

12 JULI 1988

~~FISKERIDIREKTORATET
HOVEDBIBLIOTEKET~~

FISKERIDIREKTORATETS
SKRIFTER *Eks. 1*

SERIE ERNÆRING
VOL. 2, SPESIAL NO. A, 1987
"BJUGNPROSJEKTET"



DIRECTORATE OF FISHERIES
BERGEN-NORWAY

ERNÆRING OG "HITRA-SYKE"

"BJUGN-PROSJEKTET"
ET FORINGSFORSØK MED STOR LAKS

NUTRITION AND "HITRA-DISEASE"

"BJUGN PROJECT"
A FEEDING EXPERIMENT WITH
ADULT ATLANTIC SALMON

FISKERIDIREKTORATETS
ERNÆRINGSINSTITUTT

DIRECTORATE OF FISHERIES
INSTITUTE OF NUTRITION

BERGEN 1986

WITH ENGLISH ABSTRACT AND CONCLUSIONS

FORORD

På et møte i "Frisk Fisk" gruppen i Trondheim våren 1984 ble det av representanter fra Fiskeridirektoratets Ernæringsinstitutt skissert et opplegg for å belyse ernæringens betydning i forbindelse med utbrudd av Hitra-syke. Dette resulterte i kontakt med et nystartet firma innen forproduksjon til oppdrettsnæringen, Bjugn Industrier A/S i Sør Trøndelag. Firmaet sa seg villig til teknisk og økonomisk å gjennomføre et større foringsforsøk ut fra Ernæringsinstituttets hypotese.

Gjennom tidligere disponent Lars Aglen i Bjugn Industrier A/S ble prosjektet i løpet av sommeren nærmere konkretisert der en kom fram til ansvars- og arbeidsfordeling med Bjugn Industrier A/S som ansvarlig for prosjektet praktisk og økonomisk, og med Fiskeridirektoratets Ernæringsinstitutt som faglig hovedansvarlig organisasjon. Avtalen inkluderte Ernæringsinstituttets rett til å offentliggjøre resultatene slik at de kunne komme hele næringen til gode.

Prosjektet ble initiert av forsker Einar Lied som i samarbeid med forskningsjef Olaf R. Brækkan la grunnlaget for prosjektet. Faglig basis og detaljplanlegging av forsøket ble utarbeidet av forsker Einar Lied, forsker Kjartan Sandnes og forsker Øyvind Lie. For å gi forsøket en bred kompetanse ble en prosjektgruppe satt sammen ved Ernæringsinstituttet av følgende personer:

Forskningsjef dr.philos. Olaf R. Brækkan
 Konstituert forskningsjef dr.philos. Leif Rein Njaa
 Forsker siv.ing. Georg Lambertsen
 Forsker cand.agric. Finn Utne ¹⁾
 Forsker dr. philos. Einar Lied
 Forsker dr. philos. Kåre Julshamn
 Forsker cand.real. Kjartan Sandnes
 Forsker cand.real. Øyvind Lie
 Vit. ass. cand.scient. Rune Waagbø
 Ingeniør Ruth Sørheim

¹⁾ Finn Utne døde 30.6.1986

Foringsforsøket ble igangsatt i Bjugn i september 1984 og avsluttet i mai 1985, mens analysearbeidet ble avsluttet ved utgangen av 1985.

Einar Lied hadde permisjon under forsøksperioden, da han var gjesteforsker i Sverige og Skottland. Lie og Sandnes koordinerte og ledet gjennomføringen av prosjektet i samarbeid med prosjektgruppen. Prøveuttak i Bjugn ble utført av Waagbø, Sørheim, Sandnes og Lie samt ingeniør Magny Karlsen.

Hovedtyngden av analysearbeidet ble utført av Waagbø (kliniske og hematologiske analyser) og Sørheim (råanalyser) som begge var ansatt på prosjektet med Bjugn Industrier A/S som arbeidsgiver. Videre ble det utført analyser av aminosyrer (Njaa), vitamin E og fettsyrer (Lambertsen), mineraler (Julshamn) og vitamin C (Sandnes). Utne var ansvarlig for for og forsammensetning.

Databehandling av resultatene ble gjennomført av Waagbø i samarbeid med Lie og Sandnes.

Hovedtyngden av denne rapporten er skrevet av Lie, Sandnes, og Waagbø med bidrag fra prosjektgruppens øvrige medlemmer ut fra ansvarsområde som tidligere skissert.

Rapporten er redigert av Njaa og Lambertsen.

Gjennom "Bjugn-prosjektet" har Fiskeridirektoratets enæringsinstitutt vært tilknyttet og har rapportert til "Frisk Fisk" gruppen som har utgitt 3 årsrapporter (Frisk Fisk-brosjyrer).

Følgende artikler og publikasjoner er publisert eller under redigering basert på prosjektets resultater:

Julshamn, K., Utne, F., Sandnes, K. og Lie Ø. (1985).

Ekstra tilskudd av selen i fiskefor - er det nødvendig ?

Norsk Fiskeoppdrett. 3, 42-43.

Waagbø, R., Sandnes, K. og Lie Ø. (1985).

"Bjugn-prosjektet" - Hematologiske undersøkelser.

Norsk Fiskeoppdrett. 8,34-35.

Sandnes, K., Lie, Ø. og Waagbø, R. (1986).

Blodanalyser - (1) Et viktig hjelpemiddel i vurderingen av fiskens helse.

Norsk Fiskeoppdrett. 10, 48-50.

Lie, Ø., Waagbø, R. og Sandnes, K. (1986).

Blodanalyser - (2) Normalverdier i norsk oppdrettslaks.

Norsk Fiskeoppdrett. 12, 52- .

Waagbø, R., Sandnes, K. og Lie, Ø. (1987).

Blodanalyser - (3) Hitrasyk laks.

Norsk Fiskeoppdrett. 3, 54-55.

Julshamn, K., Sandnes, K., Lie Ø. og Brenna, J. (1987).

Mineral analyser - "Hitra-syk" laks.

Sendes Norsk Fiskeoppdrett.

Sandnes, K., Lie, Ø. and Waagbø, R. (1987).

Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*).

J. Fish Biol. Akseptert.

Lie, Ø., Waagbø, R. and Sandnes, K. (1987).

Growth and chemical composition in adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed different levels of protein and fat.

Sendt til Aquaculture.

Waagbø, R., Sandnes, K. and Lie, Ø. (1987).

Cold water vibriosis ("Hitra disease") in Atlantic salmon (*Salmo salar*) described by means of some blood chemistry and organ analyses.

Manuskript.

Julshamn, K., Sandnes, K., Lie Ø. and Waagbø, R. (1987).

Effects of dietary trace elements, including selenium, on the cold water vibriosis ("Hitra-disease") in Atlantic salmon (*Salmo salar*).

Manuskript.

Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt vil takke tidligere disponent Lars Aglen i Bjugn Industrier A/S for å bidra til å gjøre dette prosjektet mulig. Aglen og de ansatte ved Bjugn Industrier A/S takkes spesielt for den entusiasme og innsats de utviste ved gjennomføringen av forsøket.

Laboratoriet ved Diakonissehjemmets Sykehus, Haraldsplass v/ Taverner, Veterinærinstituttet v/ Håstein, Poppe og Midtlyng, Forskningstiftelsen ved Universitetet i Tromsø v/ Jørgensen og Espelid, Fosen Lakseoppdrett A/L v/ Å. Sundet og veterinær T. Sundet i Bjugn takkes for fruktbart samarbeid.

Følgende personale ved Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt takkes for vel utført analysearbeid: Torill Berg, Jan Brenna, Leikny Fjeldstad, Jorunn Haugsnes, Jan Rune Holmedal, Ole Ringdal, Laila Oksholm Sedal, Berit Engen Solli, Jacob Wessels og Geir Yven.

Margunn Ringøy og Linda Brustad takkes for hjelp med tekstbehandling til deler av rapporten.

Følgende har gitt økonomisk støtte til prosjektet:

Bjugn Industrier A/S Fiskeoppdretternes Salgslag A/S Norges Fiskeriforskningsråd Fiskeridepartementet T. Skretting A/S Felleskjøpet/ EWOS Bøndernes Bank F. Hoffmann - La-Roche v/ G.O.Johnsen Sør-Trøndelag fylke.

Forskningsjef dr. philos. Olaf R. Brækkan gikk av med pensjon 30.6.1986 og vi vil i den anledning tilegne han dette fellesarbeidet fra instituttet.

Leif Rein Njaa
konstituert forskningsjef

I

INNLEDNING

"Hitra-syken" ble første gang påvist i Norge i 1977. Den ble første gang beskrevet i et anlegg på Hitra: derav navnet Hitra-syke. Imidlertid har sykdommen vært benevnt som "Hemorrhagisk syndrom" med referanse til de karakteristiske blødningene som følger med sykdommen, eller som "Vinter-vibriose" eller "Kaldtvannsvibriose" med referanse til at sykdommen skyldtes en *Vibrio*-bakterie, som opptrådte om vinteren. Hitra-syken har i de senere årene vært den meste framtrede fisesykdommen i norske oppdrettsanlegg, og har forårsaket betydelige økonomiske tap for oppdrettsnæringen.

Utbruddet av Hitra-syke har vært registrert langs hele norskekysten; imidlertid har den største delen av sykdomsutbruddene kommet i anlegg lokalisert i Midt-Norge. I den tidligere fasen forekom Hitra-syke utbruddene bare om vinteren, i de senere årene har en registrert utbrudd også om sommeren. Sykdommen synes å opp-
tre usystematisk både når det gjelder type anlegg, anleggenes lokalisering og type fiskefor.

Sykdomsforløp og kliniske symptomer er beskrevet i detalj av POPPE (1986). Hitra-syk fisk viser adferdsmessig forandringer som enten kan være nedsatt aktivitet eller ukoordinerte svømmebevegelser. De mest fremtredende ytre symptomer er blødninger i buken og særlig rundt finnebasis. Dessuten ser en diffuse blødninger rundt gatt-
åpningen.

En makroskopisk inspeksjon av de indre organer i Hitra-syk fisk viser tallrike blødninger i leveren, svømmeblæren, bukhinnen og i fettvevet mellom blindtarmene. Leveren er forstørret og gulfarget. Bukhulen er væskefylt (ascites), likeledes kan svømmeblæren være fylt med en klar blodtilblandet væske. Hitra-sykens årsak er om-
diskutert og uklar. På den tiden undersøkelsen ble satt igang ble Hitra-syken blant annet sett på som en infeksjonssykdom forårsaket av en vibro-bakterie, som opptrådte i kaldt vann, og som ikke var beskrevet tidligere. Denne bakterien er senere blitt gitt navnet *Vibrio salmonicida*. Det synes ikke å være tvil om at Hitra-syk fisk når den dør har en generell infeksjon forårsaket av denne bakterien. Dette betyr imidlertid ikke at Hitra-sykens primærårsak nød-

vendigvis er en infeksjon av den beskrevne vibrio bakterien.

De kliniske symptomene som observeres hos Hitra-syk fisk er uspesifikke. Forandringen som er beskrevet er funnet ved en rekke andre lidelser, herunder også ernæringsbetingede sykdommer. En kan derfor tenke seg at Hitra-sykens primærårsak er en annen enn en infeksjon, og at en infeksjon oppstår hos syk fisk som følge av en generell eller spesifikk svekkelse. De beskrevne symptomene på Hitra-syke kan tyde på en leverfunksjonsvikt. En svikt i leverfunksjonen vil føre til en svikt i fiskens alminnelige metabolisme fulgt av en svikt i dens immunmekanisme. Dette vil gjøre fisken mindre motstandsdyktig mot infeksjoner. En svikt i leverfunksjonen kan ha ernæringsmessige årsaker og være primærårsaken til Hitra-syken. Sammensetningen av for og foringsrutiner kan derfor tenkes å ha profylatisk virkning når det gjelder utbrudd av denne fiskesykdommen. Utgangshypotesen for den foreliggende undersøkelsen var at Hitra-syken primært skyldes svikt i fiskens leverfunksjon og at denne svikten er ernæringsmessig betinget. En tok derfor sikte på å belyse virkningen av for og foringsparametre på utvikling av tidlig leverfunksjonsvikt og om dette hadde sammenheng med utbrudd av Hitra-syke. Valg av måleparametre ble gjort ut fra denne målsetting.

Forsøket ble satt opp med for og forkomponenter etter følgende plan:

1. Variert energitetthet i foret; en undersøkelse av en eventuell sammenheng mellom forets innhold av protein og fett og utbrudd av Hitra-syke. I dette ligger også en undersøkelse av fettbelastningens effekt på leverens funksjonsevne.
2. Varierte fortyper; enkelte oppdrettere har rapportert en mulig sammenheng mellom fortype og utbrudd av Hitra-syke.
3. Ekstra tilskudd av vitaminene C og E, aminosyren methionin og elementet selen. Vitamin C har en funksjon i immunsystemet, i styrking av bindevev og som antistressfaktor. Vitamin E fungerer som en antioksydant og er viktig for beskyttelse av fle-

rumettede fettsyrer. Methionin kan være en minimums-faktor i forblandinger når fiskemel eller fiskeprodukter inngår som hovedkilde for protein og er dessuten lipotrofisk. Selen påvirker, alene eller sammen med vitamin E, ulike redoks--prosesser i organer som kan være viktig for sykdomsresistens. En viktig side ved prosjektet var innsamling av en betydelig mengde "normalverdier" hos laks. Dette er verdier som kan anvendes i andre sammenhenger i forbindelse med sykdomstudier hos laks.

1. FORSØKSOPPLEGG

Forsøkslokalitet

Forsøket ble utført i et nyopprettet forsøksanlegg med 10 mærer i sjøområdet rett utenfor kaianlegget til Bjugn Industrier A/S (tidl. Bjugn Sildoljefabrikk) som ligger på sydsiden av Bjugnfjorden et par kilometer ut fra tettstedet Botngård på Fosenhalvøya i Sør--Trøndelag fylke (se fig.1). Sjødybden ved normal vannstand i anlegget var 8 m med dyp på 19 m like utenfor. Tidevannsforskjellen på lokaliteten er vel 2 m.

En liten bekk, som løp ut under kaianlegget, kunne gi et mindre ferskvannsskikt i forsøksanlegget under lengere perioder med regn eller ved hurtig snøsmelting.

Forsøksanlegg og fisk

10 mærer ble benyttet i forsøket. Hver mær målte 6 x 6 x 3 m og de ble plassert i en rekke med nummerering fra vest til øst der den vestligste mæren utgjorde gruppe 0. Avstanden mellom notveggene til tilstøtende mærer var 1.5 m (fig.2).

På flyteelementene rundt notposene var det anlagt gangveier. En gangbro ga forbindelse mellom kai og forsøksanlegg.

Forsøksfisken, som var atlantisk laks, ble kjøpt hos Fosen Laks A/S etter 1 år i sjøen og hadde en gjennomsnittlig startvekt på 1.4 kg.

I hver av de 10 mærene ble det plassert ca. 600 fisk slik at belastningen i anlegget var forsøkets begynnelse var 7.8 kg laks per m³.

Forsøket varte fra 12.09.84 til 20.05.85, ialt 250 dager. Temperatur og salinitet er vist i figur 3 og 4. Det ble i forsøksperioden foretatt 10 uttak (se tabell 1).

Tabell 1

Oversikt over uttak i forsøksperioden.
Sampling schedule.

<u>UTTAK</u>	<u>Sample</u>	<u>DATO</u>	<u>Date</u>
A	12/9 - 13/9	1984	
B	23/10 - 25/10	"	
C	20/11 - 22/11	"	
D	11/12 - 13/12	"	
E	15/1 - 17/1	1985	
F	19/2 - 21/2	"	
G	26/2 - 27/2	"	
H	12/3 - 13/3	"	
I	26/3 - 28/3	"	
J	20/5 - 22/5	"	

2. FORTYPER

Forblandingene som ble brukt til gruppene 0, 5, 6, 7, 8 og 9 hadde som basis: maursyre-ensilert fiskeråstoff, pelletmel (handelsvare) uten vitamin- og pigmenttilsetning samt en egen vitamin- og pigmentblanding (se tab. 2). Ekstra tilsetninger av mikronæringsstoffer til de enkelte gruppene er beskrevet senere.

Foret til gruppe 1 ble satt sammen av Bjugn Industrier A/S da bedriften ønsket å utprøve sitt spesialprodukt basert på inndampet ensilasje. Dette foret ble endret endel underveis, og det henvises til analyseverdier av 8 stikkprøver tatt ved de ordinære prøveuttakene av samtlige for (app. 45-48).

Tess Edelfor (Skretting) ble gitt til gruppe 2. Dette foret inneholder ifølge produsenten 46 % omsettelig energi fra fett, 43 % fra protein og 11 % fra karbohydrater.

Til gruppe 3 ble det brukt et for som inneholdt inndampet fettholdig ensilasje og proteinkonsentrat samt pelletmel (energifordeling, se tab. 6).

Gruppe 4 fikk et for sammensatt av inndampet fettholdig ensilasje, pelletmel og loddeolje (energifordeling, se tab. 6).

Sammensetningen av forene (unntatt gruppe 1 og 2) er gitt i tabell 2.

Tabell 2

Blandeseddel til de forskjellige forene benyttet i forsøket.
Feed composition.

	0 ¹	3	4
Ensilasje,kg <i>Fish silage</i>	50	-	-
Inndampet ensilasje,kg <i>Evaporated silage</i>	-	20	40
Proteinkonsentrat,kg <i>Protein concentrate</i>	-	30	-
Pelletmel,kg <i>Pellet meal</i>	49	49	50
Loddeolje,kg <i>Capelin oil</i>	-	-	9
Vitamin-og pigment bl.,kg <i>Vitamin and pigment mix.</i>	1	1	1

¹Tilsvarende for 5,6,7,8 og 9
Corresponding for feed 5,6,7,8 and 9

3. INFEKSJONSFORSØKET

Da det ut i januar 1985, etter 5 uttak, ikke var tegn til "Hitrasyk" i anlegget, ble det bestemt å infisere fisken med bakterier fra hitrasyk fisk. Siktemålet var å undersøke de forskjellige gruppene med hensyn på videre smitte og dødelighet og å følge enkelt fisk med kliniske parametre frem til et eventuelt utbrudd. Veterinærinstituttet i Oslo ble kontaktet og rådspurt. De anbefalte at fisken ble dyppinfisert i en bakteriekultur fra hitrasyk fisk, og stilte et bakteriekonsentrat til rådighet.

20 fisk fra hver mær ble planlagt infisert. For å kunne følge den individuelle fisk med ulike blod- og serumanalyser ble disse merket med "Lea" merker, i forkant av ryggfinnen.

Fisken ble tatt ut etter vanlig rutine og bedøvet i et 1000 l kar med oksygenert sjøvann tilsatt en mettett løsning av benzokain i etanol. På grunn av etterfølgende blodprøver av samme fisk ble det kun tatt 3-5 ml blod av hver. Fisken ble deretter overført til et 1000 l kar med friskt oksygenert sjøvann. Når alle 20 fiskene fra en mær var våknet av bedøvelsen, ble disse overført til et infeksjonsbad laget til av den stedelige veterinær T. Sundet. Etter 30 min. i badet ble fisken ført tilbake til mæren.

Infeksjonen ble gjennomført i midten av februar. For å kunne oppdage et eventuelt sykdomsutbrudd før de synlige symptomene inntrådte, ble det andre uttaket gjennomført etter en uke (uttak G) og et tredje uttak etter tre uker (uttak H) fra infeksjonsdato. Under disse uttakene ble ryggmerkete fisk fanget inn, bedøvet med benzokain og blodprøve tatt. Etter oppvåking i et kar med oksygenert sjøvann ble fisken ført tilbake til sine respektive mærer. Merket fisk som døde i forsøksperioden ble inspisert av veterinær. Noen fisk ble sendt til Veterinærinstituttet for histologisk undersøkelser og diagnostisering.

Det ble foretatt hematologiske analyser av fullblod, kliniske analyser og mineralanalyser av serum.

Tabell 5.

BLODANALYSER - NORMALVERDIER I OPPDRETTSLAKS

*Blood analyses - normal ranges in farmed Atlantic salmon*HEMATOLOGI

RØDE BLODCELLER:	0.85 - 1.15	*10 ¹² /l blod
<i>Red blood cells</i>		
HEMOGLOBIN:	9.0 - 11.0	g/100 ml blod
<i>Haemoglobin</i>		
HEMATOKRIT:	44 - 50	%
<i>Haematocrit</i>		
LEUCOKRIT:	0.3 - 1.0	%
<i>Leucocrit</i>		
MCV:	400 - 550	*10 ⁻¹⁵ l
MCH:	95 - 110	*10 ⁻⁶ g
MCHC:	20.0 - 22.0	g/100 ml

SERUMANALYSER

PROTEIN:	40 - 55	g/l serum
ALBUMIN:	18 - 24	g/l serum
ALBUMIN/PROTEIN:	39 - 44	% av tot. protein
KREATININ:	20 - 50	mmol/l serum
<i>Creatinine</i>		
TRIGLYCERIDER:	2.0 - 4.0	mmol/l serum
<i>Triglycerides</i>		
KOLESTEROL:	8.0 - 13.0	mmol/l serum
<i>Cholesterol</i>		
AP:	600 - 1200	U/l serum
ASAT:	200 - 400	U/l serum
ALAT:	2 - 8	U/l serum

4. SAMMENDRAG

1. "Bjugn-prosjektet" tok sikte på å belyse ernæringens betydning i forbindelse med utbrudd av Hitra-syke. Forings-forsøket ble satt opp med laks (1.4 kg gj.sn.vekt) i 10 mærer i september 1984 og ble avsluttet i mai 1985. Det ble tatt 8 prøveuttak av fisk med jevne mellomrom i løpet av forsøksperioden. Hvert prøveuttak bestod av 20 fisk per gruppe til analyse, samt ytterligere 10 fisk for å øke data på vekt og lengde. Prøvematerialet ble komplettert med prøver av frisk og Hitra-syk laks fra et kommersielt oppdrettsanlegg.
2. Følgende fortyper og tilskudd ble gitt:
 - Gruppe 0: Kontrollfor basert på mjukpellet av vanlig ensilasje og pelletmel med 44 % av omsettelig energi fra protein og 35 % fra fett.
 - Gruppe 1: For basert på inndampet ensilasje fra Bjugn Industrier A/S.
 - Gruppe 2: Tess Edelfor (Skretting).
 - Gruppe 3: For sammensatt av inndampet ensilasje, proteinkonsentrat og pelletmel. Omsettelig energi fra protein var 52 % og fra fett 25 %.
 - Gruppe 4: Inndampet ensilasje, loddeolje og pelletmel med energifordeling på 36 % fra protein og 48 % fra fett.
 - Gruppe 5: Kontrollforet (gruppe 0) med 50 % ekstra tilskudd av aminosyren methionin.
 - Gruppe 6: Kontrollforet (gruppe 0) med 30 % ekstra tilskudd av vitamin E og 4 ganger økning av selen-innholdet.
 - Gruppe 7: Kontrollforet (gruppe 0) med 30 % ekstra tilskudd av vitamin E.
 - Gruppe 8: Kontrollforet (gruppe 0) med 4 ganger økning av selen-innholdet.
 - Gruppe 9: Kontrollforet (gruppe 0) med ekstra tilskudd av 3000 mg vitamin C per kg for.

3. Følgende analyser ble utført på prøvematerialet:

Blodprøver. Hematologi: Antall røde blodceller (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct) og leucokrit (Lct). Serum: Alkalisk fosfatase (AP), aspartat aminotransferase (ASAT), alanin aminotransferase (ALAT), total protein, albumin, kreatinin, triglycerider, kolesterol, jern, kopper, sink, selen, vitamin E, aminosyrer og glutathion peroksidase.

Lever.

Tørrstoff, protein, fett, aske, jern, kopper, sink, selen, vitamin E, vitamin C og fettsyrer.

Hel fisk.

Tørrstoff, protein, fett og aske.

Filet.

Tørrstoff, protein, fett, aske, aminosyrer og fettsyrer.

For.

Tørrstoff, protein, fett, aske, jern, kopper, sink, selen, vitamin E, vitamin C, methionin og fettsyrer.

Videre ble rund fisk, lever, milt og i noen tilfeller hjerte veid. Prøver av lever og muskel ble undersøkt histologisk ved Veterinærinstituttet. Et utvalg av serumprøver ble analysert for det spesifikke bakterieproteinene VS-P1 ved Forskningstiftelsen ved Universitetet i Tromsø (FORUT).

4. Normal, frisk oppdrettslaks under et års vekstperiode i sjøen kunne karakteriseres ved følgende blodverdier: Hematologi. RBC: 0.85 - 1.15 * 10¹²/L; Hb: 9.0 - 11.0 g/100 mL; Hct: 44 - 50 %; Lct: 0.3 - 1.0 %; MCV (middel celle volum): 400 - 550 * 10⁻¹⁵L; MCH (middel celle hemoglobin): 95 - 110 * 10⁻⁶g; MCHC (middel celle hemoglobin konsentrasjon): 20.0 - 22.0 g/100 mL. Serum: total protein: 40 - 55 g/L; albumin: 18 - 24 g/L; albumin/protein: 0.39 - 0.44; kreatinin: 20 - 50 mmol/L; triglycerider: 2.0 - 4.0 mmol/L; kolesterol 8.0 - 13.0 mmol/L;

AP: 600 - 1200 U/L; ASAT: 200 - 400 U/L; ALAT: 2 - 8 U/L. Andre analyser i serum fra kontrollgruppen (mær 0) viste følgende verdier: selen: 0.17 - 0.25 mg/L; sink: 17 - 32 mg/L; kobber: 0.9 - 1.5 mg/L; jern 0.6 - 2.1 mg/L og vitamin E 60 mg/L.

5. Et for med en høy energiandel fra fett (48 %) medførte ikke negative utslag på fiskens helse, mens et for med lav energiandel fra fett (25 %) ikke bedret laksens helsetilstand i dette forsøket. Hverken tørrfor eller for sammensatt av ensilasje, inndampet ensilasje og proteinkonsentrat influerte på de analyserte parametrene for fiskens fysiologiske tilstand som ble benyttet.
6. Laks på et for med høyere omsettelig energi enn 38% fra fett deponerte ikke overskuddsfettet i fileten men derimot som innvolls fett. Laksefilet inneholder ca. 13% fett (våttvekt) med omlag 20% polyumettede fettsyrer (w3 serien). Disse fettsyrene antas å ha en positiv helsemessig effekt hos mennesker.
7. Ekstra tilskudd over de normale fortilsetninger av methionin, selen, vitamin E, selen/vitamin E og vitamin C påvirket ikke hematologiske og kliniske analyseparametre som gir informasjon om fiskehelsen. Tilskuddene ga forhøyete verdier av de tilsatte komponentene i fiskens organer.
8. Da fisken i februar 1985 ikke hadde tegn til Hitra-syke ble 20 fisk fra hver mær merket, dyppinfisert med bakterier isolert fra Hitra-syk laks og ført tilbake til mæren. Dette arbeidet ble gjennomført i samarbeid med Veterinærinstituttet som også framskaffet bakteriekulturen. Det ble tatt blodprøver av merket fisk ved infeksjonen, etter 1 uke og etter 3 uker.
9. Det oppstod ikke naturlig utbrudd av Hitra-syke i anlegget i forsøksperioden. Heller ikke direkte infisering ga massiv dødelighet selv om det ble påvist Hitra-syk laks i anlegget av samtlige samarbeidende forskningsinstitusjoner (FEI, NVI og FORUT). Den relative dødelighet mellom gruppene viste ingen sammenheng med de tidligere omtalte helseparametre.

10. Hitra-syk laks kunne karakteriseres ved sterkt nedsatte verdier for de hematologiske parametrene RBC, Hb og Hct, og dette viser at fisken er i en anemisk tilstand.
11. Nivået av serumparametrene total protein, albumin, kreatinin, triglycider og kolesterol viste en nedgang hos Hitra-syk laks parallellt med de hematologiske parametrene angitt i pkt.10 Enzymaktivitetene for ASAT og ALAT varierte avhengig av sykdomsforløpet. AP fulgte mønsteret til de hematologiske analysene. Det spesifikke bakterieproteinet VS-P1 ble påvist i serum fra fisk som ble definert som Hitra-syk ut fra adferd, men ikke i prøvene tatt på et tidligere stadium fra de samme fiskene som ut fra blodanalyser viste en begynnende sykdomsutvikling.
12. Levervekten hos laks med Hitra-syke var høyere enn hos frisk fisk. Organet hadde høyere vanninnhold og høyere fettandel i tørrstoff i syk fisk enn i frisk, men kunne ikke karakteriseres som fettlever. Leverens totale innhold av selen var likt hos syk og frisk fisk; selenmengde per kg protein i lever var også uforandret. Tilsvarende ble funnet for kopper, sink og jern.
13. Milten hos Hitra-syk laks var klart forstørret. Samtidig var konsentrasjonen av jern per vektenhet det dobbelte av den normale verdien fra den syke fisken. Dette medfører at det totale jerninnholdet i milt fra Hitra-syk laks kan bli seks ganger høyere enn det som er normalt.
14. Nivået av de forgreinede aminosyrene valin, isoleucin og leucin i muskelektakt var klart forhøyet hos syk fisk, mens nivået av serin var sterkt redusert.

15. En samlet vurdering av Hitra-sykens utvikling basert på analyser av syk fisk i foringsforsøket og fra et kommersielt anlegg gir grunnlag for følgende hypotese:

- a) Sykdommen initieres
- b) Membranskade (indikert av enzymologiske funn).
- c) Hemolyse ikke påvist. Eventuelle skadde røde blodceller fjernes effektivt fra sirkulasjonen av milten som øker i størrelse og jerninnhold.
- d) Vevskaden utvikles med påfølgende lekkasje fra karsystemet (indikert av reduksjon av parametrene i fullblod og serum. Begynnende ascites)
- e) Fisken prøver å kompensere tap av røde blodceller ved hjelp av nysyntese (indikert av MCV)
- f) Membranskadene øker i omfang og omfatter flere organer. Bakterier påvises. (indikert av forgreinede aminosyrer i muskelektstrakt og av enzymaktivitet i serum. VS-P1 kan påvises i serum)
- g) Adferdsforstyrrelser oppstår og fisken dør.

Fra det samlede materialet synes det rimelig å påpeke to muligheter for initiering av Hitra-syke hos laks:

- I) Ukjente faktorer medfører membranskader som gjør fisken mindre motstandsdyktig mot bakterieinfeksjoner blant annet fra *Vibrio salmonicida*.
- II) Fisken blir infisert av *Vibrio salmonicida* som resulterer i membranskader.

Vi anser det siste alternativet for å være mest sannsynlig, selv om bakterien ikke ble påvist i de tidlige stadiene av sykdomsutviklingen i dette forsøket.

16. "Bjugn-prosjektet" omfattet også målinger av vekst og forutnyttelse på de ulike fortypene og tilsetningene.

Følgende resultater ble funnet:

GRUPPE	SLUTTVEKT KG	FORFORBRUK KG	FORFAKTOR (TØRRSTOFF)	PER	PPV
0	4.5	7.5	2.5 (1.6)	1.5	0.23
1	3.8	6.3	2.7 (1.9)	1.3	0.18
2	4.6	5.7	1.8 (1.7)	1.5	0.20
3	3.3	4.4	2.4 (1.8)	1.2	0.18
4	4.2	5.4	1.9 (1.6)	1.6	0.22
5	4.1	5.9	2.3 (1.4)	1.6	0.24
6	3.9	6.1	2.5 (1.5)	1.5	0.23
7	4.0	6.0	2.5 (1.5)	1.6	0.25
8	3.6	5.3	2.5 (1.6)	1.5	0.21
9	3.9	5.9	2.5 (1.6)	1.5	0.22

ABSTRACT AND CONCLUSIONS

1. Project "Bjugn" aimed at elucidating the influence of nutrients on the outbreak of cold-water vibriosis ("Hitra-disease").
The feeding experiment was initiated with Atlantic salmon (1.4 kg mean weight) in 10 net pens in the sea in September 1984, and was terminated in May 1985. The fish was sampled 8 times during the experimental period. Each sampling consisted of 20 fish per group for analyses, and further 10 fish to strengthen data on bodyweights and -lengths. In addition, further samples of healthy and "Hitra" diseased salmon were obtained from a commercial fish farm.

2. The following feeds and feed additions were given;
 - Group 0 A standard moist pellet based on fish silage and pellet meal with 44 % of available energy from protein and 35% from fat.
 - Group 1 A feed based on evaporated fish silage from Bjugn Industries A/S.
 - Group 2 A commercial dry feed: "Tess-Edelfor" (Skretting).
 - Group 3 A moist feed containing evaporated silage, protein concentrate and pellet meal. Available energy from protein was 52% and from fat 25%.
 - Group 4 Evaporated silage, capelin oil and pellet meal with 36% available energy from protein and 48% from fat.
 - Group 5 Standard moist pellet (as group 0) with a 50% increase of the amino acid methionin.
 - Group 6 As group 0 with 30% increase of vitamin E and a fourfold increase of the content of selenium.
 - Group 7 As group 0 with a 30% increase of vitamin E.
 - Group 8 As group 0 with a fourfold increase of the content of selenium.
 - Group 9 As group 0 with an extra addition of 3000 mg of vitamin C per kg feed.

3. The following analyses were carried out:

Blood-samples: Hematology: Red blood cell count (RBC), haemoglobin (Hb), haematocrit (Hct) and leucocrit (Lct).

Serum: Alkaline phosphatase (AP), aspartate aminotransferase (ASAT), alanine aminotransferase (ALAT), total protein, albumin, creatinine, triglycerides, cholesterol, iron, copper, zinc, selenium, vitamin E, amino acids and glutathion peroxidase (GtPh).

Liver: Dry weight, protein, fat, ash, iron, copper, zinc, selenium, vitamin E, vitamin C and fatty acids.

Whole fish: dry weight, protein, fat and ash.

Fillet: dry weight, protein, fat, ash, amino acids and fatty acids.

Feeds: dry weight, protein, fat, ash, iron, copper, zinc, selenium, vitamin E, vitamin C, methionin and fatty acids.

Weights were recorded for whole fish, liver, spleen and to some extent hearts. Samples of muscle and liver were examined histologically at the National Veterinary Institute. A set of sera were analysed for the specific *Vibrio salmonicida* bacterial protein VS-P1 at FORUT in Tromsø.

4. Normal, healthy Atlantic salmon kept in sea pens during one year's growth period showed the following blood values:

Haematology. RBC: 0.85 - 1.15 * 10¹²/L; Hb: 9.0 - 11.0 g/100 mL; Hct: 44 - 50 %; Lct: 0.3 - 1.0 %; MCV (middle cell volume): 400 - 550 * 10⁻¹⁵L; MCH (middle cell haemoglobin): 95 - 110 * 10⁻⁶g; MCHC (middle cell haemoglobin concentration): 20.0 - 22.0 g/100 mL. Serum: total protein: 40 - 55 g/L; albumin: 18 - 24 g/L; albumin/protein: 0.39 - 0.44; creatinine: 20 - 50 mmol/L; triglycerides: 2.0 - 4.0 mmol/L; cholesterol 8.0 - 13.0 mmol/L; AP: 600 - 1200 U/L; ASAT: 200 - 400 U/L; ALAT: 2 - 8

U/L, selenium: 0.17 - 0.25 mg/L; zinc: 17 - 32 mg/L; copper: 0.9 - 1.5 mg/L; iron 0.6 - 2.1 mg/L and vitamin E 60 mg/L.

5. A feed with a high energy content from fat (48%) gave no negative effects on the health of the fish, while a feed with a low energy content from fat (25%) did not improve fish health in this experiment. Neither a dry pellet feed nor a mixed moist feed containing silage, evaporated silage and protein concentrate influenced the analytical parameters recorded.
6. Salmon given a feed with more than 38% of available energy from fat did not deposit surplus fat in the fillet, but as visceral fat. Salmon fillet contained ca. 13% of fat (wet weight) having about 20% polyenoic w-3 fatty acids. These fatty acids are supposed to have a positive effect on human health.
7. Extra additions above normal feed contents of methionine, selenium, vitamin E, selenium/vitamin E or vitamin C did not influence the haematological and clinical analytical parameters. The additions gave increased levels of the added components in the fish organs.
8. In February 1985, when the fish showed no signs of "Hitra-disease", 20 fish from each group were marked, dip-infected with bacteria isolated from "Hitra" diseased fish and returned to the sea pen. This experiment was done in cooperation with the National Veterinary Institute, from which also the bacteria culture was obtained. Bloodsamples were taken from the marked fish at infection, after one week, and after three weeks.
9. There was no natural outbreak of "Hitra-disease" (cold water vibriosis) during the experimental period. The infected fish did not bring about substantial mortality, even if "Hitra" disease was found to be present by the cooperating institutions. The relative mortality between the groups showed no correlation with the health parameters mentioned above.

10. "Hitra"-diseased salmon were characterized with strongly reduced values for the haematological parameters RBC, Hb, and Hct, showing that the fish were anaemic.
11. Similarly, the levels of the serum parameters total protein, albumin, creatinine, triglycerides and cholesterol were reduced in "Hitra"-diseased salmon. The enzyme activities for ASAT and ALAT varied depending on the stage of the disease. AP followed the trend for the haematological parameters. The specific bacterial protein VS-P1 was found in sera from fish defined as "Hitra-diseased" according to behaviour, but was not found in samples from the same fish taken at an earlier stage when the blood values deviated from normal ranges.
12. The liver weights in salmon with cold water vibriosis were higher than in healthy fish. The water contents and fat content (dry weight basis) were higher in diseased than in healthy fish, but the livers could not be characterized as fatty livers. The total contents of selenium in the livers were the same in diseased and healthy fish, also the concentrations of selenium per kg liver protein were unaffected. Similar results were found for copper, zink and iron.
13. "Hitra"-diseased salmon had clearly enlarged spleens. Further, the iron concentration per unit weight was twice the normal value in the diseased fish. Total iron contents in the spleen of "Hitra"-diseased salmon up to six times the normal value were recorded.
14. In muscle extracts the levels of the branched chain amino acids valine, isoleucine and leucine were clearly increased in diseased fish, whereas the level of serine was strongly reduced.

15. A combined evaluation of the development of "Hitra" disease based on analyses of diseased fish in the feeding experiment and from a commercial farm, gives the following hypothesis:

- a) Initiation of the disease.
- b) Membrane damage (indicated by enzymological findings).
- c) Haemolysis not yet indicated. Any damaged red blood cells are removed effectively from the circulation by the spleen which increases in size and content of iron.
- d) Tissue damage is developed with consecutive leakage from the circulatory system (indicated by haematological and clinical parametres). Ascites may be seen.
- e) The loss of blood cells is partly compensated by *de novo* synthesis (indicated by MCV).
- f) Increasing membrane damage including several organs. Bacteria are found (Indications: branched chain amino acids found in muscle extract, changes in serum enzyme activity. VS-P1 found in serum).
- g) Behavioral disturbances are seen and fish die.

From the collected material it seems reasonable to point at two possibilities for initiating "Hitra"-disease in salmon:

- I. Unknown factors cause membrane damage, resulting in reduced resistance of the fish against bacterial infection, including *Vibrio salmonicida*.
- II. The fish is infected by *Vibrio salmonicida* resulting in membrane damage.

We find the last alternative most probable, even though the bacteria could not be found in the early stages of development in this experiment.

16. Project "Bjugn" further include measurements of growth and feed consumptions of the different feeds and additions.

The following results were found:

GROUP	FINAL WEIGHT KG	FEED CONSUMPT. KG	FEED/W.GAIN (DRY WEIGHT)	PER	PPV
0	4.5	7.5	2.5 (1.6)	1.5	0.23
1	3.8	6.3	2.7 (1.9)	1.3	0.18
2	4.6	5.7	1.8 (1.7)	1.5	0.20
3	3.3	4.4	2.4 (1.8)	1.2	0.18
4	4.2	5.4	1.9 (1.6)	1.6	0.22
5	4.1	5.9	2.3 (1.4)	1.6	0.24
6	3.9	6.1	2.5 (1.5)	1.5	0.23
7	4.0	6.0	2.5 (1.5)	1.6	0.25
8	3.6	5.3	2.5 (1.6)	1.5	0.21
9	3.9	5.9	2.5 (1.6)	1.5	0.22