



# **Studier av helsefôr til oppdrettslaks: design, utfallsmål og statistiske metoder**

Paul J. Midtlyng

Senter for epidemiologi og biostatistikk

Norges veterinærhøgskole

---

# «Normalfôr» - «Helsefôr» hva er forskjellen?



**Pris**  
**Ytelse**



# «Studier om helseeffekter av fôr til oppdrettsfisk. En kritisk gjennomgang av helseindikatorer, forsøksdesign og statistiske metoder»

## Prosjektmål

- en vitenskapelig oversikt av publisert informasjon om helseeffekter av fôr til oppdrettsfisk
- en kritisk vurdering av forsøksdesign og –metoder som brukes i slike forsøk
- anbefalinger om forsøksoppsett og statistiske metoder

## Leveranser

- Ett eller flere manuskript som skal kunne publiseres internasjonalt
- Populærvitenskapelig sammendrag og/eller faktaark på norsk.



# Gjennomføring

<b>Prosjektledelse</b>	Eystein Skjerve (Paul J Midtlyng)
<b>Styringsgruppe</b>	Aunsmo, Haugarvoll, Breck, Sveier
<b>Referansegruppe</b>	12 fagpersoner fra leverandørindustri og FoU-institusjoner
<b>Prosjektperiode: 1. juni - 31. desember 2011</b>	



# Avgrensninger

- Kun oral administrasjon (ikke injeksjon, in vitro e.l.)
- Utfallsparametre må være relatert til helse
  - direkte: overlevelse, sykdomstegn, patologi
  - indirekte: uspesifikke forsvarsmekanismer, spesifikk immunrespons
- Positive helseeffekter (ikke mangelsjukdommer)
  - lindring av fôrinduserte tarmskader
- Industrielt oppdrett av laksefisk
  - laks er viktigere enn regnbueørret



# Gruppering av aktive ingredienser i helsefôr til fisk

<b>Cellevegg- polysakkarider fra gjærsopp og alger</b>	Glukaner, MOS, biprodukter
<b>Probiotika</b>	Levende bakteriekulturer
<b>Nukleotidblandinger</b>	CpG oligodeoxynukleotider
Prebiotika (substrat for gunstig tarmflora)	Inulin og andre frukto-oligosakkarider
Immunstimulanter andre enn glukaner	Dimerisert lysozym, levamisol, LPS etc.
Andre	Vitaminer, lipider



# Hva fant vi?

## Det skrives mye om ulike helsefôr til fisk

- men bare ca halvparten rapporterer originale data
- og halvparten gjelder andre fiskearter enn laks og ørret

Review-artikler	~ 85
Papers om laksefisk	~ 100
Papers om andre fiskearter enn laksefisk	> 85

# Mye regnbue og lite laks

- **Probiotika-litteraturen domineres fullstendig av regnbueørret (ferskvann)**
- Noe jevnere når det gjelder glukaner
- Nukleotider: tre artikler om oppdrettslaks, to om RØ



Artikler om regnbueørret ~ 50

Artikler om Atlantisk laks ~ 10

Artikler om andre laksefisk ~ 5







# Artikler med data fra laks

## Probiotika: ca 65 artikler derav 25 reviews

Gildberg, A., Johansen, A., Bøgwald, J., (1995). Growth and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry given diets supplemented with fish protein hydrolysate and lactic acid bacteria during a challenge trial with *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture* 138, 23–34.

Robertson, P.A.W., O'Dowd, C., Burrells, C., Williams, P., Austin, B. (2000). Use of *Carnobacterium* sp as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture* 185: 235–243.

## Nukleotider: 9 artikler derav 4 reviews

Burrells C, Williams PD and Forno PF (2001). Dietary nucleotide: a novel supplement in fish feeds. 1.Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquaculture* 199, 159-169..

Burrells, C, Williams, P.D., Southgate, P.J. & Wadsworth, S.L. (2001). Dietary nucleotide: a novel supplement in fish feeds. 2.Effects on vaccination, salt water transfer, growth rate and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 199, 177-184.

Bridle AR, Butler R Nowak BF (2003) Immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotides increase resistance against amoebic gill disease in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J of Fish Dis* 26:367-371.



# Hvilke helseparametere måles?

Helsefôr	Direkte	Indirekte
Probiotika	~25 art	~12 art
Glukaner	~10 art	~12 art
Nukleotider	3 art	3 art

Det lettere/billigere å måle indirekte parametre enn å kvantifisere direkte helseparametre (unntak: dødelighet)



## Tolkning av resultatene – hvor mange ledd mellom observéert utfallsmål og prestasjon?

Prestasjon ↔ Direkte		↔ Indirekte parametre	
<b>Dødelighet</b>	Patologi	Antistoffrespons	Genekspresjon
<b>Sykdom</b>	Infeksjon	Proliferasjon Fagozytose, ROS	

# «Helsefôr» virker - men hvor mye virker de i «the real life»?



«Ufinansierte» dr.gradsforsøk = risiko for «overstatement bias»  
Positive resultater blir publisert- negative ikke = «publication bias»  
Fravær av validerings-/ «translasjons-studier»

**Vi mangler (ennå) studier for å estimere (økonomisk) effekt under normale feltforhold**



# Design og statistiske analyser

- Kontrollerte kliniske studier med enkel parallelgruppe-design dominerer
- Ofte unaturlige smitte/dødelighet i kontrollgruppen
- Kji-kvadrat eller enveis ANOVA= svak styrke (power to detect) ved lav N
- Faktorielle design og regresjonsmodeller kan gi mer (detaljert) informasjon
  - Eksempler finnes i avlsforskning

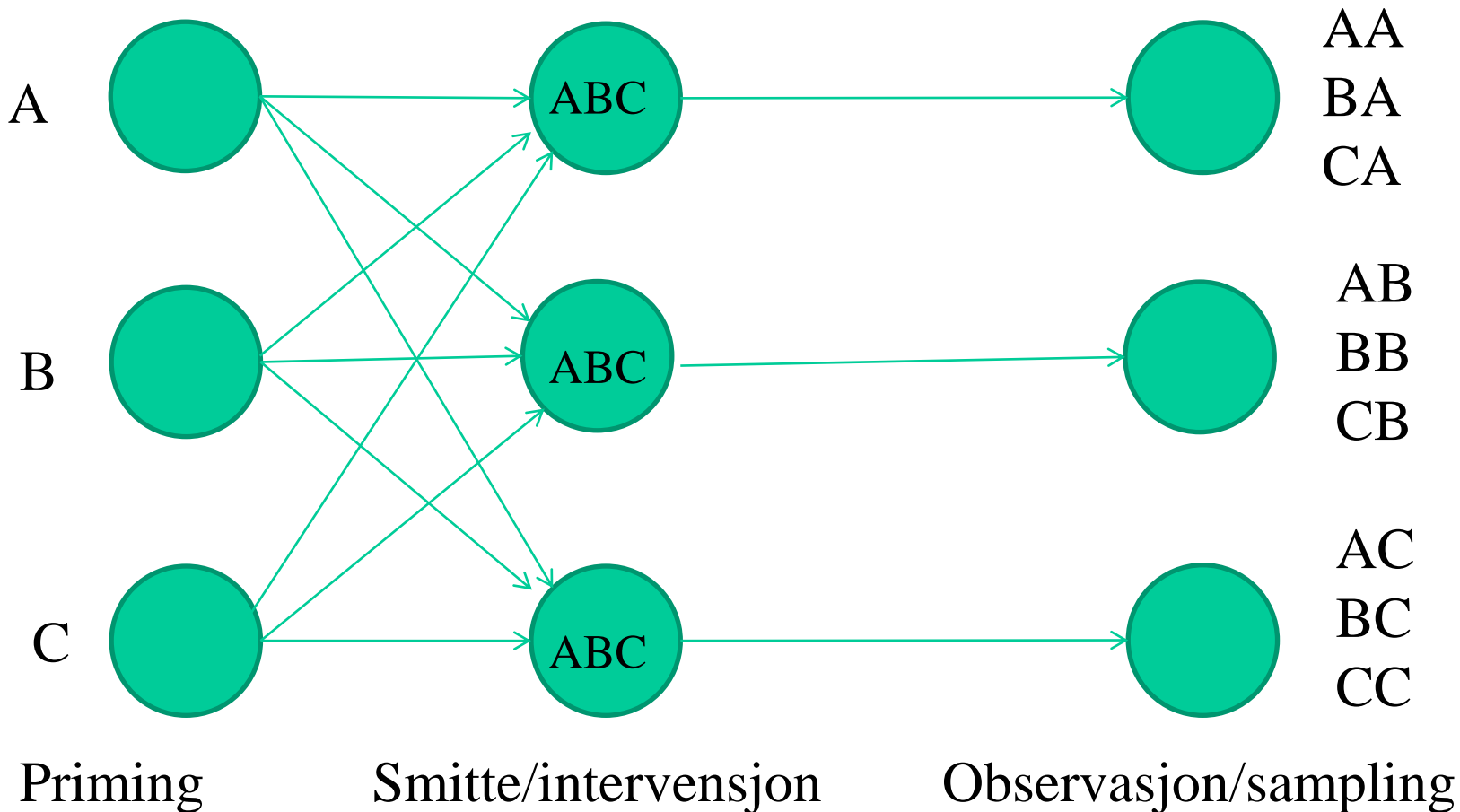


# Design ved infeksjonsstudier

- Smittedynamikken gir spesiell risiko for uberegnelige flokkeeffekter («tank/pen effects»)
- Sterkt ønskelig med flere paralleller og/eller blanding av grupper
- Oral administrasjon setter grenser
- Merketeknologi (gruppe-individ) øker mulighetene for god design og bør tas i bruk!
- Faktorielle design og regresjonsmodeller

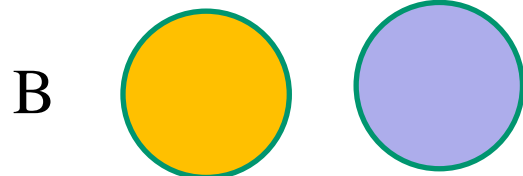
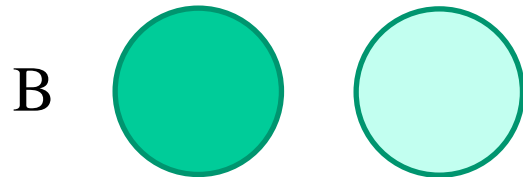
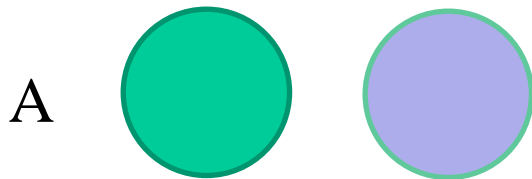
# Design for infeksjons/intervensjonsforsøk med helsefôr (gruppemerking)

Fôr



## Feltstudier kan gi svar –også uten gruppemerkning

Fôr



Smoltgrupper

- «Matchende grupper» (ikke randomiseringsprosedyre)
- Jo flere lokaliteter (gjentak), jo bedre
- Gjentakene må ikke nødvendigvis være identiske
- Registrere/måle faktorer som antas å kunne påvirke utfallet
- Logistisk regresjonsanalyse