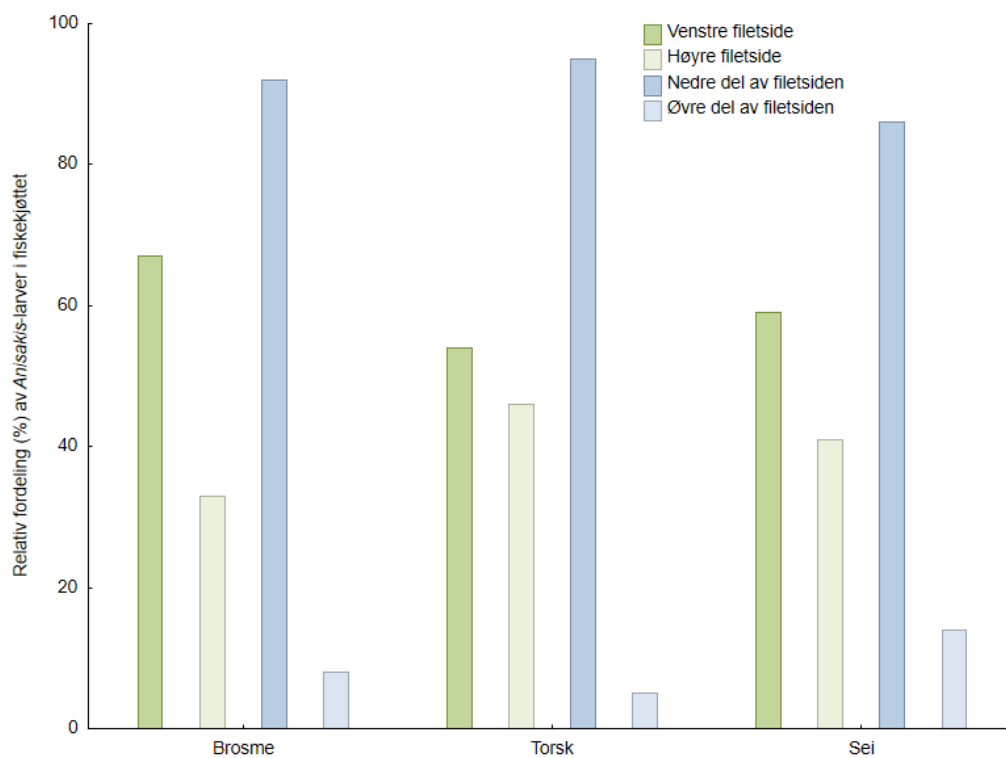
rødbrunt farget (Figur 7). Dermed er sistnevnte vanligvis lett synlig i filetene mens *Anisakis* gjerne blir oversett med mindre de er omgitt av melanisert bindevev laget av fiskens immunsystem for å isolere kveisen. I det følgende gis en mer detaljert gjennomgang av infeksjonskarakteristikkene med særlig vekt på forekomst og fordeling av *Anisakis* og *Pseudoterranova* i fiskekjøttet.



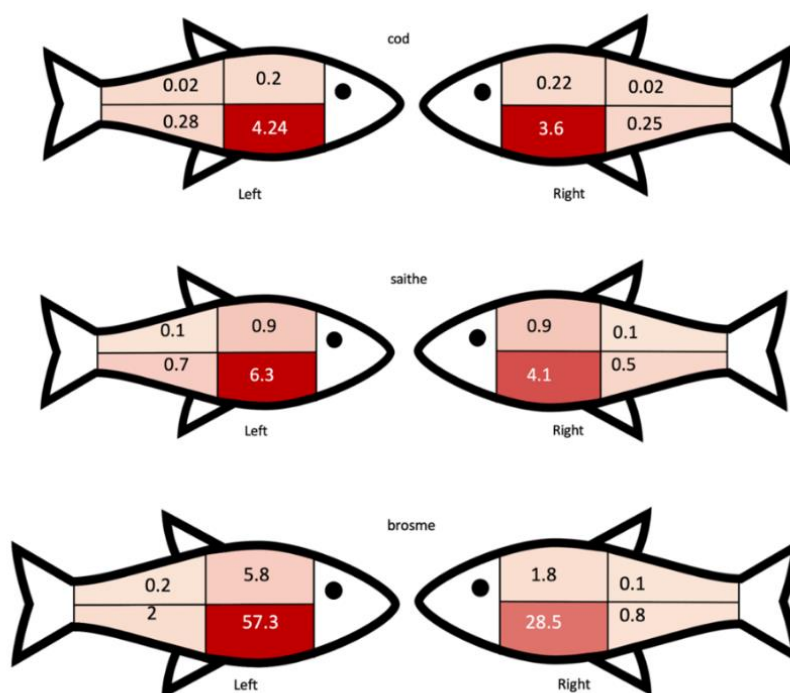
Figur 7. *Pseudoterranova* krabbei og *P. decipiens* (s.s.) i kjøttet hos torsk. Presset filet plassert på et lysbord.

Fordeling av Anisakis i fiskekjøttet

Det var signifikant forskjell i *Anisakis*-abundans mellom venstre og høyre filetside hos alle tre fiskeslag. Dette var tydeligst hos brosme der gjennomsnittlig rundt 2/3-deler (67%) av alle *Anisakis* satt i venstre filetside. Hos torsk og sei lå denne andelen på hhv 54% og 59% (Figur 8). Størst forskjell mellom infeksjonsstedene i fiskekjøttet var mellom nedre og øvre filetdel, hvor nedre og fremre del på hver side (rute AV) utgjør det meste av bukappen. Den desidert høyeste andel *Anisakis*-larver satt i nedre filetdel hos hvert av fiskeslagene, med et spenn fra 86% hos sei til 95% hos torsk (Figur 8). Dette gjenspeiles også i absolutte tall, med signifikant høyere gjennomsnittlig abundans av larver i bukappene, særlig på venstre filetside. Mens torsk og sei viste et moderat gjennomsnittlig infeksjonsnivå i kjøttet, hadde brosme et svært høyt nivå, mer enn 10 ganger høyere sammenlignet med torsk (Figur 3 og 9).



Figur 8. Relativ fordeling (%) av Anisakis-larver i fiskekjøttet hos brosme, torsk og sei fra NØ Atlanteren.

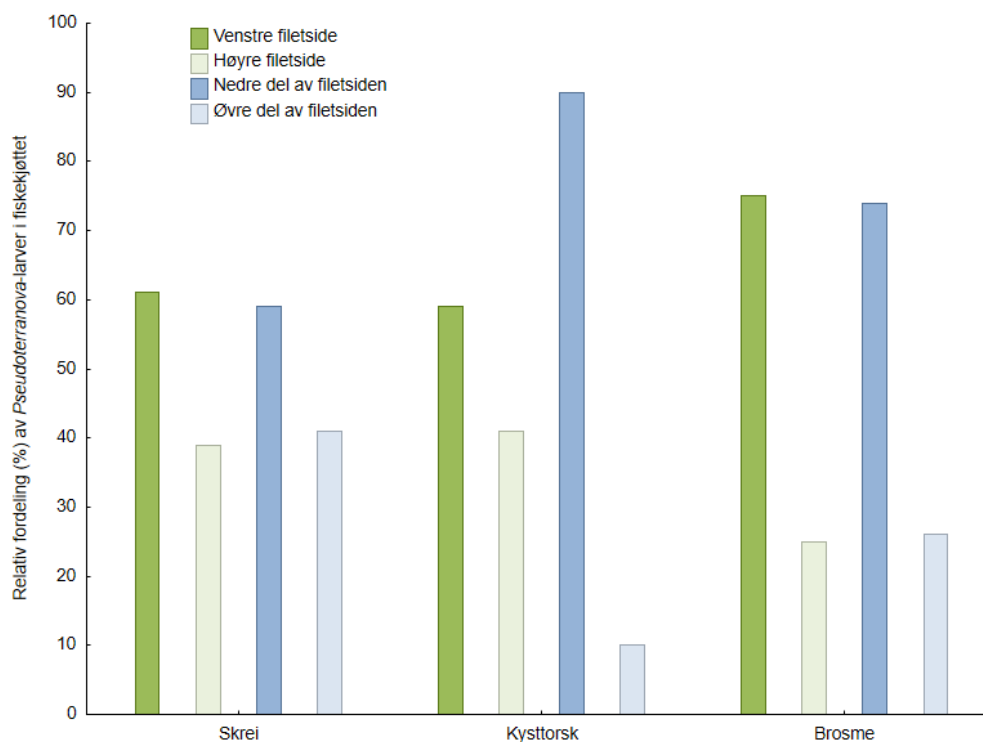


Figur 9. Heat-map som viser gjennomsnittlig antall Anisakis-larver (abundans) pr filetrute i hhv venstre og høyre filetside for hvert av fiskeslagene.

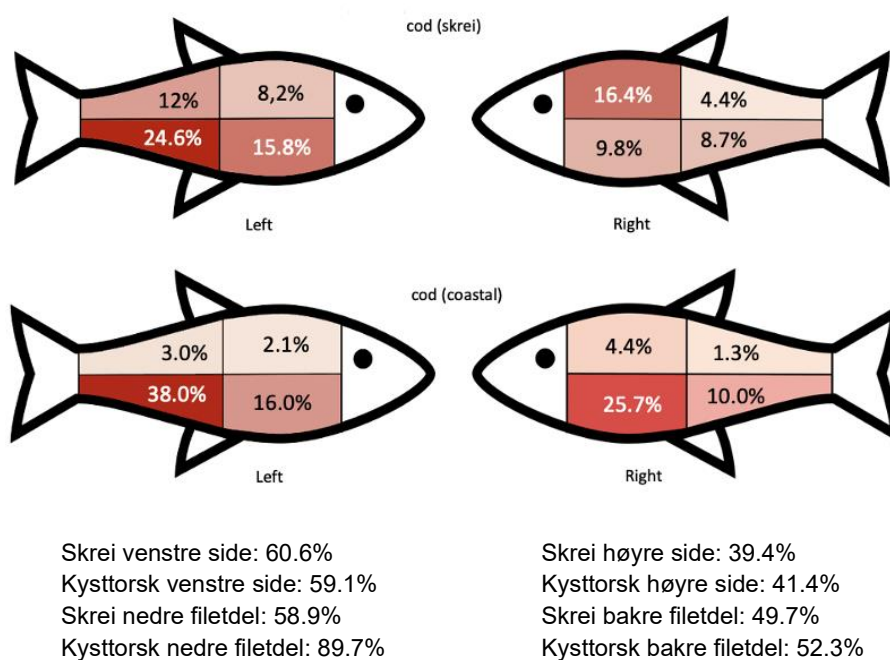
Grunnen til denne fordelingstrenden i filetene er sannsynligvis å finne i topografien til organene i bukhalen hos torskefisk. Jo kortere distanse larvene må tilbakelegge fra de borer seg ut fra mage-tarm til de treffer på muskulaturen, jo mindre metabolsk energi må investeres, i tillegg til noe lavere risiko for å bli «tatt» av fiskens immunsystem. En hypotese rundt dette går ut på at leveren hos større torskefisk krymper i perioder med dårligere tilgang på mat. Når mattilgangen blir bedre og fisken spiser igjen, kan en forholdsvis liten lever gjøre at færre kveis «fanges» i denne og at mage og blindsekkene kommer i direkte kontakt med bukklappene, særlig på venstre side. For nærmere drøfting av hypotesen vises det til en nylig publisert artikkel som presenterer deler av dataene fra prosjektet det her rapporteres fra (se Levsen et al. 2022). Det mye høyere infeksjonsnivå med *Anisakis*-larver i kjøttet hos brosme sammenlignet med torsk og sei, kan muligens gjenspeile ulike beitestrategier. Om andre egenskaper som for eksempel artsspesifikk immunkapasitet (vi har observert flere melaniserte larver hos brosme og sei enn hos torsk) eller ulik organetopografi er involvert og kan forklare de observerte forskjellene, er så vidt vites hittil ikke nærmere belyst.

Fordeling av Pseudoterranova i fiskekjøttet

Det generelle infeksjonsnivået for *Pseudoterranova* var mye lavere enn for *Anisakis*. Kun to av seiene var infisert med totalt 3 *Pseudoterranova*-larver, alle i kjøttet. Mens *Pseudoterranova* forekom både i innvoller, særlig i/på leveren, og i kjøttet hos torsk, var det tilsynelatende ingen i innvollene hos brosme (Tabell 2). Infeksjonene med *Pseudoterranova* i kjøttet hos torsk og brosme viste imidlertid samme trend som for *Anisakis*, med signifikant større andel larver i venstre filetside ($p < 0.05$ for begge arter) (Figur 10). Trenden der larvene sitter hovedsakelig i nedre og fremre filetdel er imidlertid ikke like uttalt for *Pseudoterranova* som for *Anisakis*. Relativt flere *Pseudoterranova* ble påvist i de bakre filetrutene. Dette var særlig uttalt hos skrei og kysttorsk fra Lofoten/Vesterålen-området, der i snitt rundt halvparten av larvene ble påvist i bakre del av filetene, med tydelig flere i venstre filetside (Figur 11). Signifikante forskjeller i infeksjonsnivå (prevalens og intensitet) med *Pseudoterranova* gjorde det mulig å identifisere kysttorsk blant prøvene fra Lofoten/Vesterålen. Kysttorsken viste betydelig høyere infeksjonsnivå med *Pseudoterranova*-larver i så vel innvoller som filetene sammenlignet med sin vandrende artsfrende (Tabell 2). Funnene samsvarte også med de genetiske analysene, i tillegg til langt sterkere infeksjoner med svartprikkparasitten *Cryptocotyle lingua* hos kysttorsk.



Figur 10. Relativ fordeling (%) av Pseudoterranova-larver i fiskekjøttet hos skrei, kysttorsk og brosme fra NØ Atlanteren.



Figur 11. Heat-map som viser relativ fordeling av Pseudoterranova-larver (%) pr filetrute i hhv venstre og høyre filetside hos skrei og kysttorsk fra Lofoten/Vesterålen.

5.3 Hva driver infeksjonene med *Anisakis* og *Pseudoterranova*?

Fiskestørrelse (i våre GLM-modeller brukte vi lengde som indikator for størrelse siden kroppsvekt i langt større grad påvirkes av varierende gonade- og levervekt, særlig hos torsk) er den viktigste enkeltfaktoren som driver infeksjonsnivået til kveistypen *Anisakis* hos de 3 fiskeslagene ($p < 0.001$). Kroppsstørrelse som bestemmende faktor for *Anisakis*-infeksjoner har praktisk talt universell gyldighet hos samtlige kommersielt viktige fiskeslag fra NØ Atlantiske fangstområder (Levsen et al. 2018). Hovedgrunnen er at fisk generelt spiser mer med økt alder og størrelse, og at vanlige bytteorganismer slik som dyreplankton, krill og annen fisk er viktige mellomverter for *Anisakis*. Denne kveistypen kan holde seg levende i fisk i flere år. Større rovfisk kan dermed – gjennom utstrakt beiting på annen fisk – akkumulere store mengder kveis over tid (Mattiucci et al. 2018). Avvik fra dette generelle bildet er trolig knyttet til særegenheter hos enkelte fiskeslag som for eksempel brosme hvor det jevnt over svært høye infeksjonsnivå i filetene er tilsynelatende uavhengig av lengde og vekt, særlig hos brosme fanget i Norskehavet og utenfor kysten av Finnmark.

Mengden kveis i et havområde er direkte knyttet til forekomst av marine pattedyr som fungerer som sluttvert for de ulike kveistypene. Småhval som delfiner, spekkhoggere og vågehval er blant hovedsluttverte for *Anisakis* i norske og omkringliggende farvann, mens ulike selarter har samme funksjon for artene av *Pseudoterranova*, *Contracaecum* og *Phocascaris*. Samtidig forekomst i tid og rom av marine pattedyr i aktuelle fangstområder vil dermed øke sannsynligheten for at fisken infiseres med kveis. Dette gjenspeiles blant annet i at kysttorsk fra Lofoten/Vesterålen har signifikant høyere infeksjonsnivå med *Pseudoterranova* sammenlignet med skrei fisket i omtrent samme område. Kysttorsk oppholder seg over lengre tid i områder der det også lever kystsel som steinkobbe (*Phoca vitulina*) og havert (*Halichoerus grypus*), mens skreien kun oppholder seg i kortere perioder på de samme stedene. Både steinkobbe og havert fungerer som sluttvert for *P. decipiens* (s.s.) og *P. krabbei*. Begge har klart høyere prevalens og abundans i torsk og brosme sammenlignet med den tredje *Pseudoterranova*-arten, *P. bulbosa*, som bruker storkobbe (*Erignathus barbatus*) som sluttvert. *Pseudoterranova bulbosa* ble faktisk ikke påvist hos brosme i det hele tatt. Dette forklares med at de aktuelle fangstområdene for brosme ikke overlapper med områder der det er storkobbe. Storkobben foretrekker nemlig isrike områder i Barentshavet og ses kun sporadisk langs norskekysten. *Pseudoterranova* ble heller ikke påvist hos brosme fanget i det sentrale Norskehavet der det ikke lever kystsel. Når vi samtidig har indikasjoner på at *Pseudoterranova* ikke overlever like lenge i fisk som *Anisakis* (Levsen et al. 2022), tyder funnene på at fangstlokalitet er hoveddriveren bak både forekomst og infeksjonsnivå til *Pseudoterranova* hos skrei, kysttorsk og brosme fra de aktuelle fangstområdene.

Verken fangstsesong (måned) eller kjønn viste seg å ha signifikant effekt på sannsynligheten for *Anisakis*-infeksjon hos de tre fiskeslagene (GLM-modellering; $p > 0.05$ i samtlige tilfeller). Prøvetakingene var imidlertid ujevnt fordelt med hensyn til fangstlokalitet så vel som fangstdato, i tillegg til at fiskestørrelsen varierte bredt blant de ulike prøvene (Tabell 1). Økologien til *Anisakis* i fisk, blant annet kjennetegnet ved forholdsvis lang levetid og trenden til akkumulering over tid hos større fisk, tilsier dessuten at fangstmåned/sesong ikke har større effekt på det generelle infeksjonsnivået.

5.4 Synlig kveis

Et parti på 30 brosme fisket i oktober 2022 utenfor Finnmark, ble brukt i forsøket på synlig kveis. Resultatene fra forsøket vises i Tabell 3. Samtlige 30 brosmer var infisert med *Anisakis* i både kjøtt og innvoller. Innledende grov visuell inspeksjon av kjøttet etter filetering kunne i litt over halvparten (53%) av fiskene slå fast at det var kveis/*Anisakis* til stede, dvs. minst én larve var synlig og kunne tydelig identifiseres som kveis. I kun 4 av 30 fisk (13%) samsvarte estimerte infeksjonsnivå på >10 larver med faktiske høye infeksjonsnivå på >60 larver. I de fleste tilfeller ble de faktiske infeksjonsnivå i kjøttet sterkt underestimert (40%) eller infeksjonen ble helt oversett (47%). Tre av brosmene hadde dessuten ≥ 7 larver av *Pseudoterranova* i kjøttet. Infeksjoner i kjøttet med *Pseudoterranova* er som regel synlig, særlig når larvene sitter i bukklappene eller i de bakre deler av filetene like under overflaten. Visuell estimering av antall *Pseudoterranova*-larver i kjøttet samsvarte da også i langt større grad med faktisk forekomst enn ved tilsvarende estimering av antall *Anisakis*. Disse var enklere å estimere forholdsvis korrekt i tilfeller der den vertsinduserte bindevevskapselen rundt larvene var melanisert (Figur 12a), eller når flere larver satt i bukklappene like under bukhinnen hos brosme (Figur 12b). Det må nevnes at mens bukhinnen er mørk og/eller grålig pigmentert hos sei og torsk/skrei, også kalt svarthinnen, er den mye svakere pigmentert, forholdsvis tynn og nesten gjennomsiktig hos brosme. Hos torsk og sei vil synligheten av kveis i bukklappene dermed være avhengig av at bukhinnen fjernes under prosesseringen. Hos brosme er kveisen som regel godt synlig i bukklappene selv med bukhinnen fremdeles intakt (Figur 12b og 13).

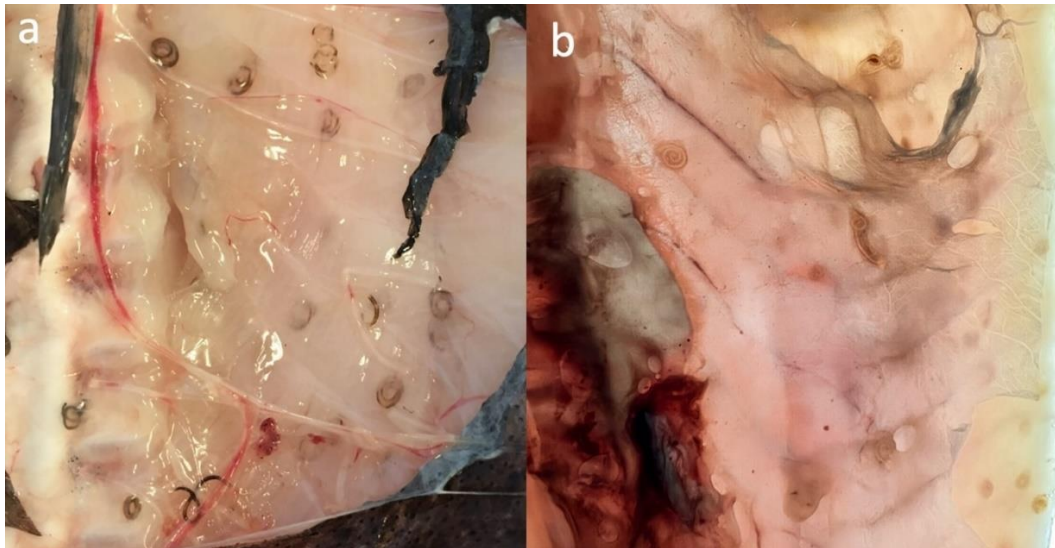
Visuell inspeksjon av innvollene, før sløying og filetering, kunne hos de fleste fisk (87%) slå fast at det var kveis til stede. Men kun i ca. 17% av fiskene var det samsvar mellom estimert høyt infeksjonsnivå på $>>10$ larver og et faktisk høyt infeksjonsnivå tilsvarende $>>100$ larver (Tabell 3).

Tabell 3. Estimert forekomst av synlig kveis (*Anisakis*) i kjøttet og innvoller hos 30 brosme sammenlignet med gradvis mer effektive inspeksjonsmetoder som gjennomlysning («candling») og UV-press.

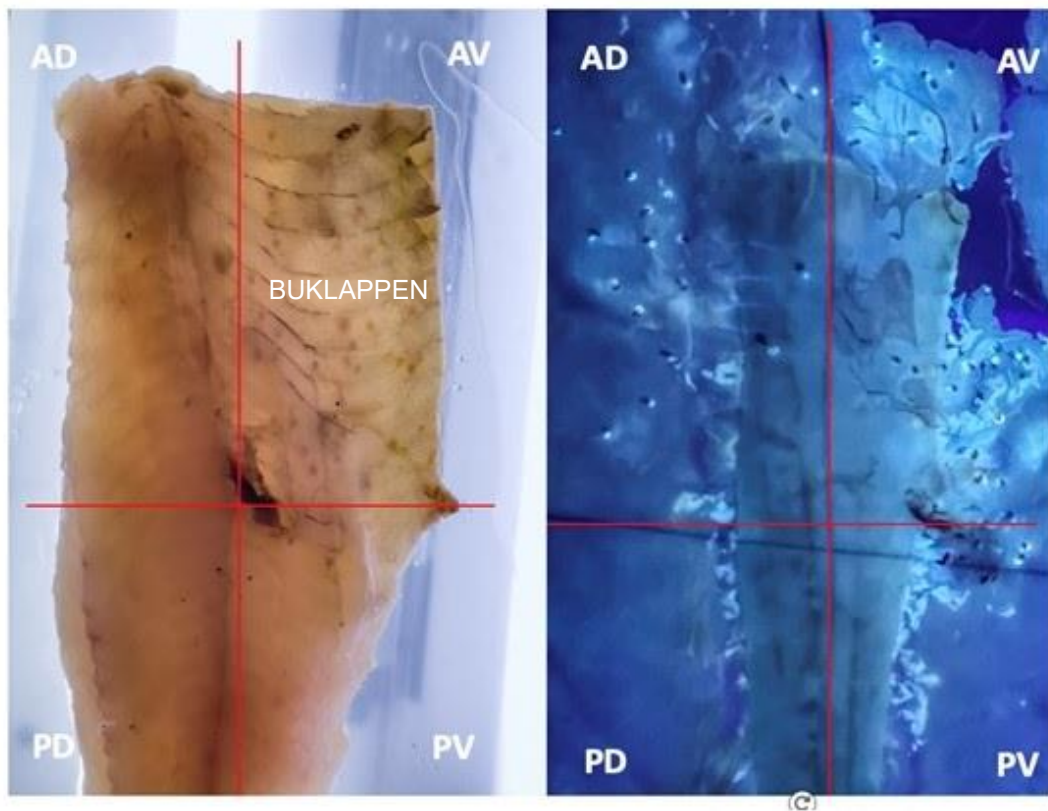
	I kjøttet							Innvoller	
	Visuelt*	Gjennomlysning			UV-press			Visuelt*	UV-press
Fisk #		V. side	H. side	Totalt	V. side	H. side	Totalt		
1	0	2	0	2	62	24	86	<10	105
2	0	3	0	3	43	10	53	0	30
3	<10	3	0	3	30	22	52	>10	104
4	0	4	9	13	42	22	64	0	34
5	<10	13	3	16	37	24	61	<10	147
6	0	5	8	13	34	17	51	0	58
7	<10	11	5	16	82	42	124	<10	83
8	<10	11	8	19	66	21	87	<10	26
9	<10	1	7	8	50	30	80	<10	75
10	0	4	3	7	18	17	35	0	67
11**	<10	7	1	8	21	14	35	>10	95
12**	>10	26	21	47	52	29	81	>>10	130
13	<10	5	5	10	56	25	81	<10	85
14	<10	7	2	9	52	41	93	<10	39
15**	>10	13	12	25	92	33	125	>>10	111
16	0	18	5	23	39	25	64	>>10	87
17	<10	6	5	11	47	31	78	>10	32
18	0	5	3	8	39	22	61	>10	49
19	<10	22	10	32	62	23	85	<10	87
20	0	4	1	5	43	10	53	>>10	51
21	>10	13	15	28	89	43	132	>>10	187
22	0	5	2	7	98	43	141	>>10	176
23	>10	6	7	13	45	15	60	>10	135
24	0	1	1	2	75	49	124	>10	80
25	<10	3	0	3	80	19	99	<10	115
26	0	9	8	17	79	31	110	>>10	127
27	<10	1	2	3	39	10	49	<10	34
28	0	36	8	44	59	37	96	<10	73
29	0	2	1	3	31	25	56	<10	163
30	0	3	2	5	32	11	43	>10	44
Sum:		403			2359				2629

*: Med det blotte øye ved pålys. **: Henholdsvis 7, 21 og 13 *Pseudoterranova*-larver ble identifisert fra kjøttet etter forsøket. Det ble ikke skilt mellom *Anisakis* og *Pseudoterranova* under den visuelle estimeringen av synlig kveis.

Gjennomlysning av filetene på lysbord («candling») påviste kun 17% av *Anisakis*-larvene som faktisk var til stede i de aktuelle brosmene. Som nevnt er *Anisakis* som sitter tett opp mot bukhinnen hos brosme enklere å få øye på enn når de sitter i øvre eller bakre del av filetene (Figur 13). Selv om de høyeste faktiske infeksjonsnivå i filetene stort sett samsvarte med de høyeste tellingene ved «candling», må den totale effektiviteten sies å være lav, særlig tatt i betraktning at vi nok brukte noe mer tid på «candling» sammenlignet med det som er praktisk og økonomisk hensiktsmessig under industrielle forhold i bedriftene. «Candling» kan imidlertid være nyttig for å avdekke ansamlinger av kveis, særlig i bukklappene når bukhinnen er fjernet. Fileter med mye kveis i bukklappen kan enten trimmes for å fjerne mesteparten av kveisen (se under) eller bli nedgradert til en lavere kvalitetskategori.



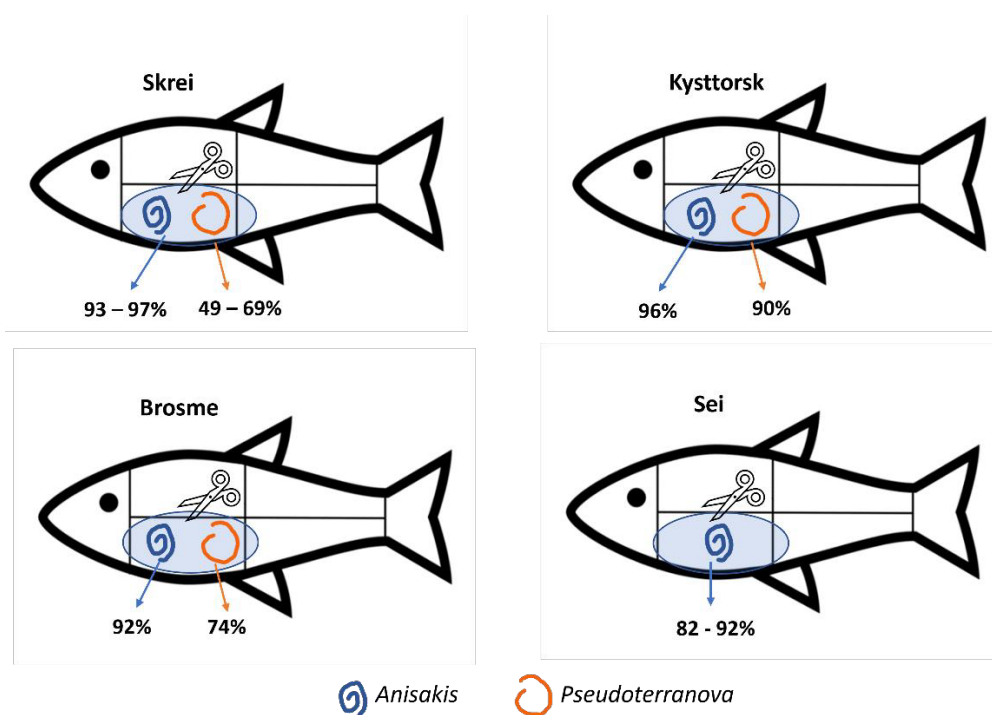
Figur 12. Synlige Anisakis-larver i buklappene hos sei (a) og brosme (b), etter hel eller delvis fjerning av bukhinnen. Merk melaniseringen av kapslene rundt kveisen hos sei, som bidrar til å øke synligheten betydelig.



Figur 13. Synlig Anisakis i et filetstykke av brosme med intakt bukhinne. Sammenligning mellom «candling» (venstre) og UV-press (høyre). Anisakis-larver i buklappen (AV) er lettere synlig ved «candling» enn når de sitter i øvre eller bakre filetdel.

5.5 Effekt av trimming

Fordelingen av kveisen i kjøttet hos de 3 fiskeslagene tilsier at trimming av det meste av bukklappene på begge sider, kan redusere kveisbelastningen i produktet betydelig. Maksspotensialet av trimmingen for hvert fiskeslag er illustrert i Figur 14. Mens de fleste *Anisakis*-larver faktisk forekom i selve bukklappen, tilsvarende rute AV i filetene (se Figur 13), hadde larvene av *Pseudoterranova* en mer spredt fordeling i kjøttet, særlig hos skrei og brosme. Selv om prevalensen til *Pseudoterranova* i fiskekjøttet generelt var langt lavere sammenlignet med *Anisakis* (se Tabell 2), kan enkelte fileter spesielt hos kysttorsk og brosme, ha betydelige mengder potensielt lett synlige *Pseudoterranova* også i loins eller i halestykkene. Gitt den forholdsvis høye kveisbelastningen generelt i kjøttet til alle 3 fiskeslag, uavhengig av fangstområde, bør foredlingsindustrien vurdere om mer grundige inspeksjonsrutiner kunne betale seg i form av forsterket markedstillit og omdømme, særlig i kveisfølsomme markeder som Spania, Frankrike og Brasil. Siden det er umulig å fjerne all kveisen fra produkter av hvitfisk, bør behovet for å redusere sannsynligheten for at synlig kveis er til stede i produktet, balanseres mot fornuftig og bærekraftig tids- og ressursbruk i bedriftene. Dette bør være en rutinemessig del av kommunikasjonen ut til markedsaktørene, særlig for fersk fisk, sammen med informasjon om at vanlig tilberedning med varmebehandling uskadeliggjør parasittene.



Figur 14. Potensiell effekt av trimming av bukklappene for å minimere forekomst av kveis i kjøttet hos torsk (separat for skrei og kysttorsk), brosme og sei fra aktuelle fangstområder.

6. Hovedfunn

- Totalt 9 arter av kveis ble påvist fordelt på slektene *Anisakis* (1 art), *Pseudoterranova* (3), *Contracaecum* (3), *Phocascaris* (1) og *Hysterothylacium* (1). Kun 3 av disse, *Anisakis simplex* (s.s.), *Pseudoterranova decipiens* (s.s.) og *P. krabbei*, infiserte fiskekjøttet.
- Brosme var sterkt infisert med *Anisakis* i kjøttet med et gjennomsnitt på over 80 larver, som var opp mot 10 ganger høyere sammenlignet med torsk og sei.
- Fiskestørrelse er hoveddriveren bak forekomsten av *Anisakis* mens fangstlokalitet ser ut til å være viktigste faktor som driver forekomsten av *Pseudoterranova*, særlig hos kysttorsk og brosme.
- *Pseudoterranova* er som regel lett synlig i filetene mens enkel visuell inspeksjon for *Anisakis* er ineffektiv og kan i beste fall avdekke ansamlinger av larver som sitter like under filetoverflaten.
- Trimming av bukklappene kan redusere forekomst av *Anisakis* i filetsiden med over 90% hos torsk og brosme og over 80% hos sei.

7. Referanser

- Bao M., Pierce G.J., Strachan N.J.C., Pascual S., González-Muñoz M., Levsen A. (2019). Human health, legislative and socioeconomic issues caused by the fish-borne zoonotic parasite *Anisakis*: Challenges in risk assessment. *Trends in Food Science & Technology* 86, 298-310. [https://doi: 10.1016/J.TIFS.2019.02.013](https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.02.013)
- Bao M., Cipriani P., Giulietti L., Drivenes N. and Levsen A. (2021). Quality issues related to the presence of the fish parasitic nematode *Hysterothylacium aduncum* in export shipments of fresh Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). *Food Control* 121, 107724. [https://doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107724](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107724)
- Berland B. (1961). Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia* 2, 1–50. <https://doi.org/10.1080/00364827.1961.10410245>
- Berland B. (1989). Identification of fish larval nematodes from fish, in: Möller, H. (ed.), *Nematode Problems in North Atlantic Fish. Report from a Workshop in Kiel, 3-4 April 1989*. pp. 16–22.
- Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M., Shostak A.W. (1997). Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. *J. Parasitol.* 83, 575. <https://doi.org/10.2307/3284227>
- Codex Alimentarius, 2004. Standard for salted atlantic herring and salted sprat - CODEX STAN 244-2004.
- EC (2004). Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. *Official Journal of the European Union* 30.4.2004, 151.
- Gay M., Bao M., MacKenzie K., Pascual S., Buchmann K., Bourgau O., Couvreur C., Mattiucci S., Paoletti M., Hastie L.C., Levsen A., Pierce G.J. (2018). Infection levels and species diversity of ascaridoid nematodes in Atlantic cod, *Gadus morhua*, are correlated with geographic area and fish size. *Fisheries Research* 202, 90–102. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2017.06.006>

- Gómez-Morales M.A., Castro C.M., Lalle M., Fernández R., Pezzotti P., Abollo E., Pozio E. (2018). UV-press method versus artificial digestion method to detect Anisakidae L3 in fish fillets: Comparative study and suitability for the industry. *Fisheries Research* 202, 22-28.
- ISO 23036-1:2021. Methods for the detection of Anisakidae L3 larvae in fish and fishery products — Part 1: UV-press method.
- Levsen A., Lunestad B.T., Berland B. (2005). Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish. *Journal of Food Protection* 68 (4): 828-832.
- Levsen A., Svanevik C.S., Cipriani P., Mattiucci S., Gay M., Hastie L.C., Bušelić I., Mladineo I., Karl H., Ostermeyer U., Buchmann K., Højgaard D.P., Pierce G.J. (2018). A survey of zoonotic nematodes of commercial key fish species from major European fishing grounds - Introducing the FP7 PARASITE exposure assessment study. *Fisheries Research* 202, 4–21. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2017.09.009>
- Levsen A., Cipriani P., Palomba M., Giulietti L., Storesund J.E., Bao M. (2022). Anisakid parasites (Nematoda: Anisakidae) in three commercially important gadid fish species from the southern Barents Sea, with emphasis on key infection drivers and spatial distribution within the hosts. *Parasitology* 149, SI 14, 1942-1957 (<https://doi.org/10.1017/S0031182022001305>)
- Mattiucci S., Cipriani P., Levsen A., Paoletti M., Nascetti G. (2018). Molecular epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: an ecological and evolutionary road map. *Advances in Parasitology* 99: 93-263. (<https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001>)
- Skarstein T.H., Westgaard J.I., Fevolden S.E. (2007). Comparing microsatellite variation in north-east Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) to genetic structuring as revealed by the pantophysin (*Pan I*) locus. *Journal of Fish Biology* 70, 271-290. doi: 10.1111/j.1095-8649.2007.01456.x
- Strømnes E., Andersen K. (1998). Distribution of whaleworm (*Anisakis simplex*, Nematoda, Ascaridoidea) L3 larvae in three species of marine fish; saithe (*Pollachius virens* (L.)), cod (*Gadus morhua* L.) and redfish (*Sebastes marinus* (L.)) from Norwegian waters. *Parasitol. Res.* 84, 281–285. <https://doi.org/10.1007/s004360050396>

8. Leveranser

- Det ble gjennomført i alt 4 prosjektmøter inkl. et fysisk møte i sept. 2020 (Kick-off) og 3 digitale møter med referansegruppen (des. 2020, des. 2021, mai 2023).
- To faglige innlegg med presentasjon av foreløpige resultater overfor industrien: FHF webinar i oktober 2020 (A. Levsen) og FHF hvitfiskkonferanse i oktober 2021 i Tromsø (P. Cipriani).
- Én populærvitenskapelig artikkel som omhandlet deler av prosjekresultatene: *Levsen A. (2022). Parasitten kveis er på fremmarsj i Barentshavet. Fiskeribladet 16. okt. 2022.*
- Én internasjonal presentasjon som omhandlet deler av prosjekresultatene: *Cipriani P., Bao M., Giulietti L., Storesund J. E., Palomba M., Mattiucci S., Levsen A. (2022). A hidden biodiversity in the Northeast Atlantic Ocean: ascaridoid nematodes in Atlantic cod *Gadus morhua*. ICOPA, World Federation of Parasitologists, 21-26 Aug. 2022, Copenhagen, DK.*

- Én fagfelleurdert int. vitenskapelig artikkel som omhandler deler av prosjekresultatene:
Levsen A., Cipriani P., Palomba M., Giulietti L., Storesund J.E., Bao M. (2022). Anisakid parasites (Nematoda: Anisakidae) in three commercially important gadid fish species from the southern Barents Sea, with emphasis on key infection drivers and spatial distribution within the hosts. Parasitology 149, SI 14, 1942-1957 (<https://doi.org/10.1017/S0031182022001305>).
- Faglig sluttrapport, mai 2023.
- Administrativ sluttrapport, mai 2023.
- Faktaark (på engelsk og spansk) til bruk overfor kunder i grossistledet for norsk hvitfisk, mai 2023.

Takk og anerkjennelser:

En stor takk til alle dedikerte kollegaer på HIs prøvemottak, i særdeleshett Markus Lie Skadal, Siren Hatland og Manfred Torsvik. Videre takkes Natalia Drivenes og Hui-Shan Tung for hjelp med molekylær artsbestemmelse av kveisen.

Appendiks

Basic anisakid ecology

Anisakis

Anisakis simplex (s.s.) appears to be the only member of the *A. simplex* species complex present in fishes from Arctic or Subarctic areas of the NE Atlantic including the Norwegian and Barents Seas. This parasite species is practically present in all fishes from any area or season. *A. simplex* (s.s.) uses several cetacean species as definitive hosts, particularly within the cetacean families Delphinidae, Monodontidae, Phocoenidae and Balaenopteridae. The abundance of killer whales, pilot whales, minke whales and local populations of harbour porpoises in the Norwegian and Barents Sea, is probably the reason why this parasite commonly occurs throughout all NE Atlantic marine ecosystems incl. Arctic waters. It is present in both coastal and pelagic areas. The basic *A. simplex* (s.s.) lifecycle in Norwegian- and Barents Sea waters is shown in Figure A1.

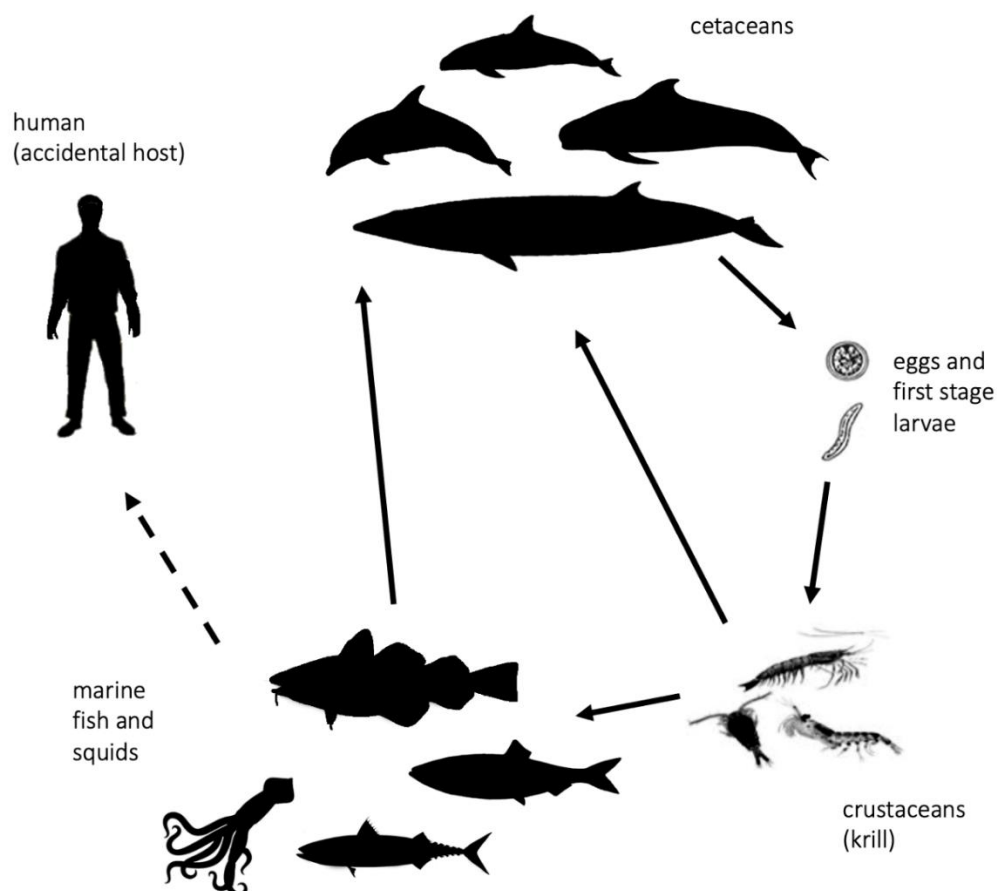


Figure A1. The basic *A. simplex* (s.s.) lifecycle in Norwegian- and Barents Sea waters.

Pseudoterranova

Species belonging to the *Pseudoterranova* genus are parasites of pinnipeds, using invertebrates (copepods and amphipods) as intermediate hosts, and fish as paratenic transport hosts. Three species belonging to the *Pseudoterranova decipiens* complex have been detected in the fish samples of the present study: *P. decipiens* (s.s.), *P. krabbei*, and *P. bulbosa*.

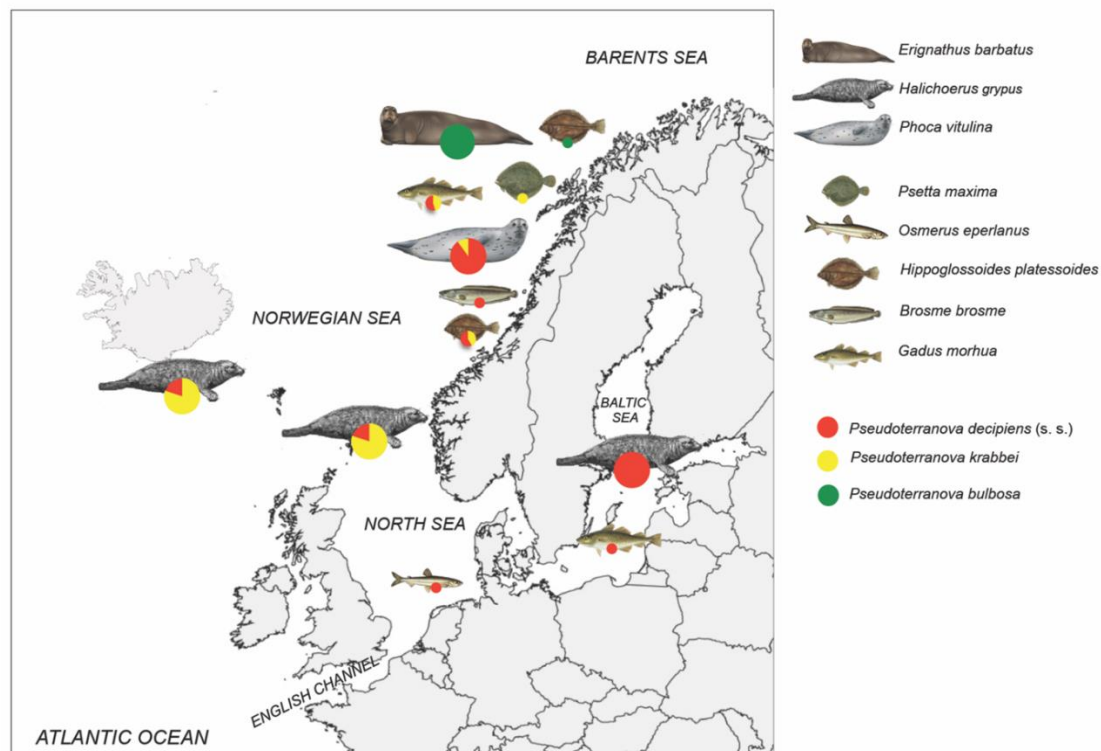


Figure A2. Relative proportions of *Pseudoterranova decipiens* (s.s.), *P. krabbei* and *P. bulbosa* in their main definitive host (seals) and in some important transport fish host species in NE Atlantic waters (from Mattiucci et al. 2017).

P. decipiens (s.s.) and *P. krabbei* are parasitising as adults both harbour seal (*Phoca vitulina*) and grey seal (*Halichoerus grypus*) while *P. bulbosa* utilises the bearded seal (*Erignathus barbatus*) as definitive host. Common fish transport hosts for *P. decipiens* (s.s.) and *P. krabbei* in NE Atlantic waters include Atlantic cod (*Gadus morhua*) and tusk (*Brosme brosme*). *Pseudoterranova bulbosa* on the other hand, seems primarily to use flatfishes such as long rough dab (*Hippoglossoides platessoides*), Greenland halibut (*Reinhardtius hyppoglossoides*) and turbot (*Psetta maxima*) as transport hosts. While the former 2 species almost exclusively infect the flesh of their fish hosts, *P. bulbosa* seems mainly to parasitize the liver. The main definitive and transport hosts, and their relative importance for each *Pseudoterranova* species in NE Atlantic waters, are shown in Figure A2.

The presence and abundance of these three *Pseudoterranova* species in fish is closely associated with areas in which the different seal species are abundant. Especially coastal seals often gather and form colonies along sandbars, rocky shores and islets during spawning periods. Thus, coastal areas where seal colonies reside, can act as hotspots for *Pseudoterranova* infections in fish.

Contracaecum

Species belonging to the *Contracaecum* genus are parasites of seals, using invertebrates as intermediate hosts and fish as paratenic transport hosts. Members of the *Contracaecum osculatum* (s.l.) species complex which comprises *C. osculatum* sp. A, *C. osculatum* sp. B and *C. osculatum* (s.s.), live as adults in seals from Arctic Boreal regions. These three species have been recorded at different prevalence and abundances in all present fish species and areas, except of the North Sea. In contrast to *A. simplex* (s.s.) and *P. decipiens* (s.s.) and *P. krabbei*, members of the *C. osculatum* species complex do apparently not infect the flesh of their fish hosts. The main definitive and transport hosts, and their relative importance for each *Contracaecum* species in NE Atlantic waters, are shown in Figure A3.

C. osculatum sp. B appeared to be the most abundant *Contracaecum* species in the present samples. It occurs at its adult stage in harbour seal and harp seal (*Pagophilus groenlandicus*) from the Barents Sea and coastal areas of the Norwegian Sea. *C. osculatum* sp. B larvae appear to be especially common in capelin (*Mallotus villosus*) from the Barents Sea, which seems to act as one of the key transport hosts in the area. Capelin comprises one of the most important prey items of larger specimens of cod, saithe and haddock during winter and spring, which may at least in part explain the high prevalence and comparatively high abundances of *C. osculatum* sp. B in some of the present samples of cod, saithe, and tusk. *C. osculatum* sp. A, on the other hand, seems to show a more restricted geographical range, being a parasite of the bearded seal. Like *P. barbatus*, benthic or semi-pelagic flatfishes such as Greenland halibut may act as transport hosts for this sibling species in NE Atlantic waters. The third sibling, *C. osculatum* (s.s.) is only rarely found in Norwegian Sea areas but seems to be abundant in the Baltic Sea where it lives in grey seal, with Baltic cod acting as main transport host in the area.

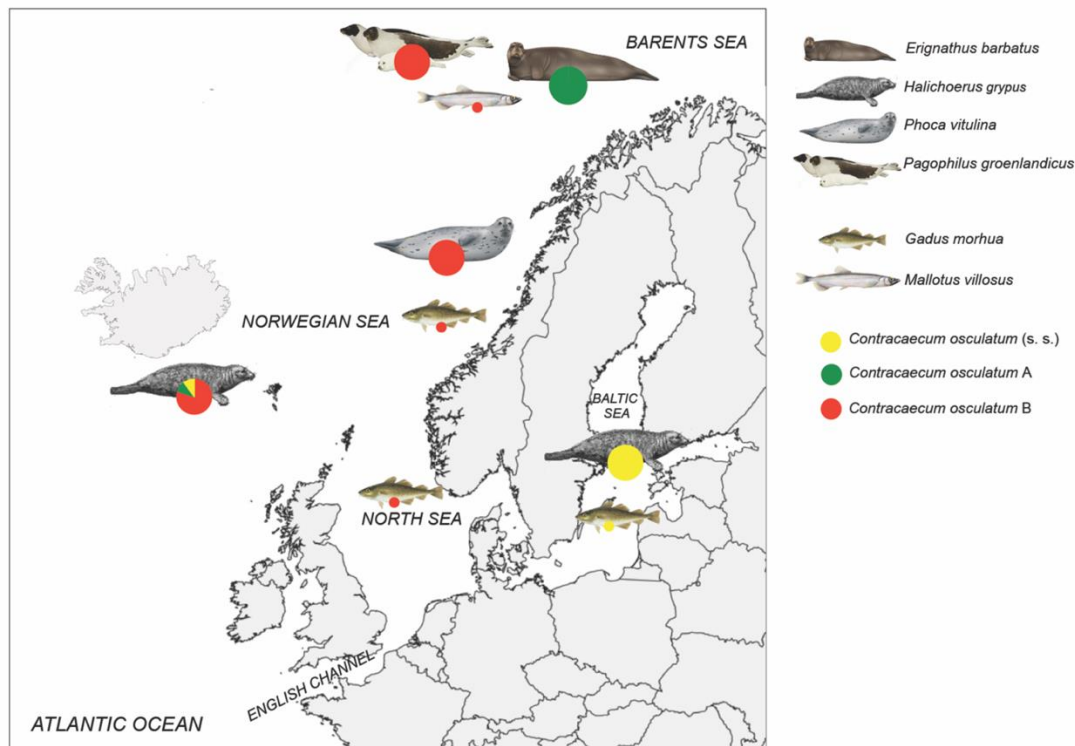


Figure A3. Relative proportions of *Contracaecum osculatum* sp. A, *C. osculatum* sp. B and *C. osculatum* (s.s.) in their main definitive host (seals) and in some important transport fish host species in NE Atlantic waters (from Mattiucci et al. 2017).

Additional reading

- Levsen A., Paoletti M., Cipriani P., Nascetti G., Mattiucci S. (2016). Species composition and infection dynamics of ascaridoid nematodes in Barents Sea capelin (*Mallotus villosus*) reflecting trophic position of fish host. *Parasitol. Research* 115: 4281-4291 (doi.org/10.1007/s00436-016-5209-9)
- Mattiucci S. and Nascetti G. (2008). Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite coevolutionary processes. *Advances in Parasitology* 66, 47-148 (doi:10.1016/S0065-308X(08)00202-9)
- Mattiucci S., Cipriani P., Paoletti M., Levsen A., Nascetti G. (2017). Reviewing biodiversity and epidemiological aspects of anisakid nematodes from the North-east Atlantic Ocean. *Journal of Helminthology* 91(4): 422-439 (doi.org/10.1017/S0022149X1700027X)