



Melanin

resultater og utfordringer

Turid Mørkøre

HVA ER MELANIN?

- Pigmenter som finnes i fleste dyr og planter
- Kraftig antioksidant
- Gir mørk farge
- Naturlig del av laksens immunsystem

• UØNSKET I LAKSEFILET



FISKERI- OG HAVBRUKSNÆRINGENS
FORSKNINGSFOND



Veterinærinstituttet
National Veterinary Institute



marineharvest



Mørke flekker i laksefilet 2012-2015

-Årsaker til forekomst og forebyggende tiltak

Prosjektbeskrivelse

Sammendrag:

Det overordnede målet er å forhindre dannelse av mørke flekker i laksefilet. I dette ligger en søken etter årsaker til at flekkene oppstår for at kunne anbefale tiltak som kan bidra til å løse problemet. Aktivitetene i prosjektet er delt i fire arbeidspakker (AP): ¹Kartlegging, ²Vaksine og helse, ³Fôr og ⁴Sortering og skade. Det vil være et nært samarbeid mellom AP1-4, som vil gå parallelt i perioden 2012 og ut 2014.

Går til:

Fiskeri og havbruksnæringens
forskningsfond

Rutinemessig kartlegging av forekomst av mørke filetflekker utføres av kvalitetskontrollører ved filetanlegg med geografisk spredning. Registreringene danner grunnlag for etterrettelig statistikk samt dybdeanalyse for å avdekke årsakssammenhenger. To basispopulasjoner med PIT-tag merket uvaksinert og vaksinert (ulike regimer) laks produseres: nullårsmolt (BP0+) og ettårsmolt (BP1+). Etter vaksineringsundersøkes laksen jevnlig for mørke filetpigmenter frem til slakt. Produksjonsparametere, morfometri og blod analyseres også. Mørke filetflekker undersøkes ved avbildende spektroskopi, foto, histologi, sammensetning og genuttrykk. Øvrige kvalitetsegenskaper undersøkes av utvalgt fisk. BP0+ vil i en 3 måneders periode for slakt få et slutfôr med og uten forhøyet sink, vitamin E eller fôrtoksiner (ulike vaksinereregimer blandet i merder). BP1+ vil undersøkes mht effekt av lavt sinknivå frem til vaksinerings samt fra sjøtsett til slakt. I



Prosjektet

Registrering & statistikk

Vaksine & helse

«BLACK SPOT»

Fôr & fôring

Stress & skade

Melanin i bukvegg

- Registrert før vaksinerings

Melanin i organer

- Registrert etter vaksinerings

Melanin i filet

- Registrert i sjø
- *1/2 kg 5%, 1 kg 10%, men veldig små flekker*

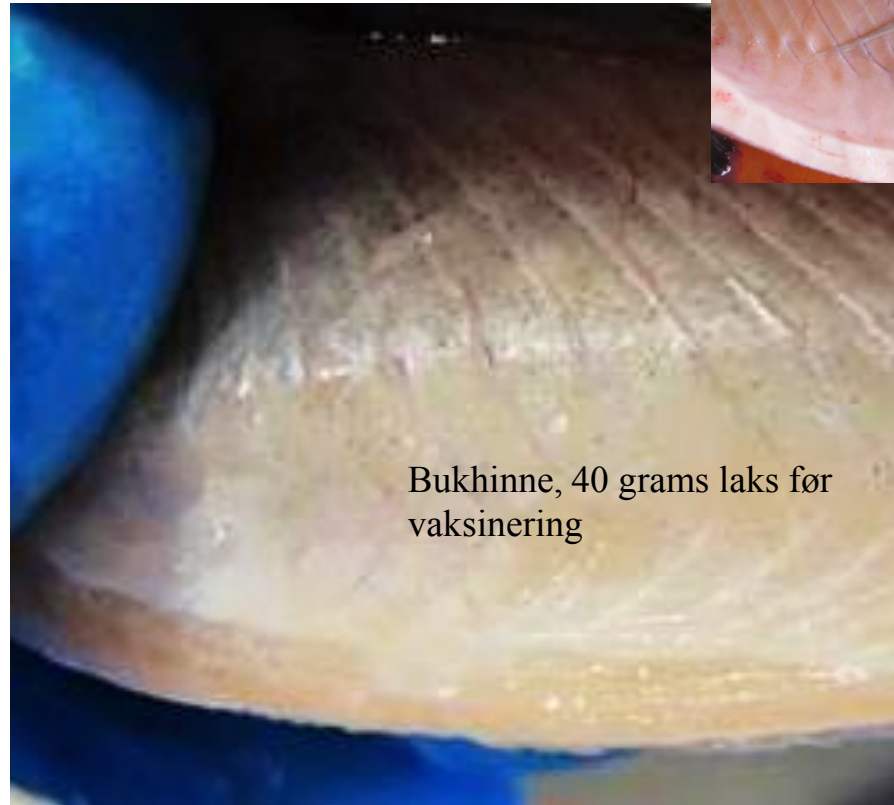


Ettåring, fulgt fra yngel til slakt

Melanin i bukvegg forekommer i liten fisk før vaksinerings

Stress kan øke mørkpigmentering av bukhinnen

- Underfôring
- Trenging



Bukhinne, 40 grams laks før vaksinerings

Ettårring, fulgt fra yngel til slakt

Melanin i filet

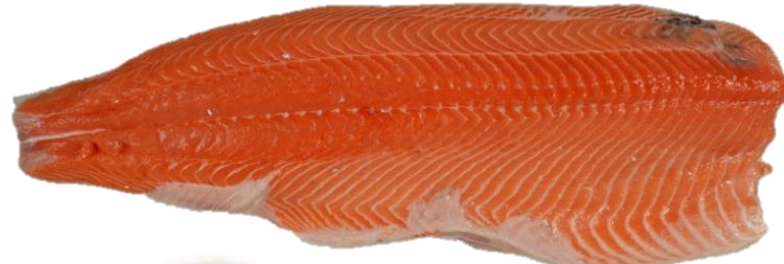
- $\frac{1}{2}$ kg 5%, 1 kg 10%, men veldig små flekker
- Flekker i både vaksinert og uvaksinert laks



Disse
filetene er
av 1,5kilos
laks



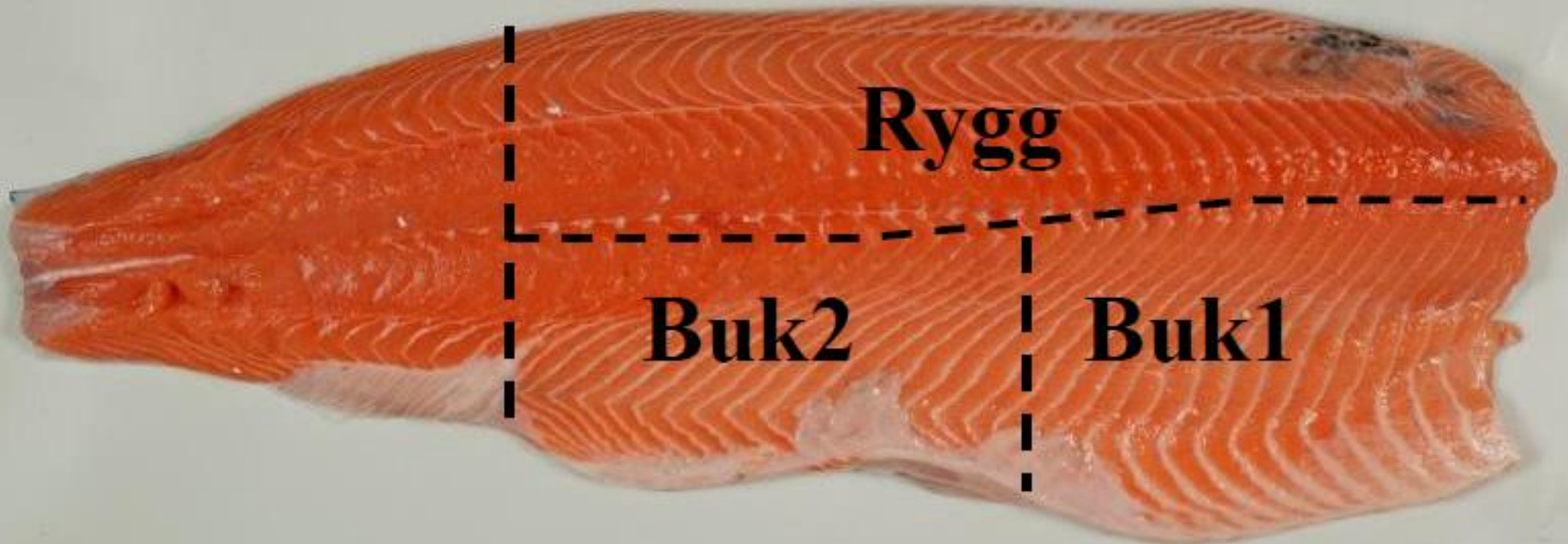
Mørk- pigmentering





Ekstreme tilfeller

Registreringer




MELANINREGISTRERING revidert 062014.xlsx - Microsoft Excel

Fil | Hjem | Sett inn | Sideoppsett | Formler | Data | Se gjennom | Visning | Acrobat

Fra Access | Fra webområde | Fra tekst | Fra andre kilder | Eksisterende tilkoblinger | Oppdater alt | Tilkoblinger | Egenskaper | Rediger koblinger | Tilkoblinger | Sorter og filter | Avansert | Tekst til kolonner | Fjern duplikater | Dataverktøy | Konsolider | Hva-skjer-hvis-analyse | Grupper | Del opp gruppe

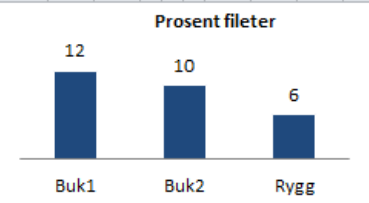
M101

FLEKKER (poeng)			
Ingen misfarging	0	Flekk 3 - 6cm	4
Diffus flekk, alle størrelser	1	Område større enn 6cm	8
Flekk mindre enn 3cm	2	Gjennomsnitt	0.50



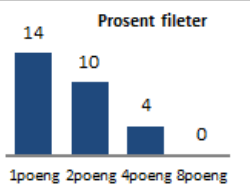
FLEKK (poeng)					
	1	2	4	8	Totalt %
Buk1	5	4	3	0	12
Buk2	6	4	0	0	10
Rygg	3	2	1	0	6
Total	14	10	4	0	

Prosent fileter



Antall (%) fileter med flekk(er) **25**

Prosent fileter



1poeng 2poeng 4poeng 8poeng

FLEKKER I FILET (poeng)
flere flekker i samme område summeres

Filet	Total poeng	Buk 1	Buk 2	Rygg
1	1	1	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	1	1	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	1	1	0	0
9	0	0	0	0
10	1	0	1	0
11	0	0	0	0
12	1	1	0	0
13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0

Frivillige registreringer

Utført: JA NEI

Blek, 0/1 (se fanen "Forklaring")

Gaping, 0/1 (se fanen "Forklaring")

Kommentarer

F. eks. om det er fisk med flere flekker innenfor samme område eller avvik for partiet (bløt filet, brus, deformiteter e.l.)

SPØRSMÅL SOM BESVARES FOR HVER GRUPPE FISK SOM BEDØMMES
Sett gjerne ? der informasjon mangler

Prosessanlegg navn/nr:		Kvalitetsklasse:	
Navn på bedømmer:		Superior	<input type="checkbox"/>
Lokalitetsnr (navn):		Ordinær	<input type="checkbox"/>
Dato ved slakt:		Produksjon	<input type="checkbox"/>
Dato ved måling:			
Vektklasse:			

TILLEGGSINFORMASJON

Smolt

Leverandør: _____

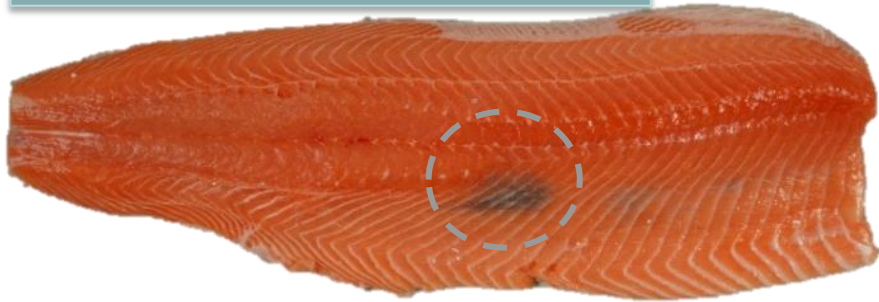
Utsett måned: _____ år: _____ Stamme: _____

Klar

Flekker

Statistikk

Mere vanlig i Sør/Midt-Norge



Mest vanlig
(70% av alle flekker)



I 93% av tilfellene sitter flekken i ribbeinsområdet, 2-4cm nedenfor ryggbeinet

Spot 86%
Diffus 6%
Annet 8%

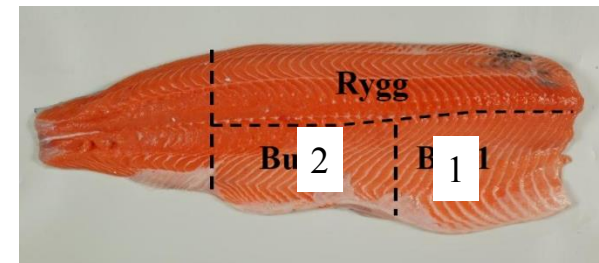


Mest
problematisk

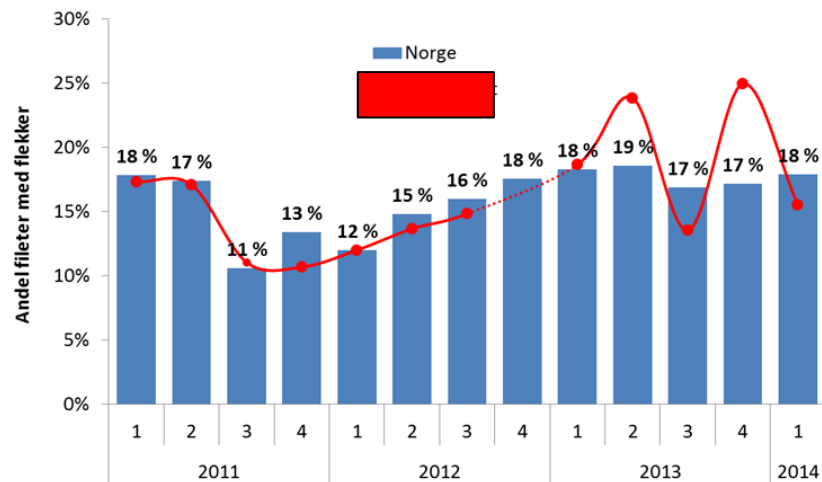
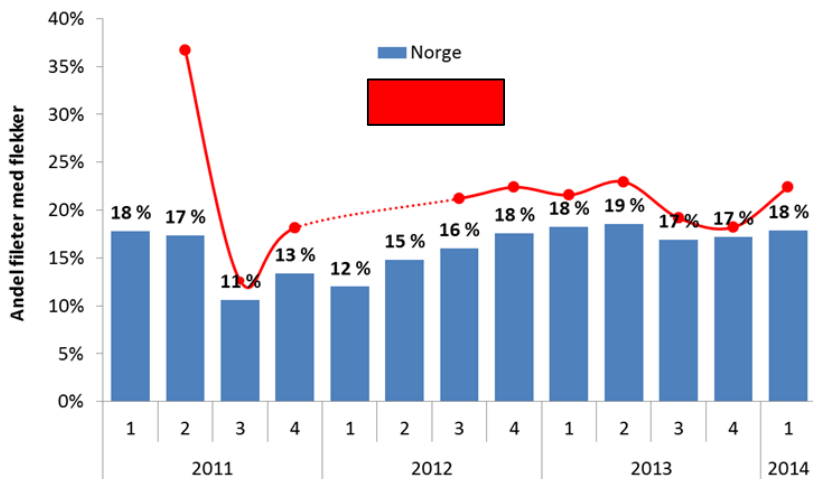
Mørke flekker - utvikling

Registreringer

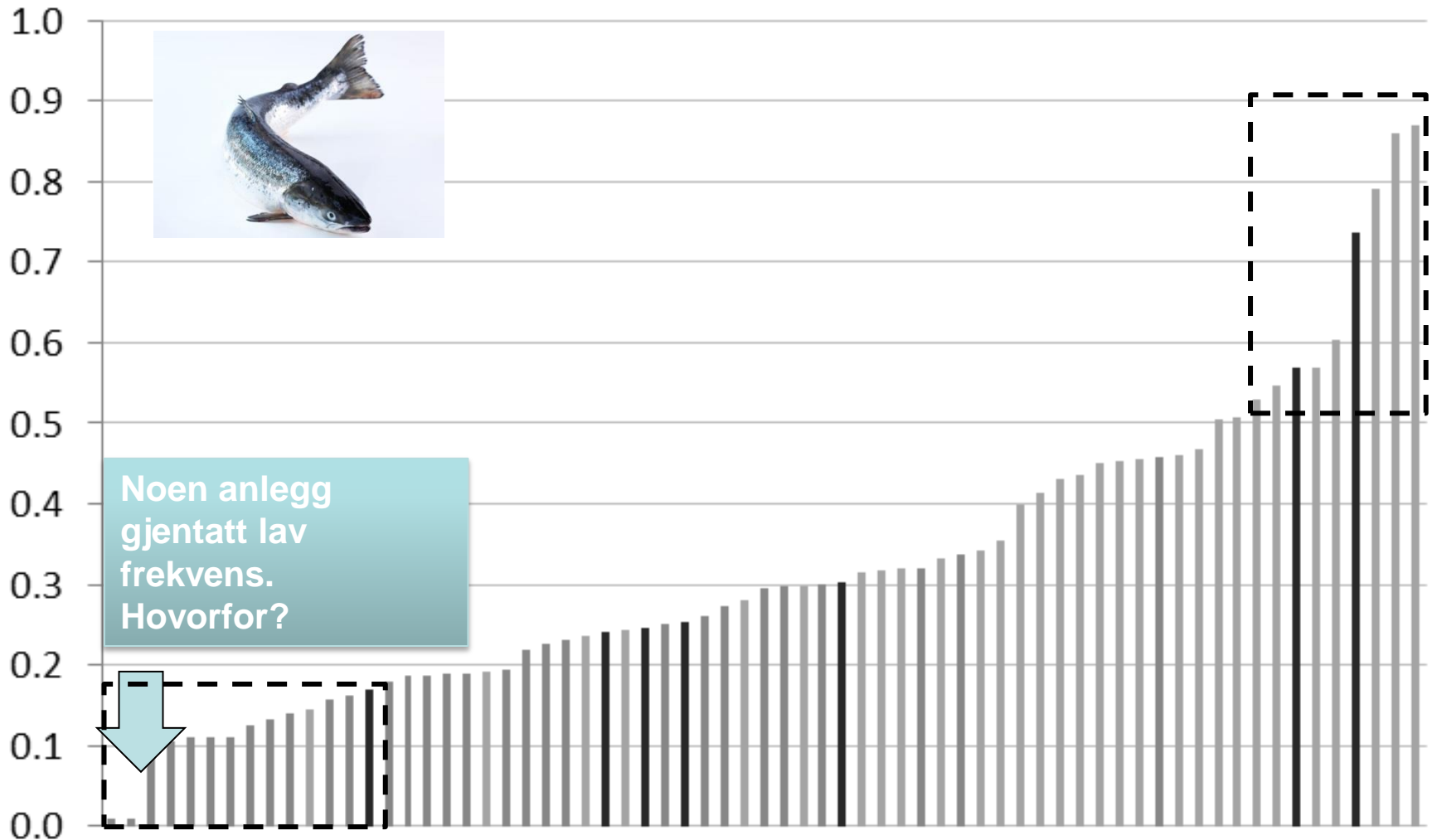
	Frekvens	Buk	Rygg	Antall reg.
2011	13.4%	12.6%	0.8%	35.000
2012	16.1%	15.3%	0.8%	25.000
2013	17%	16.1%	1.8%	40.000
2014	18%			



Kvartalsrapporter



Sjøanlegg



Noen anlegg
gjentatt lav
frekvens.
Hvorfor?

All bakgrunnsinformasjon er anonymisert

Klemskader, 1 kg laks

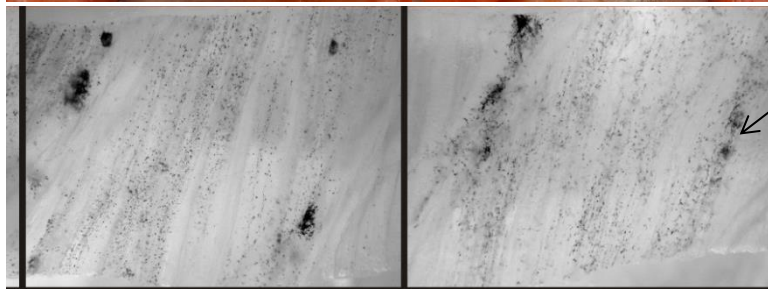
- Kan gi blødninger i muskel
- Melanin synlig etter 3 mnd
- Borte etter 6 mnd

- Ytre slag- og trykkskader kan gi blødninger i kjernemuskulatur

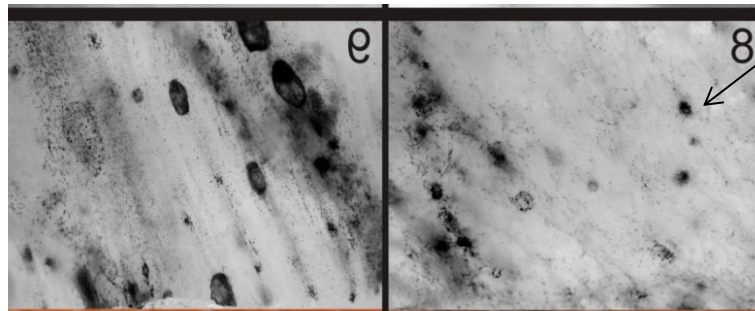
Flekker i filet, generelt



- Flekker i bukveggen forårsakes av lokal betennelse i muskelen, som regel under bukhinnen
- Vevsendringene utvikles over lang tid (kronisk)
- Flekkene sitter i ribbeinsområdet, oftest 2-4 cm nedenfor ryggraden
- Utenfor flekkområdet har fileten normal sammensetning, farge og tekstur



Melanin





1750



862

ARR

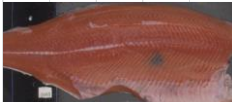







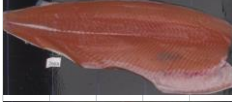
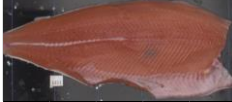




504



1097

ARR

	Akutt betennelse	Kronisk betennelse	Fibrøs	Granulom	Muskel degenerasjon	Muskel regenerasjon	Melanin	Akutt betennelse	Kronisk betennelse	Fibrøs	Granulom	Muskel degenerasjon	Muskel regenerasjon	Melanin
	0	0	0	0	1 (sparsom)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	Mulig	Mulig	Mulig	0	Mulig	Mulig	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	1	1	Mulig	Mulig	Mulig	1	0	0	0	0	1	0	0
	0	1	1	Mulig	1	Mulig	1	na	na	na	na	na	na	na
	0	1	1	0	1	mulig	1	na	na	na	na	na	na	na
	0	1	1	1	1	mulig	1	na	na	na	na	na	na	na
	0	1	1	1	1	mulig	1	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	1	1	mulig	1	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0

Microarray vist:
Samme profil, uavhengig av makro og mikroskopisk vurdering

Problemet har utviklet seg over lang tid

Apoptose

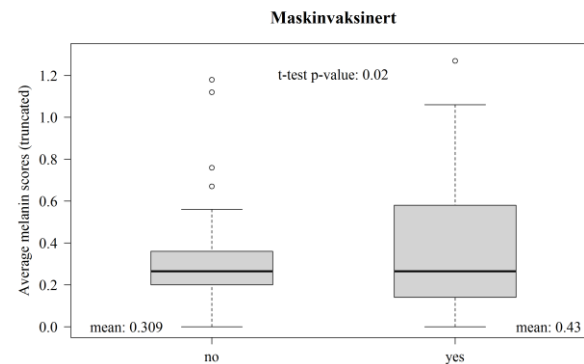
400 immungener oppregulert.
Sterk oppregulering av T celle og B celle

Fluks av udiff lymfocytter
Nedsatt/ ingen sirkulasjon i vevet
- Autoimmunreaksjon, dvs at kroppens immunsystem feilaktig angriper friske celler?



Responsen på betennelsen i vevet påvirkes av

- Vaksinetype
- Vaksinerings
- Fôr
- Oppdrettsvilkår



Men hva er primæårsaken?

Andre karakteristika

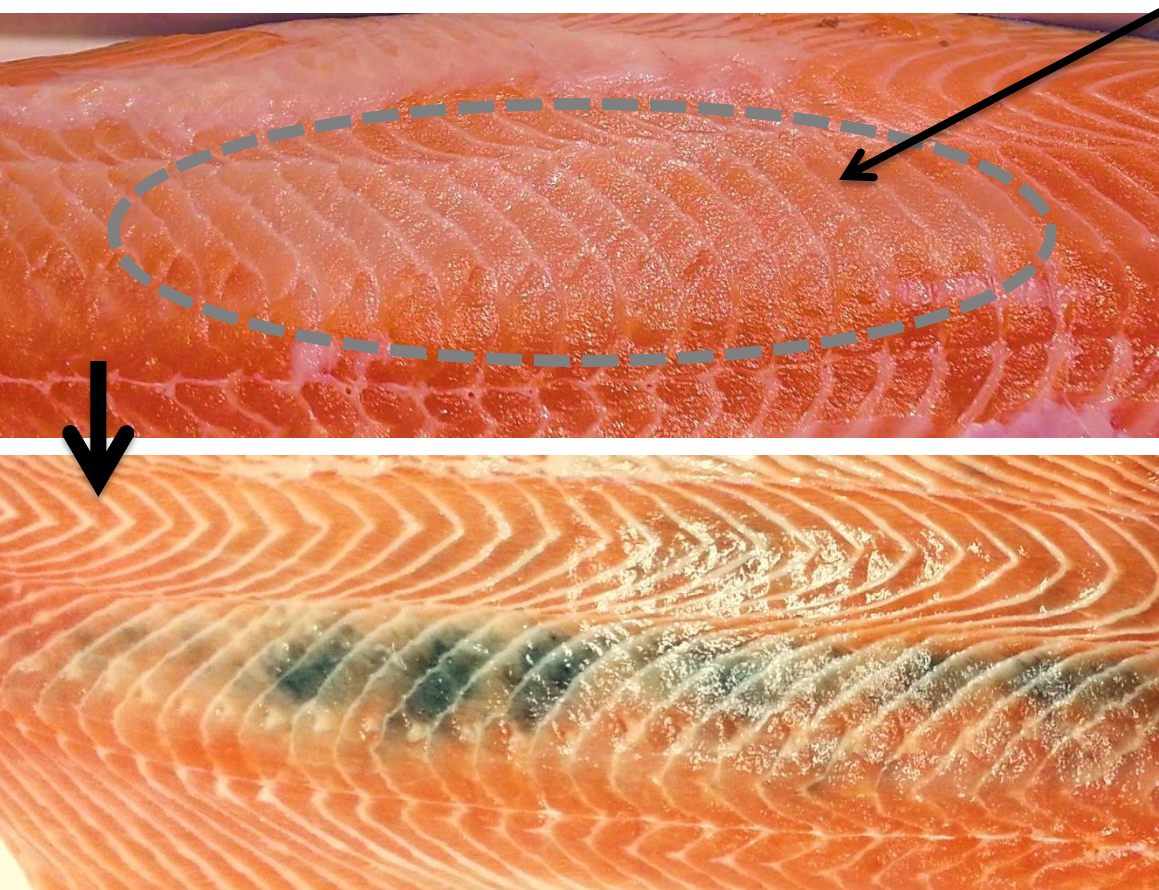
Høyere nivå i vev fra mørk flekk ($P < 0.05$)

- Zn, P, Se, K, Mg, Fe
- pH
- bindevev
- Hard muskel

- Ingen «farlige» komponenter funnet
- Ikke forskjell mellom høyre og venstre side

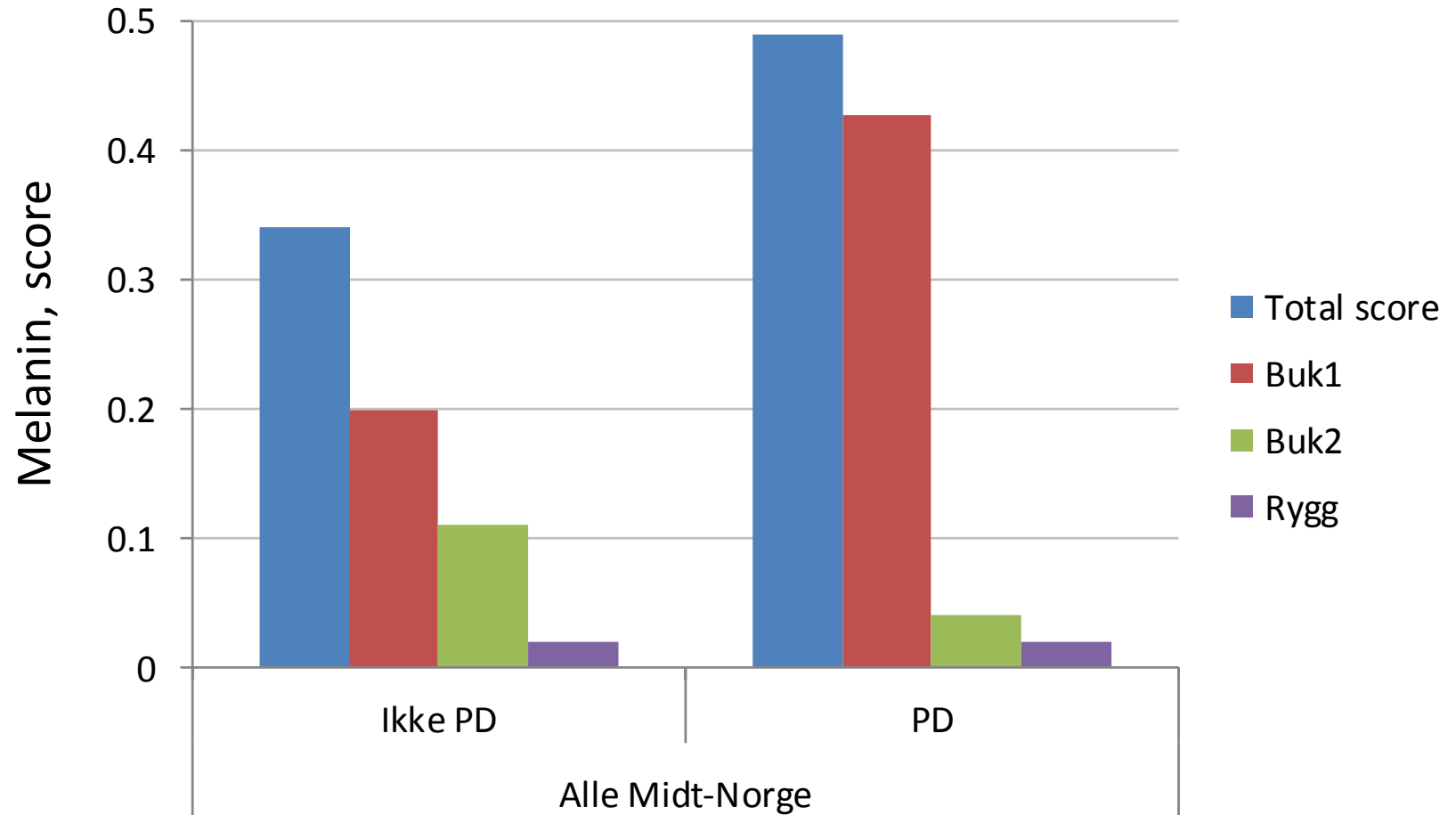


Inflammatory condition, dorsal muscle
- no pathogens detected



**Økt frekvens observert ved brå temperaturøkning i sjø, stress/
trenging i forbindelse med slakting av laks med avfarget muskel**
Observerer tilsvarende tilstand etter PD utbrudd

Økt forekomst etter PD utbrudd Andre sykdommer?

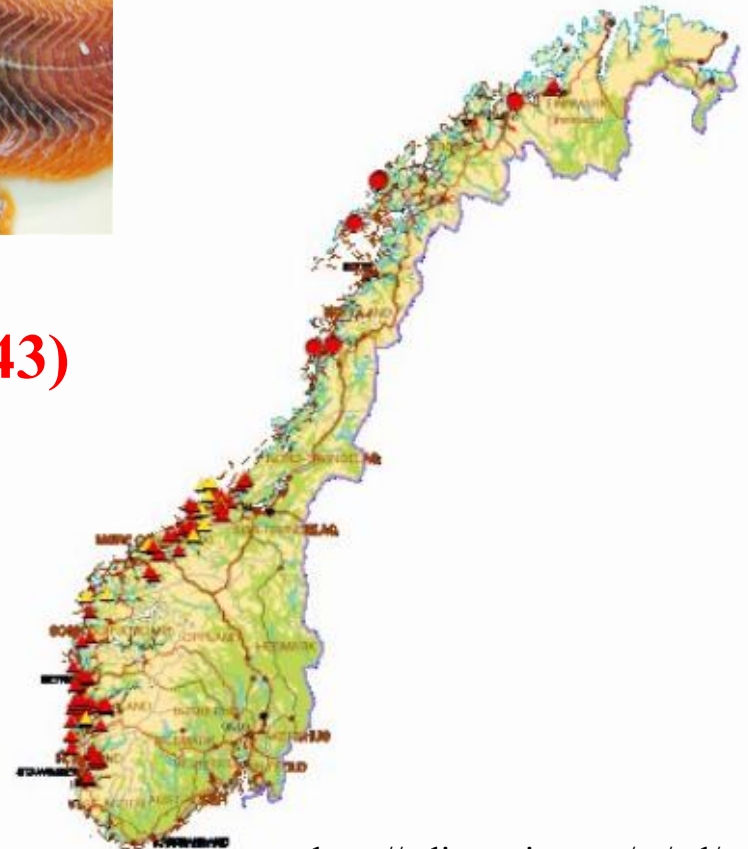


Melanin under skinnet - en utfordring



2011
2012

89 (8 tilfeller SAV 2)
113 (SAV3 96, **SAV2 43**)



AVL & GENETIKK, indikasjoner

Arvelig komponent inne i bildet

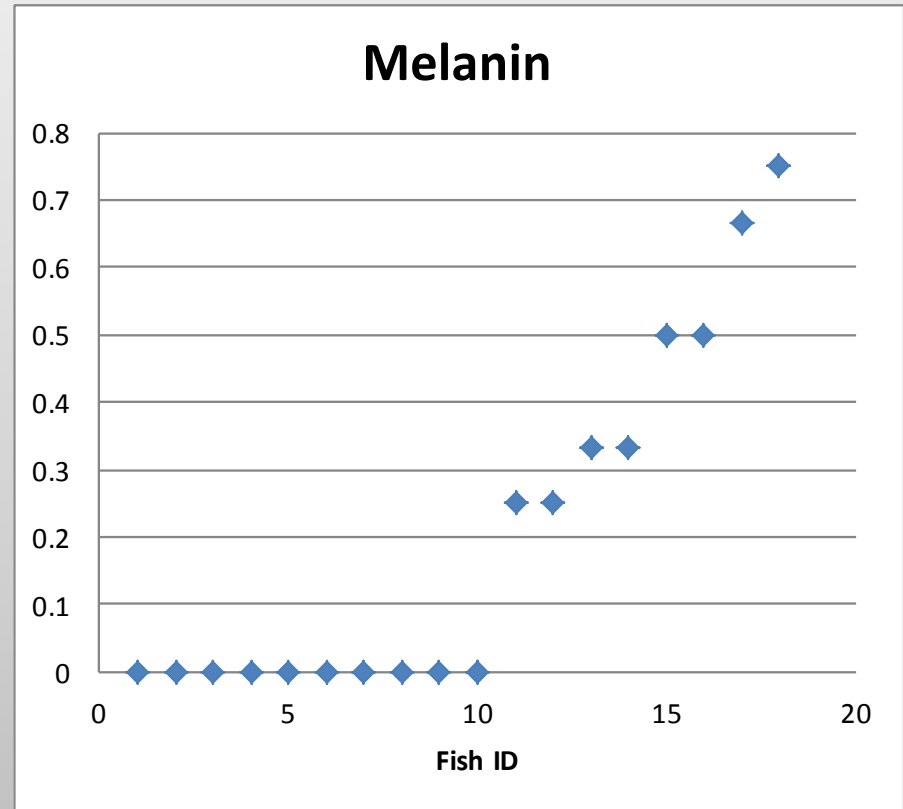
Familier med høy IPN overlevelse har mer melanin i filet

Ny studie, august 2014

Undersøkte ca 2000 laks
fra 100 familier i august (SB)

Resultatene er under
prosessering

Fiskematerialet er tilstrekkelig
stort til å kunne avsløre
arvelighet



norsk fiskeoppdrett

nr. 8 | august 2014 | Årgang 39

www.kyst.no



Hver tredje brønnbåt må ut av
tjeneste, side 25

Snart klar: Pillen som kan spore og drepe laks, s. 20
Grønne konsesjoner gav 1 milliard kroner i statskassa, s. 24
«Kinahatt» eller «Muffin»? Sintef ser på duk-design for
badebehandling, s. 44



» Til slutt er det et stort spørsmål om det er mulig å kontrollere om fisk er blitt behandlet. De vil gjennomgå
med hjelp av data om de i dag for en Olavsen, Røed og Gjøster. Erik Blomhø, side 7

Tiltak

All håndtering bør være så skånsom som mulig

Stress kan øke sannsynligheten for deponering av melanin i ryggmuskel i fisk som ikke slaktes rett etter håndtering

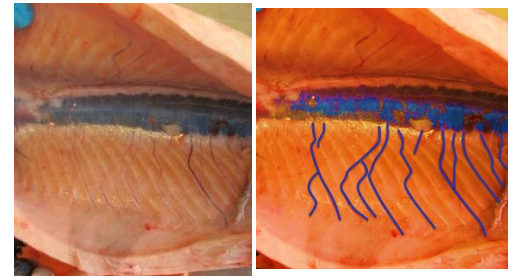
Har så langt ikke sett sammenheng mellom håndteringsstress og flekker i bukpartiet av fileten hos stor fisk, men liten fisk.

Tiltak

- Begrense stikkskader ved vaksinerings
- PD
- Ikke presse nullårringen – skånsomt temperaturregime



Utfordringer



- **Hvorfor** oppstår den lokale betennelsen?
 - Mer kunnskap om anatomien og fysiologien
- I praktisk oppdrett varierer mange faktorer samtidig
 - Fiskematerialet, fôr, miljøforhold, helsetilstand.
Nyttig å kombinere overvåking av praktisk oppdrett med forsøk under kontrollerte betingelser

FAQ, frequently asked questions (www.fhf.no)

Updated December 2013

MELANIN DEPOSITION IN SALMON FILLETS

Frequently asked questions

Dark discoloration of salmon fillets is mainly due to the deposition of melanin pigments. The discoloration may have different manifestations, from localized spots to more diffuse and widespread melanisation on the fillet side or under the skin/subcutaneously. Dark stained fillets cannot be sold as high quality products and therefore represent a significant economic problem for the salmon farming and processing industry



What is melanin?

- Melanin is a group of natural pigments found in most plants and animals
- Melanin is a powerful natural antioxidant
- In humans, melanin (eupigment) is the primary determinant of skin colour

What causes melanin deposition in salmon fillets?

- Melanin pigments are deposited as a response to tissue damage or local inflammatory conditions
- Melanin deposition is a natural part of a fish's immune system
- Dark discoloration of salmon fillets is mainly due to melanin deposition, but dark spots can also contain blood pigments and scar tissue or a combination of melanin, blood and scar tissue.
- The causality is complex, and not related to one single cause.

Is it safe to consume fillets with melanin deposits

- Melanin is a safe and natural antioxidant
- Melanin can be used as a natural antioxidant in the food, cosmetic and pharmaceutical industries
- Dark pigments in various foods, such as oysters, are edible.

The information given in the FAQ is derived by the partners in the FHF project

"Dark spots in salmon fillets: Causes and preventive measures"

For further information, please contact:

Tunja Markare e-mail tunja.markare@nofima.no or Kristian Gjuge e-mail kristian.gjuge@tvf.no

Updated December 2013

Occurrence of melanin spots in salmon fillets

- Approximately 12% of Norwegian salmon fillets have lightly stained spots smaller than 5cm in diameter and 2% of the fillets have darker spots larger than 5cm on average.
- Most spots (70%) are located in the front part of the abdomen
- Dark spots are also observed in wild living salmon, hence it is not likely that the phenomenon will disappear completely

What is being done to reduce the presence of dark fillet spots

- The Norwegian Seafood Research Fund (FHF), on behalf of the farming industry, has supported research on dark fillet spots since 2008 to reveal causes, provide reliable statistics and to define measures to reduce the problem. The research within this area was intensified in 2012, involving several industrial stakeholders and research communities.
- Reliable statistics require good, consistent, continuous and comprehensive recording of dark fillet spots. Therefore unified registrations at filleting plants along the Norwegian coast have been developed and implemented. Registrations of frequency and severity together with background data (genetics, vaccines/fish health, food, rearing, harvesting etc.) is collected in a database to provide reliable and updated statistics. Information on fish origin is used to search for causes to the problem. However, such an epidemiological approach requires patience as the results evolve on a long-term basis. Updated statistics on the frequency of dark spots are published continuously.
- Specific ongoing research projects (apart from the registrations/ epidemiological study)
 - o Vaccine and vaccination
 - o Food composition
 - o Environmental rearing conditions
 - o The importance of physical trauma and stress
 - o In depth characterization of fillets with dark pigmentation to improve our ability to define causes

The information given in the FAQ is derived by the partners in the FHF project

"Dark spots in salmon fillets: Causes and preventive measures"

For further information, please contact:

Tunja Markare e-mail tunja.markare@nofima.no or Kristian Gjuge e-mail kristian.gjuge@tvf.no



ТАКК!

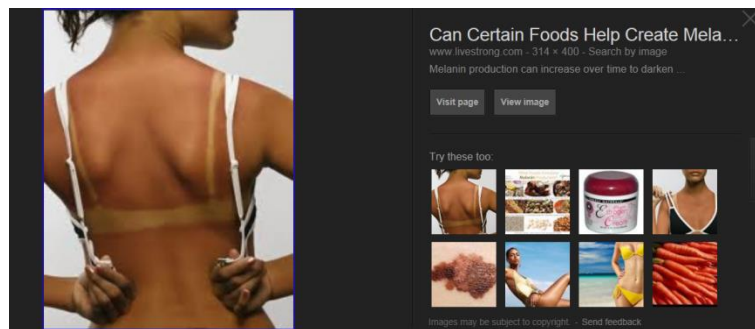
How to Increase Melanin Production

By Cricket Webber

<http://www.dailyglow.com/how-to-increase-melanin-production.html>

- “**Eggs**, and **apricots** are among the foods to start integrating into your diet if you want your body to produce more melanin”.
- Take **B vitamins**. to boost melanin production.
- Take **L-Tyrosine**, an amino acid that can help boost melanin levels.

- **Belgvekster / bønner**
- **Kobber**



"Studies on stress and innate immunity in relation to infectious pancreatic necrosis virus



in Atlantic salmon" 2012



Norges veterinærhøgskole

OPEN ACCESS Freely available online



Stress-Induced Reversion to Virulence of Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Naïve Fry of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.)

Koestan Gadan^{1,2}, Ane Sandtrø^{1,2}, Inderjit S. Marjara¹, Nina Santi², Hetron M. Munang'andu¹, Øystein Evensen^{1*}

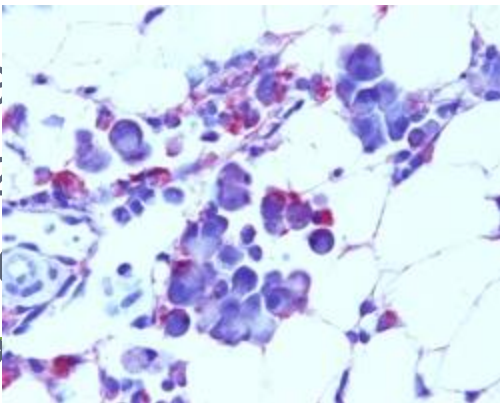
¹Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norway, ²Aqua Gen AS, Trondheim, Norway

KRONISK INFESJON. FOR FØRSTE GANG ER DET OGSÅ VIST AT STRESSPÅVIRKNING AV KRONISK INFISERT LAKSEYNGEL RESULTERER I AT ELLERS UFARLIGE VARIANTER AV IPN-VIRUS ENDRES TIL

SS FØRTE TIL
M RESULTERTE I
VIRUS OG

Aeromonads, Mycobacteriosis +++
are other examples

nde virus. Med a
stress reduserer immunforsvaret, &
«produksjonen» av IPN-virus i fiske



overgang»

- **Årsak**

- `
 `

- Per i dag vet man ikke sikkert hvordan og hvorfor slike sykdommer oppstår.
- Vi vet at en del av disse sykdommene har en viss opphopning i ulike familier, noe som tyder på at en arvelig komponent spiller inn. Samtidig vet vi at ikke alle i slekten nødvendigvis får sykdommen, noe som kan tyde på at det trenges en ytre faktor fra miljøet for å utløse sykdommen.
- “
- denne type sykdom er vanligere hos eldre personer
- ”
- Vi vet også at denne type sykdom er vanligere hos eldre personer, noe som enkelte forskere tror har en sammenheng med at funksjonen til immunsystemet svekkes med alderen. Et fellestrekk for autoimmune sykdommer er at de forårsaker inflammasjon, betennelsesreaksjoner i vevet, som ikke har noe med infeksjoner med bakterier og virus å gjøre.
- Vi vet altså ikke sikkert hvorfor autoimmune sykdommer oppstår, men vi har hypoteser som virker troverdige.

Autoimmune sykdommer

- **Kronisk autoimmun betennelse**
- **Symptomer**
- http://eas4.emediate.eu/eas?cu_key=nhi.no_sykdommer_articleboard;ty=ct

- Autoimmune sykdommer kan angripe nesten enhver del av kroppen, som hjertet, hjernen, nervene, musklene, huden, leddene, lungene, nyrene, kjertlene, fordøyelseskanalen og blodkarene.
- Disse vil variere betydelig fra sykdom til sykdom. Felles for denne sykdomsgruppen er at symptomene vil stamme fra det eller de organene som blir rammet. Ved hemolytisk anemi vil f.eks. kroppen danne antistoffer mot kroppens røde blodlegemer, noe som fører til nedbrytning av disse og færre røde blodlegemer. Konsekvensen blir at symptomene vil være et resultat av blodmangel.
- På samme måte vil andre autoimmune sykdommer ha symptomer som skriver seg fra de organene som antistoffet angriper.

• Vaskulitt

- Fra Wikipedia, den frie encyklopedi
- Gå til: [navigasjon, søk](#)
- **Vaskulitt** defineres som en [betennelse i selve blodåreveggen. Man snakker gjerne om sykdom i de surstoffrike årene \(arterier\).](#)
- Betennelsen kan føre til forsnævring av blodårene som i varierende grad blir for trange, og det kan utvikles celledød ([nekrose](#)) i [tilhørende vev og /eller levring av blod på blodåreveggen \(trombose\).](#) [Konsekvensen av betennelsen avhenger av antall angrepne blodårer, størrelsen på og lokaliseringen av disse.](#) [Betennelsen kan være begrenset til ett organ eller til flere \(systemisk\), dvs. flere områder på eller i kroppen er angrepet.](#)
- **Vaskulittene deles i primær og sekundær vaskulitt:**
- **Primær vaskulitt** betegner sykdom hvor vaskulitt er hovedsymptomet. Det er ikke en sykdom, men klassifiseres etter størrelsen og lokaliseringen på de angrepne blodårene, for eksempel Wegeners granulomatose som er betennelse i små blodårer i [luftveiene, og Arteritis Temporalis som er betennelse i store blodårer fra aortabuen/hodet.](#)
- **Sekundær vaskulitt** kan forekomme som delfenomen ved andre [reumatiske sykdommer,](#)

Summary

- A clear spot is "visible" through bright skin
- Spots under dark skin above lateral line are difficult to detect
- Possibility: to detect fillet spots by scanning whole fish along abdomen
- |



- Autoimmune sykdommer utgjør en stor gruppe sykdommer som har det til felles at kroppens immunsystem feilaktig angriper friske celler, ødelegger disse og det vevet de tilhører

- 8% blodfleck
- 60% melanin
- 75% arrvev