

FishEnds-Dig – rapport 2021

Evaluering av humane endepunkter hos forsøksfisk

Aurora Brønstad¹, Anita Rønneseth², Mark Powell³, Svein Brekke⁴ og Linda Andersen⁵



Brønstad A.¹, Rønneseth A.², Powell MD.³, Svein Brekke⁴, Andersen L,⁵

¹ Institutt for klinisk medisin, Universitetet i Bergen, Postboks 7804 Bergen

² Institutt for Biovitenskap, Universitetet i Bergen, Postboks 7800 Bergen

³ Marineholmen RASLab AS, N-5006 Bergen

⁴ AMC Technology AS/ eMar Digital AS, Thormøhlensgate 41A, 5006 BERGEN

⁵ Stiftelsen Industrilaboratoriet, N-5006 Bergen

Forsidebilde: lakseparr med gjellelokkforkortning, sett gjennom inspeksjonsvindu.

Bilde: L. Andersen, ILAB.

Arbeidet er finansiert av Norecopa i 2020 og 2021

Rapport siteres som: Brønstad A, Rønneseth A, Powell MD, Brekke S og Andersen L (2021):
FishEnds-Dig – rapport 2021. Evaluering av humane endepunkter hos forsøksfisk

Bakgrunn og formål

Fisk er det mest brukte forsøksdyr i Norge. Selv om det de siste årene har vært økende søkelys på fiskevelferd for oppdrettsfisk har det ikke vært samme søkelys på velferden til forsøksfisk. Død som endepunkt i forsøk skal unngås, og er eksplisitt uttalt i vårt nasjonale regelverk, så vel som internasjonale retningslinjer [1, 2]. I retningslinjer for toksisitetsforsøk [3], arbeides det for å tilrettelegge for å kunne erstatte dødelighet med vurdering av ulike kliniske tegn med høy prediksjonsfaktor for utfall etter eksponering [4]. I stedet skal man benytte tidlige og mer humane endepunkt (HE). HE betyr at fisken blir tatt ut av forsøk på et tidligst mulig tidspunkt og før død inntreffer [5]. Målet er å minimere grad og varighet av lidelse. Slike HE må være basert på kjennskap til fiskeartens adferd og kliniske tegn under ulike sykdomstilstander og behandlinger så vel som effekten av de intervensjoner man kan forvente i studien. Når fisken når et forhåndsdefinert endepunkt skal tiltak iverksettes for å begrense, minimere eller eliminere videre smerte, frykt eller lidelse. Skalaer for å vurdere fiskevelferd, som for eksempel Fishwell, [Velferdsindikatorer for oppdrettslaks - Nofima](#), [6] vil drøftes med tanke på egnethet som HE. Eksisterende skalaer er så å si utelukkende basert på patologiske undersøkelser av avlivet fisk. **Hensikten med dette arbeidet er å avgrense endepunkter for fisk som enda går i forsøk, og beskrive mulig aksjonspunkter (AP) dvs tiltakspunkt /handletidspunkt når man observerer et forhåndsdefinert endepunkt i et fiskestudium.** Det er et mål at man har så forsøksspesifikke HE som mulig og helst skal de være kvantitative da det minimerer faren for subjektive feil. Likevel, beslutning om tiltak må også baseres på mer generelle observasjoner som svimeradferd, tap av appetitt, apati etc som reflekterer den kliniske tilstanden og velferden til fisken.

Viktig å velge relevante endepunkter: falske positive og falske negative endepunkter.

Om man skal benytte HE framfor dødelighet i fiskeforsøk er det viktig at man velger å benytte de endepunkter som med sikkerhet predikerer en forverret tilstand eller død. Hvis ikke kan man risikere å avslutte forsøkene for tidlig noe som kan medføre at forskningsspørsmålene ikke blir besvart og dermed unødig bruk av dyr. I verste tilfelle kan det hende forsøket må repeteres og at man dermed benytter enda flere dyr. Dette kan benevnes falske positive endepunkter. Vanligere er kanskje falsk negative endepunkter – der begynnende lidelse ikke fanges opp i tide og man finner fisken svært syk eller død. Det er avgjørende at forekomsten av slike falske endepunkter er lav om man skal benytte HE [7].

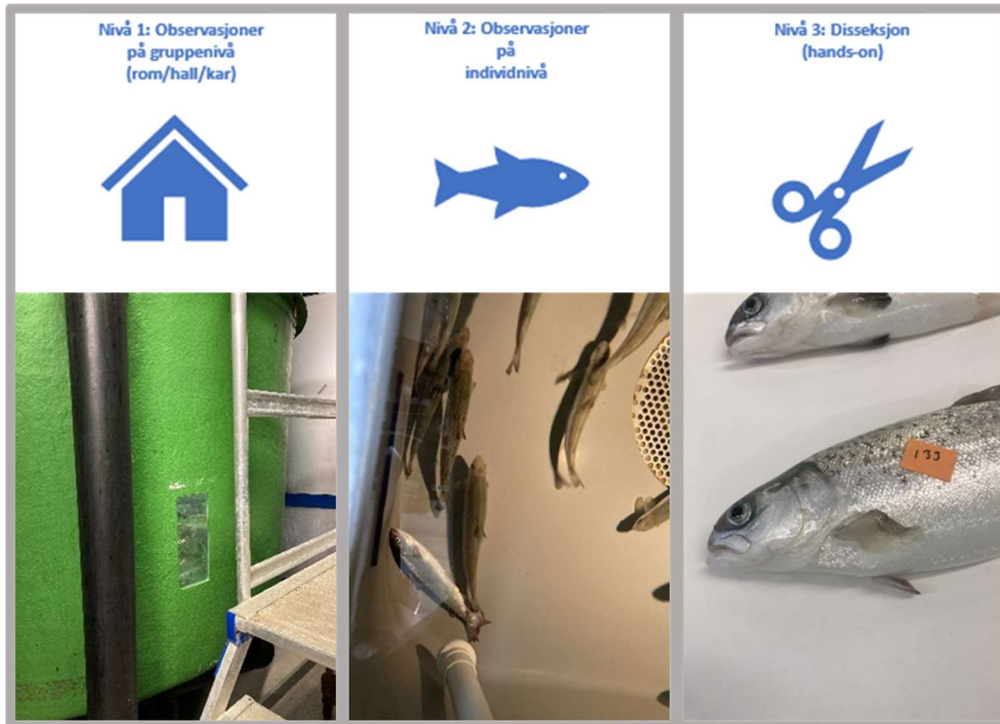
Et falskt positivt endepunkt er når man tar ut et dyr fra forsøket (vanligvis ved avliving) når tilstanden til dyret kunne kommet seg igjen og dyret kunne fullført observasjonsperioden i forsøket. Et eksempel på dette kan være avliving av fisk med ødem. Et eksempel på et falskt negativt endepunkt kan være at man har satt gjellescore 5 som endepunkt, men en stor andel av fiskene dør ved score 4. Falske positive endepunkter kan medføre en overvurdering av effekten observert i forsøket, mens falske negative endepunkter fører til redusert dyrevelferd i forsøket.

Ekklusjons- og inklusjonskriterier for forsøksfisk

I forkant av et forsøk er det viktig å gjøre en vurdering av bakgrunnstilstanden til fiskegruppen man skal benytte, for eksempel mtp gjellestatus, finnestatus, skjelltap og liknende, dvs at man setter eksklusjons- og inklusjonskriterier for fisken. For strenge kriterier for å inkludere eller la fisk fortsette i en studie kan bidra til bruk av økt antall forsøksfisk - i konflikt med prinsippet om reduksjon av

forsøksdyr. Det må derfor gjøres en vurdering av hvordan ulike tilstander påvirker fiskens muligheter for å utvise normal adferd og utvikling og om eventuelle avvik vil være av betydning for den aktuelle studien. Forsøksfisk i fangenskap vil være beskyttet mot predatorer, de vil ha tilgang på tilstrekkelig med næringsrik føde, og miljøet kan optimaliseres for å unngå sykdom og stress. En misdannelse som ville gjøre fisken utsatt for predasjon eller bli en «taper i kampen om tilværelsen» i naturen – trenger dermed ikke være et like stort problem for en fisk i fangenskap i et beskyttet miljø. Det kan også være fordelaktig om overskuddsfisk, dvs fisk som ikke oppfyller inklusjonskriteriene til forsøket kan benyttes til opplæring dersom de likevel må avlives.

Det er hensiktsmessig å dele inn vurdering av HE i tilstander som enkelt kan vurderes og observeres i en daglig røktersitasjon i fiskens karmiljø og HE som først kan observeres under uttak av fisk (Figur 1). Håndtering vil alltid være stressende for fisken og kunne påvirke forsøket. Noen observasjoner vil kunne gjøres i lokalet hvor karene er plassert, eller ved observasjon på karnivå (dvs observasjoner for gruppen). Andre må foretas på individnivå eller først ved uttak (enten på bedøvet fisk eller avlivet fisk). **Dette vil si at observasjoner deles inn i inspeksjoner i rommet/på karnivå (gruppeobservasjoner) (nivå 1), observasjoner på individnivå (nivå 2) og «hands-on»- undersøkelser (nivå 3) (Figur 1).** De fleste skalaer (som Fishwell) er tilpasset produksjonsforhold og undersøkelser av avlivet fisk. HE skal vurderes underveis i forsøket, mens fisken er i live og man kan gjøre tiltak. Slike tiltak skal redusere, minimere eller eliminere smerte, frykt og lidelse, og det trenger ikke kun dreie seg om avlivning. Hos fisk er det kanskje litt for ofte avliving som er tiltaket framfor behandling eller gjenbruk, her skiller fisk seg fra andre større forsøksdyr. Forsøksdyrforskriften slår fast at man kun skal kunne gjenbruke dyr fra forsøk med lav belastningsgrad eller hvor fiskens helse er gjenopprettet. En annen viktig årsak til at man gjenbraker fisk i forsøk i mindre grad enn for andre dyr er at fisk er vekselvarme dyr som vokser kontinuerlig og vil etter hvert ofte bli for store for forsøkskarene. Grunnet store individforskjeller hos fisk siden man ikke har innavlede forsøksdyr som er genetisk identiske er det også behov for å bruke et større antall fisk i forsøk enn for andre dyr. Biosikkerhetskrav ved fasiliteten og mulige restkonsentrasjoner i fiskene for eksempel fra et fôringsforsøk gjør også at fisk ikke nødvendigvis kan brukes videre fra et forsøk til et annet forsøk selv ved lav belastningsgrad.



Figur 1. Symboler som vil bli brukt gjennom rapporten. Nivå 1 er observasjoner som kan gjøres i rommet / hallen og på gruppenivå (dvs observasjoner for fiskegruppen). Nivå 2 er observasjoner som kan gjøres av individuelle fisk i karet uten at fisken tas ut av vannet. Nivå 3 er observasjoner og undersøkelser som først kan gjøres når fiskene tas ut av vannet og undersøkes (enten på bedøvet fisk eller på avlivet fisk under uttak/disseksjon).

Avgrensning for rapporten: vurdering av kliniske tegn og morfologiske scoringssystemer for å bestemme humane endepunkt (HE) i kontrollerte fiskeforsøk (feltforsøk er ikke inkludert). Avgrenses her til følgende art, stadium og størrelse: Laks, parr, smolt og laks (<4kg) (dvs yngel og matfisk/stamfiskstørrelse er utelatt). Vurdering av hvordan ulike miljøparametere (som for eksempel oksygennivåer, nitritt, CO₂) vil kunne utgjøre ulike aksjonspunkter / HE er ikke behandlet i denne rapporten. Heller ikke hvordan fysiologiske parametere og ulike biomarkører vil være relatert til endepunkter (for eksempel resultater fra ulike blodanalyser som Hct, kortisol, glukose etc). Vurderingene i rapporten for tiltak og endepunkter er i hovedsak basert på forhold knyttet til gjennomstrømningsanlegg.

Vurdering av kliniske tegn, patologiske endringer og adferd for bestemmelse av humane endepunkter

Observasjoner av gruppen på nivå 1 (i rommet og i kar) og av individer (nivå 2)

- Fiskens adferd, eventuelt førspill i karet, samt fiskens plassering i karet og vannsøylen er observasjoner som enkelt kan observeres på nivå 1.
- Karforhold /kareffekt er viktig å ta i betraktning. Det kan være forskjeller mellom kar (både mtp fiskens adferd, smitteutvikling og stressnivå) med bakgrunn i fysiske forhold med karet som plassering og lysforhold, ulikheter i vannstrøm eller grunnet sammensetningen av ulike individer i karet (genetikk og personlighet). Dersom det er stor spredning i fiskevekt mellom karene, kan dette også føre til ulik adferd og utvikling i karet. Er fisken plassert i et kar nær inngangsdør til rommet vil de oftere kunne bli mer skremt av personer som går inn og ut av rommet, eller omvendt, bli mer vant til operatøren enn fisk som er plassert i andre kar uten slik plassering.



Sjøvannsoverføring av fisk som ikke er tilstrekkelig smoltifisert, kan føre til høy dødelighet i gruppen og lavere vekst i opptil 2 mnd. Smoltifisert fisk får endret fargedrakt, de blir sølvfargede, får svarte finnekantene og en mer strømlinjeformet kropp. Fisk som ikke er tilstrekkelig smoltifisert eller som har desmoltifisert, kan ha grønnskjær på gjellelokk og ved brystfinner. Smolt svømmer ofte høyere enn parr i vannsøylen og man bør derfor undersøke fisk fra ulike steder i vannsøylen fra store kar [6]. Et lite antall fisk som ikke er blitt smolt er vanskelig å oppdage om man ikke undersøker et tilstrekkelig antall fisk.

Dersom forsøksfisk-karene har et inspeksjonsvindu er dette en stor fordel da det vil tillate bedre observasjon av fiskene fra siden og ikke kun ovenfra som når man løfter karlokket. Gjennom inspeksjonsvinduet vil man enkelt kunne vurdere fiskens adferd og plassering i karet, samt evt unormal adferd (tap av likevekt, spiralsvømming etc). Man vil også kunne observere hvor rolig fisken er.

Når man åpner karlokk bør man legge merke til fiskens respons på stimuli (dvs reaksjon på operatørens nærvær) og dermed oppdage for eksempel fatigue. Når man observerer fisken ovenfra ved å løfte karlokk skal man også observere vannmiljøet mtp evt begroing, sopp og fôrrester i overflaten. «Flytefaeces» kan være tarmavstøtninger som flyter i overflaten og kan være tegn på at fisken er blitt syk. Om man observerer fisken før lyset går på i rommet (dvs før fôring og røkting) kan man gjennom vinduet telle fiskens respirasjonsfrekvens som kan si noe om stress og evt ytelse under for eksempel gjellesykdom. Slik observasjon gjøres imidlertid best med kameraovervåkning da fisk blir svært lett påvirket av observatørens nærvær.

- Gjennom inspeksjonsvinduet kan en se finneskader, sår/hudskader og evt øyeskader. Man bør også observere fisken ovenfra ettersom utstående øyne (eksoftalmi) best ses ovenfra.
- Det bør også gjøres en vurdering av om det ligger mye fôrrester i karet, dette være et tegn på at fisken er syk og har lav appetitt.
- Ensidige skader (gjellelokk, øyne, finner) kan bety at det kan hjelpe å snu strømrretningen.

- Brystfinner og halefinner er svært viktige for fiskens normale adferd og skader på disse er lett å observere på karnivå.
- Fiskens farge og smoltdrakt er viktig, og kan enkelt observeres gjennom inspeksjonsluken.

Kar med for lav strømhastighet kan være begrensende for selvrensing av karet mtp fôravfall og faeces og vil også kunne gi mer muligheter for aggresjon blant fiskene i karet. For høye strømhastigheter, på den andre siden, vil kunne ha negativ effekt på vekst og ytelse.

Vurdering av appetitt: Når man er i rommet bør man samtidig sjekke fôrregimet. Det er viktig at man jevnlig sjekker at pelletstørrelse og mengde fôr er i tråd med reell fiskestørrelse, temperatur og antall fisk. Fisk bør håndfôres en stund etter fôringstart og utpå ettermiddagen for å vurdere om fisken har fått nok mat.

Observasjoner av fisk under uttak («hands-on») (nivå 3)

Ikke alle observasjoner med betydning for fiskevelferd og HE gjøres best ved observasjoner på karnivå. Noen observasjoner kommer først fram under «hands-on» undersøkelser av bedøvet fisk eller avlivet fisk under planlagte fiskeuttak eller prøvetaking i forsøket. Eksempler på dette er gjellescoreutvikling på bedøvet fisk, omfang av skjelltap, buksår eller mindre øyeskader. Planlagte uttak i løpet av forsøket kan dermed gi ytterligere informasjon om fiskens velferd med tanke på observasjoner som ikke generelt kan gjøres fra karkanten.



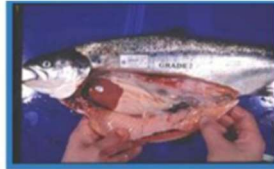
- Jevnlige vekt og lengde-målinger vil kunne gi informasjon om fiskens kondisjonsfaktor og hvordan fisken vokser.
- Ved disseksjon kan observasjon av gult tarminnhold tyde på at fisken ikke har spist den senere tiden (tid vil være avhengig av temperaturen), og at man bør se hvor utbredt dette er i fiskegruppen (andelen fisk i uttaket).
- Ved disseksjon av fisk kan man også oppdage tilstander som tarmbetennelse, nefrokalsinose og sammenvoksinger. Sammenvoksinger i buk vurderes vha Speilberg skala under uttak (Figur 2). Dersom det er høy andel av høy score i fiskegruppen bør man vurdere om forsøket skal avsluttes i sin helhet da fisk med høy grad av sammenvoksinger trolig har avvikende tarmbevegelser og ikke normalt fôropptak eller fordøyelse.
- Avvik fra ønsket smoltifiseringsstatus og funn av evt dverghanner / kjønnsmodne individer bør noteres, da dette kan være viktig for andre parametere i forsøket som feks mottakelighet for sykdomsagens.
- Kjønn kan noteres under disseksjon av fisk da dette i noen tilfeller kan ha betydning for forsøket.
- Omfanget av skjelltap og finneskader og plassering er oftere lettere å vurdere på avlivet fisk, og det er viktig å følge med på dette over tid før å kunne si noe om utviklingen.



1. Veldig små sammenvoksninger, oftest lokalisert nær injeksjonsstedet. Lite sannsynlig å bli lagt merke til av ufaglærte under sløyting.



2. Mindre sammenvoksninger, som kan koble tykktarm, milt eller blindsekkene til bukveggen. Kan bli lagt merke til av ufaglærte under sløyting.



3. Moderate sammenvoksninger inkludert fremre deler av bukhalen, som involverer sammenkobling av blindsekkene, leveren eller magesekk til bukveggen. Kan bli lagt merke til av ufaglærte under sløyting.



4. Store sammenvoksninger med granulomer, omfattende sammenvokste indre organer, som fremstår som en enhet. Sannsynlighet for å bli lagt merke til av ufaglærte under sløyting.



5. Omfattende skader som påvirker nesten alle indre organ i bukhalen. I store områder er bukhalinnen tykkere og ugjennomsiktig, og fileten kan ha knuter, fremtredende og/ eller pigmenterte lesjoner eller granulomer.



6. Enda mer alvorlig enn 5 ofte med betydelige mengder melanin. Innvollene kan ikke fjernes uten skader på fileten.

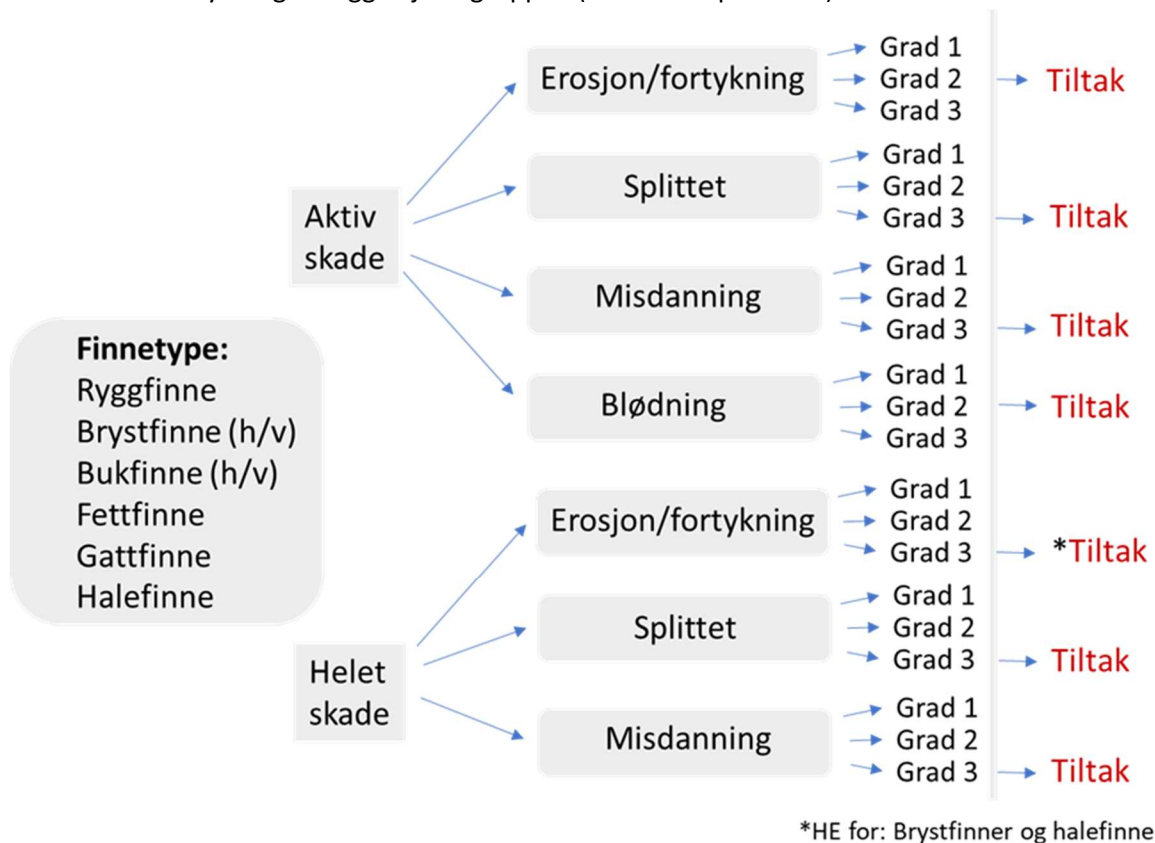
Figur 2. Speilbergs skala for vurdering av sammenvoksing og endringer i innvollsorganer hos laks som følge av vaksinerings [8]

Vurdering av aksjonspunkter og humane endepunkter på de ulike observasjonsnivåene

Skader på finner

En rekke ulike skader kan observeres på de ulike finnene hos fisk i forsøk, alt fra finneerosjon, splittede finner, blødninger og eroderte finner. En oversikt over disse er fremstilt i Figur 3 og bilder i Figur 4.

Skader på finner er oftest knyttet til mekaniske skader eller grunnet aggresjon i fiskegruppen. Finneskader kan også være forårsaket av infeksjoner, som oftest bakterielle. Når man vurderer finneskader, må man se på strømretningen i karet også. Om finneskadene kun kan ses på høyre eller venstre side av fisken kan det hjelpe å snu strømretningen i karet (dette fordi fisk biter utover når de står i strømmen). Det er også viktig å vurdere fôringsregimet og strømhastigheten ettersom dette kan ha betydning for aggresjon i gruppen (biteadferd på finner).



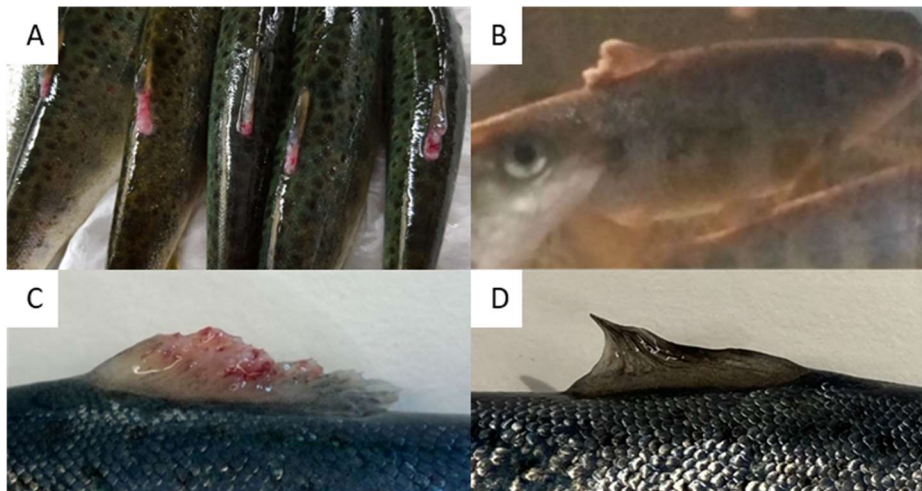
Figur 3. Vurdering av tiltakspunkt og HE for finneskader. Inndelingene i figuren her er forslag til valgnivåer og kategorier / underkategorier som kan legges inn i eMar. Først velges finntype, deretter om det er en aktiv eller helet skade. Man velger så om det er eroderte/ fortykkede finner, splittede finner, misdannede finner eller en blødning i vevet. Grad av skade registreres som grad 1-3 som beskrevet i Fishwell. Tiltaksnivå vil være ved grad 2 for aktive finne-erosjoner, der tiltak kan være vurdering av fôringsregime, senkning i salinitet, endring av strømretning, reduksjon i tetthet og undersøkelse av om skadene kan være forårsaket av mekanisk skade. Avliving ved grad 3 vil kun vil være gjeldende for skader (aktive og helede) på brystfinner og halefinne da det er mer alvorlig for fisken å ha skader på/ved disse finnene.

Ryggfinneskader

Dersom man ser sår bak ryggfinner, er det viktig at dyrene helseovervåkes hyppigere, gjerne av fiskehelsebiolog/veterinær. Sårene bak ryggfinner kan bli så ille at enkelte fisk bør avlives, men om fiskegruppen ikke er benyttet i et forsøk enda, kan man inkludere en helingsperiode med lavere salinitet (25 ‰). Om fisken allerede går i forsøk og en har anledning å utsette videre forsøksaktiviteter som behandling, smitte etc kan en se om det å senke saliniteten en periode vil føre til heling av ryggfinneskadene, og fiskegruppen kan dermed brukes i forsøk. Å benytte fisk med helede ryggfinneskader i forsøk er som oftest uproblematisk.



Begynnende ryggfinneskader forårsaket av aggresjon kan ofte ses som «hvite ryggfinner» (Figur 4B). Dersom dette observeres bør man ta en ekstra kikk på karforholdene for å vurdere om noe kan forbedres mtp tetthet, fôringsregime eller strømhastighet.



Figur 4. Bilder av ulike ryggfinneskader sett hos laks i forsøk. Bildene viser aktive biteskader (A og B), grunnet bakterieinfeksjon (C), og helet ryggfinneskade (D).

I Fishwell sin vurdering av finneskader kategoriseres dette i kategori 1-3 avhengig av omfang og alvorlighetsgrad, men inndeles også i om det er en aktiv eller helet skade (Figur 5). Basert på Fishwell skala vil kategori 3 være et tiltakspunkt mtp HE. For å gjøre tiltak ved kategori 3 kan man se på tetthet i karet, fôring, aggresjonsnivå, samt fôrmengde og pelletstørrelse opp mot temperatur.



Figur 5. Kategorisering for vurdering av finneskader fra Fishwell som viser inndeling etter alvorlighetsgrad/omfang og om det er en aktiv eller helet skade.

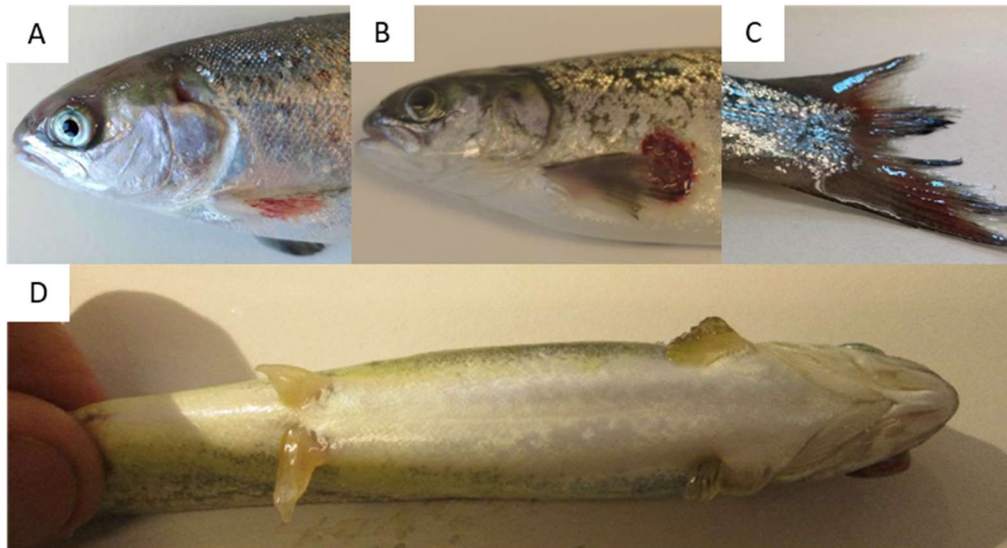
Brystfinner og halefinne

Brystfinner og halefinner er svært viktige for fiskens normale bevegelsesmønster og er lett å observere på karnivå (nivå 1 og 2). Selv om eroderte brystfinner heles i form av at huden / såret reparerer vil det fremdeles utgjøre et velferdsproblem siden finnene er forkortede (Figur 6D). Det vil derfor være en lavere terskel for at fisk med brystfineskader blir avlivet enn fisk med ryggfineskader.

Sår /skader ved brystfinne kan ofte være alvorlige ettersom en lett kan få perforasjoner og infeksjoner til indre organer (Figur 6B).

Halefineskader kan være grunnlag for avlaving avhengig av grad av erosjon og sårstørrelse i haleregionen. Forkortet halefinne (helet skade) med intakt halerot er ikke grunnlag for avlaving, mens aktive sår og tydelig haleråte (se Figur 19) vil være avlivningsgrunnlag da dette er en tilstand som sjelden forbedres, men snarere raskt forverres.





Figur 6. Bilder av fisk med aktive (A, B og C) og helede (D) brystfinne- og haleskader. Fisken i A) har også en gjellelokkdeformitet.

Gattfinne

Det er sjelden man ser noen endringer i gattfinne. Tidvis kan blødninger i gattfinne ses i forbindelse med infeksjoner, men vil i seg selv ikke være et tiltakspunkt / avlivningsårsak (Figur 7).

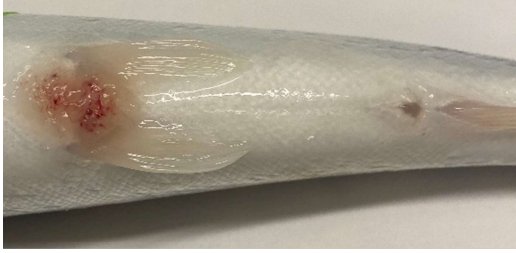


Figur 7. Blødning i gattfinne

Bukfinner

Skader og sår på bukfinner er vanskelig å observere ved vanlig inspeksjon gjennom karvindu (nivå 1 og 2). Et eksempel vises i Figur 8. Ved bedøvelse av fisk for eksempel under sortering bør individer tas ut og avlives dersom eksponerte finnestråler har skrapet og dannet blodige sår bak finner, ellers er skader på bukfinne og sår på bukfinner noe fisken kan leve bra med og er ikke avlivningsgrunnlag. Bukfinnestatus er altså sjeldent et HE for fisk i forsøk, kun i tilfeller der frie bukfinnestråler har skrapet mot hud og forårsaket blodige sår.





Figur 8. Bukfinesår hos laks i forsøk.

Fettfinne

Det er ikke vanlig å se naturlige erosjoner /skader på fettfinnen, denne finnen er oftest uberørt. Fettfineskader kan likevel være viktig mtp velferd hvis fisken er fettfinneklippet og klippet ble for dypt. Fisk som har fått blodige sår ved fettfinne bør tas ut eller man kan evt forlenge perioden fram til forsøksaktiviteter (for eksempel en behandling) slik at vevet kan heles først og infeksjonsrisikoen dermed reduseres. Det er rapportert om enkelte tilfeller av unormalt små fettfinner (produksjonsrelatert eller genetisk, se Figur 9) og slike fiskegrupper vil i enkelte tilfeller ikke benyttes i forsøk pga inklusjonskriterier som gjør den uegnet for vurdering ved fettfinnemerking).



Figur 9. Fisk med avvikende størrelse på fettfinne.

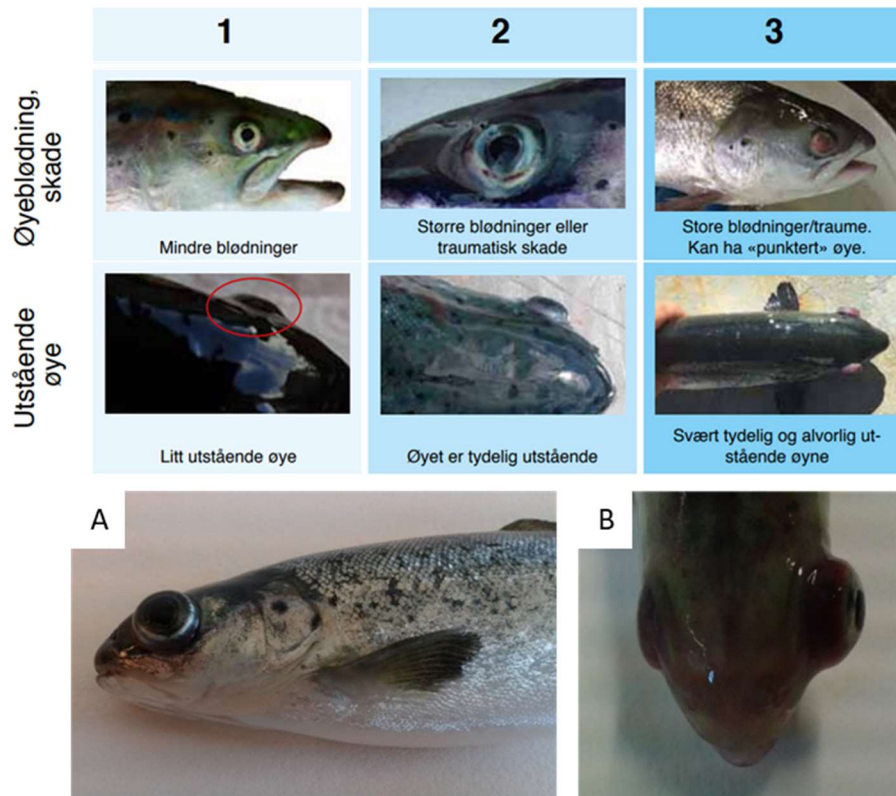
Øyne

Når man ser inn gjennom inspeksjonsvinduet kan man noen ganger observere fisk med utstående øyne, blødninger eller med øyetraume / mangler øyne. Slike observasjoner er imidlertid lettest å observere på observasjonsnivå 2 og 3. Dersom fisken har indre blødninger eller sirkulasjonsproblemer, så manifesteres dette ofte som eksoftalmi. For øyeskader bør man merke seg om det er en ensidig eller tosidig skade, samt man om skaden er på fiskens høyre eller venstre side.

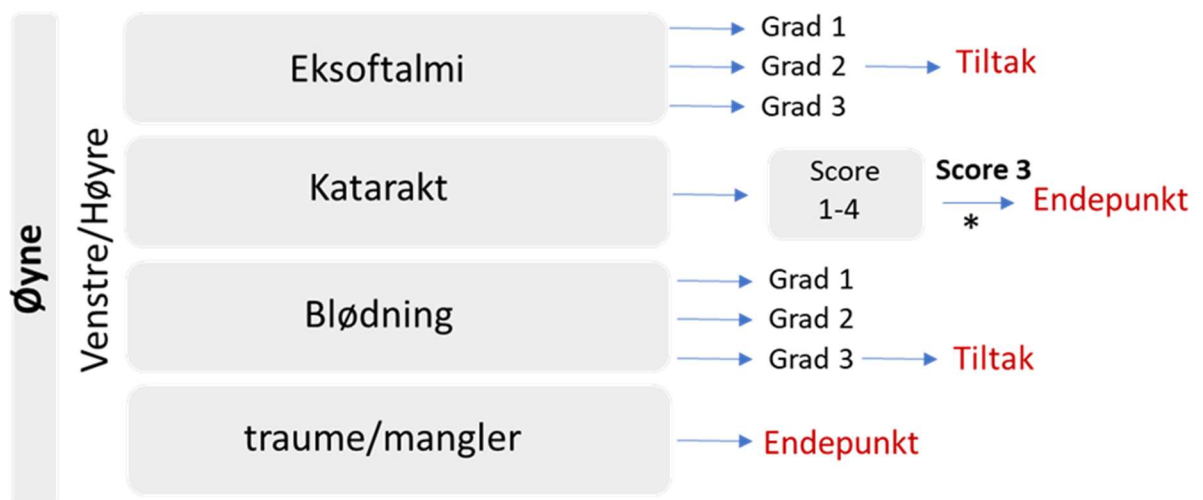


I Fishwell sin scoreskala der øyeskader vurderes i kategori 1-3 vurderes øyebledninger eller skader på øyne, samt om øynene er utstående (Figur 10). Ved vurdering av øyeskader på Fishwell-skalaen så vil man trolig ikke kunne vurdere grad 1 og 2 på karnivå, dvs på observasjonsnivå 1 og 2. Ved score 3 for øyeskader på Fishwell-skalaen vil det være nødvendig å avlive fisken. På Fishwell-skalaen for utstående øyne / eksoftalmi vil man ta ut fisken ved score 2. Man vil ikke kunne la fisken ha øyeskader i grad 3 med mindre det er et spesifikt øyeforsøk.

Forslag til hvordan øyeskader kan vurderes mtp tiltak og HE er vist i Figur 11.



Figur 10. Øyeskader i form av blødninger, skade og utstående øyne fra Fishwell øverst, og bilder av fisk med utstående øyne fra forsøk (A og B).



Figur 11. Vurdering av øyeskader mtp tiltak og HE. Inndelingene i figuren her er forslag til valgnivåer og kategorier /underkategorier som kan legges inn i eMar. Først velges det om det er snakk om øyet på høyre eller venstre side, eller for begge. Deretter velges eksoftalmi, katarakt, blødning eller om det er et øyetraume eller øyet mangler. Valg av øyetraume vil medføre tiltak i form av avlaving (endepunkt), eksoftalmi vil gi tiltak ved grad 2, blødning ved grad 3 mens katarakt vurderes i kategori 1-4 med *score 3 på begge øyne som endepunkt.

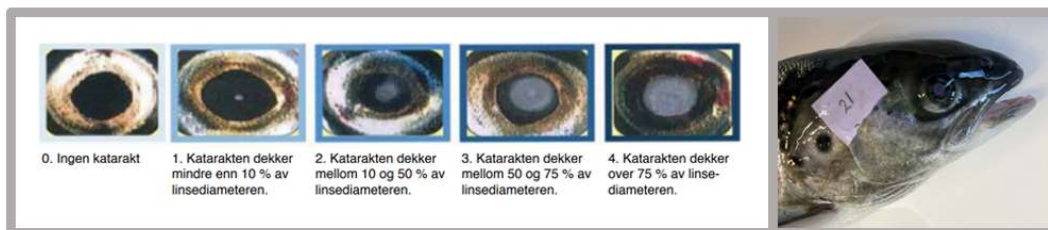
Katarakt

Katarakt eller «grå stær», er en blakking av øyelinsen, og en tilstand i øyet hos laks som er forårsaket av at spesielle fibre inne i linsen sveller og gjør den ugjennomsiktig. Blakkingen kan være forårsaket av en betennelsestilstand i øyet, eller ha sammenheng med feilernæring, særlig mangel på aminosyren histidin i fôret, men andre sammenhenger for katarakt, som oksidativt stress, raske temperatur- og salinitetssvingninger mfl. har også blitt rapportert. Fisken blir svaksynt / blind og får vanskeligere for å ta til seg fôr.



Katarakt klassifiseres vanligvis vha en skala på 0-4 [9] (Figur 12). Scoringsmetoden brukes for å bestemme det relative arealet blakkingen utgjør sett opp mot linstørrelsen. En mer presis bestemmelse av blakkingens type, mulige årsak, utviklingsgrad og plassering i linsen posisjon i linsen, type, utviklingsgrad og mulig årsak må gjøres av trenet personell og krever eget utstyr og redusert belysning. En bør også vurdere hvor gjennomsiktig det blakkede området er, noe den eksisterende skalaen ikke tar høyde for.

Vurdering av HE for katarakt: Score 3 på begge sider av fisken vil medføre avliving av enkeltindividet (katarakt som dekker mellom 50-75% av linsediameteren).



Figur 12. Katarakt-skala 0-4 fra Fishwell til venstre. Til høyre vises et bilde av en fisk i forsøk som har katarakt.

Skader og deformiteter for gjeller og gjellelokk

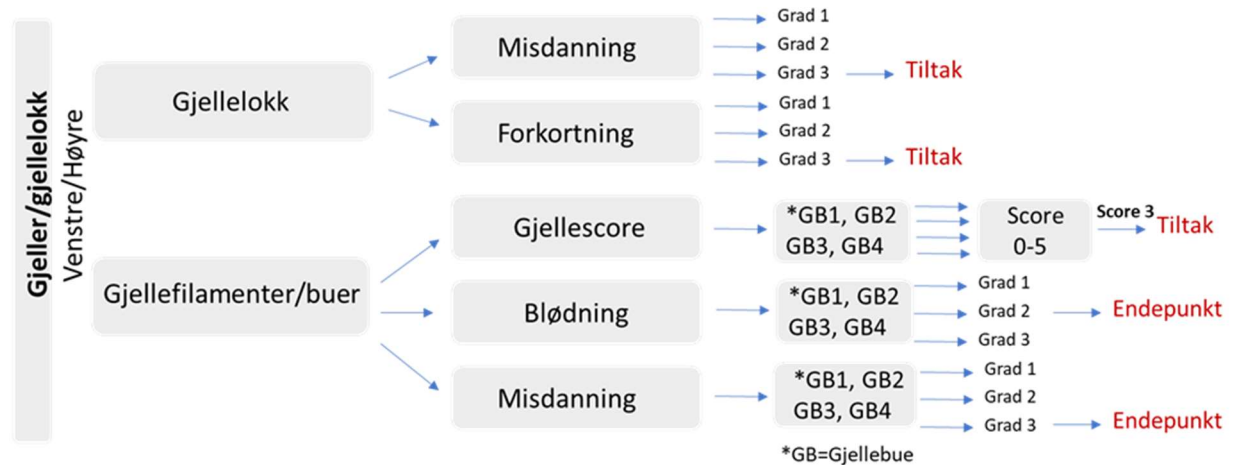
Vurdering av tiltak og HE knyttet til skader på gjellelokk og gjellefilamenter kan ses i figur 13.

Gjellelokk-skader eller forkortninger kan lett observeres fra siden via inspeksjonsvinduet (Figur 14). Gjellelokkforkortning kan være ensidig eller tosidig. Det kan hjelpe å snu strømmretningen om gjellelokk-skadene er ensidige og forårsaket av aggressivitet ettersom fisken «biter utover» i karet. Blottlagte gjellefilamenter vil «lyse» røde og fungere som et angrepspunkt for aggressive individer (litt som en rød klut for okser, begrepet er kjent som «target for attack»). Røde, blodige områder bak ryggfinne fungerer på samme måte som et mål for aggressive individer (se Figur 4).



Fiskegrupper hvor bakgrunnsproblemer som for eksempel gjellelokkforkortning eller ryggfinneslitasje er utbredt er å anse som «dyr i risiko» / «animals at risk», dvs i risiko for å utvikle flere følgetilstander eller forverring av tilstanden, og dyrene må derfor observeres nøye og vurderes om de kan inkluderes i forsøket eller ikke (inklusions-og eksklusjonskriterier). For

eksempel kan fisk med en liten grad av gjellelokkforkortelse benyttes i et luseforsøk, men er ikke egnet for bruk i gjelleforsøk.

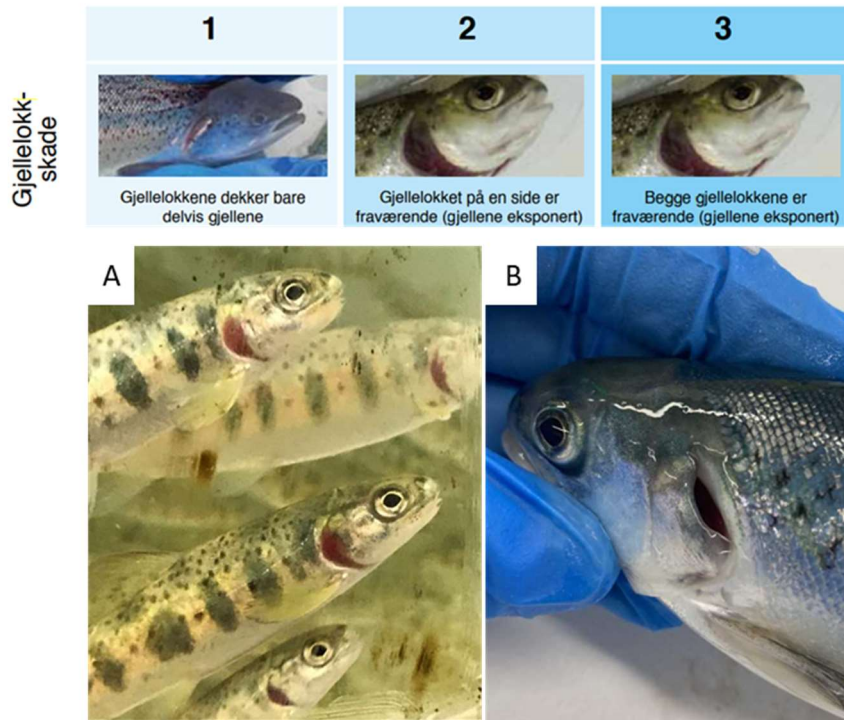


Figur 13. Vurdering av tiltak og HE knyttet til skader på gjellelokk og gjellefilamenter. Inndelingene i figuren her er forslag til valgnivåer og kategorier /underkategorier som kan legges inn i eMar. Først velges det om det er høyre eller venstre side av fisken eller begge. Man velger så om det er snakk om gjellelokk eller gjellefilamenter/buer, videre om det er gjellescore, en blødning eller misdanning. Man velger så først hvilken gjellebue det er snakk om (gjellebue 1-4, GB 1-4). For funn av gjellebue/filamentmisdannelse vil grad 3 være et endepunkt, mens ved blødning samme sted vil grad 2 være et endepunkt. Gjellescore vurderes i kategori 0-5 og tiltakspunktet her er score 3. For gjellelokkskader så velges det om det er snakk om en misdanning eller forkortning. Tiltak ved misdanning gjøres ved grad 3 mens forkortning i grad 3 vil være tiltakspunkt.

Dersom fisken har gjellelokkforkortelse kan det være en fordel å øke vannstrømmen noe ettersom fisken har mindre gjellelokkbevegelser/ klarer å få mindre vann over gjellene enn fisk med normale gjellelokk og dermed øke gassutskiftningen over gjellene.

Man bruker av og til fisk i forsøk som ikke har helt intakte gjellelokk (fiskene har dermed ikke perfekt gjellefunksjon og kan dermed ikke brukes til gjelleforsøk).

Brettede gjellelokk (gjellelokk som krøller seg utover) ses ikke så lett ved observasjon gjennom inspeksjonsvinduet, men kan oppdages under uttak. Man er usikker på om dette har noe å si for fiskens gjellefunksjon og hva som forårsaker dette, men man tror det har sammenheng med vekst av gjellelokk etter en periode med forkortet gjellelokk. Dette er et godt eksempel på en fiskens «hverdagslidelser» som man vet lite om (se s. 26 og figur 24A).



Figur 14. Gjellelokkskader av grad 1-3 fra Fishwell til venstre. Bildet i A) viser fisk med gjellelokkforkortning sett gjennom inspeksjonsvinduet, mens B) viser en fisk med gjellelokkdeformitet.

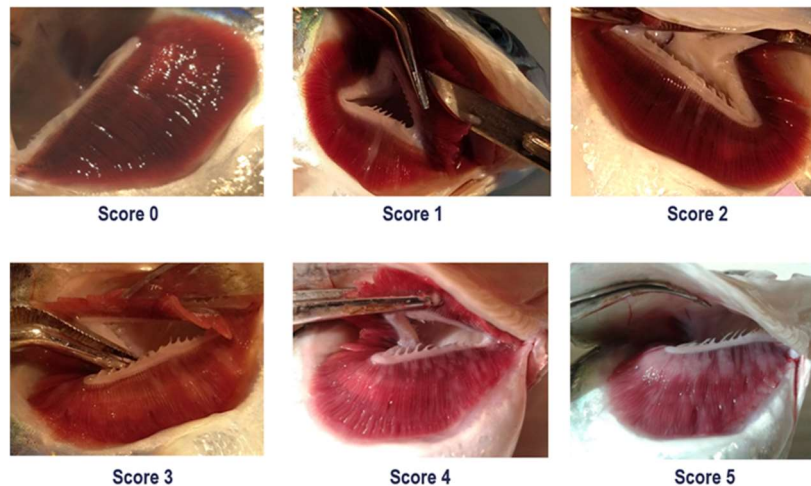
I Figur 14 gjengis hvordan gjellelokkskader vurderes i kategori 1-3 i Fishwell. Det brukes det samme bildet for å illustrere gjellelokkskade under grad 2 og 3 siden skalaen kun omfatter like stor grad av skade, men scoreøkning omhandler om den er ensidig (score 2) eller tosidig (score 3). Fisk med grad 3 ville ikke blitt brukt i forsøk. Det er vår oppfatning at skalaen er for lite nyansert, det finnes en del mellomstadier her mellom score 2 og 3. Ved Fishwellskalaen er skaden på score 2 og 3 like stor, men akkumulert verre pga kan ses på begge sider. Fisk ved score 2 kan ikke benyttes til gjelleforsøk (bare fisk med gode gjeller bør benyttes til gjelleforsøk).

Som oftest vil man ikke finne fisk med deformiteter i forsøk (unntatt i store grupper som er produsert for forsøk) ettersom dette utgjør et viktig eksklusjonskriterium for fisk i forsøk. Hos fisk er deformitetene som oftest knyttet til kjeve, ryggstøyle eller gjellelokk. Er deformitetene beskjedne som noe kortere snute eller gjellelokk kan fisken benyttes i de fleste forsøk. Fisk med krøllede gjellelokk-kanter benyttes i forsøk som vanlig da man ikke vet betydning eller årsak, men man tror dette kan ha sammenheng med fornyet vekst av gjellelokk etter en periode med forkortning. Ryggstøyledeformiteter vil imidlertid føre til avliving i de aller fleste tilfeller. Fisk med ryggdeformiteter vil ikke inkluderes i forsøk dersom det oppdages i forkant, og fisk med slike lesjoner vil også avlives dersom det oppdages underveis i forsøk. Dette fordi fisk med ryggstøyledeformiteter har vanskelig for å opprettholde naturlig svømmeadferd og har ofte tilleggspolproblemer i form av at fordøyelsesprosessene påvirkes. Fisk med gjellelokkdeformiteter kan derimot kunne benyttes i de fleste forsøk, foruten gjelleforsøk eller forsøk som krever høy svømmevite.



Gjellescore:

Amøbegjellesykdom er forårsaket av den parasittiske amøben *Paramoeba perurans*, og sykdommen kan ses som hvite slimflekker på fiskens gjeller. Histologisk vil man kunne se sammenvoksing av gjellefilamenter og tap av respiratorisk overflate. Sykdomsutviklingen og hvor hardt rammet en fisk er kan vurderes ut fra en skala på 0-5 [10] (Figur 15). Et godt mål på hvor rammet en fisk er foruten denne skalaen er andelen gjelleflater uten gjellescore (frie flater) [11]. Ved score 3 går andelen frie flater ned, og det er så å si ingen frie flater på dette tidspunktet, og dette tyder på at fisken er hardt rammet av sykdommen [11]. HE settes derfor til score 3.



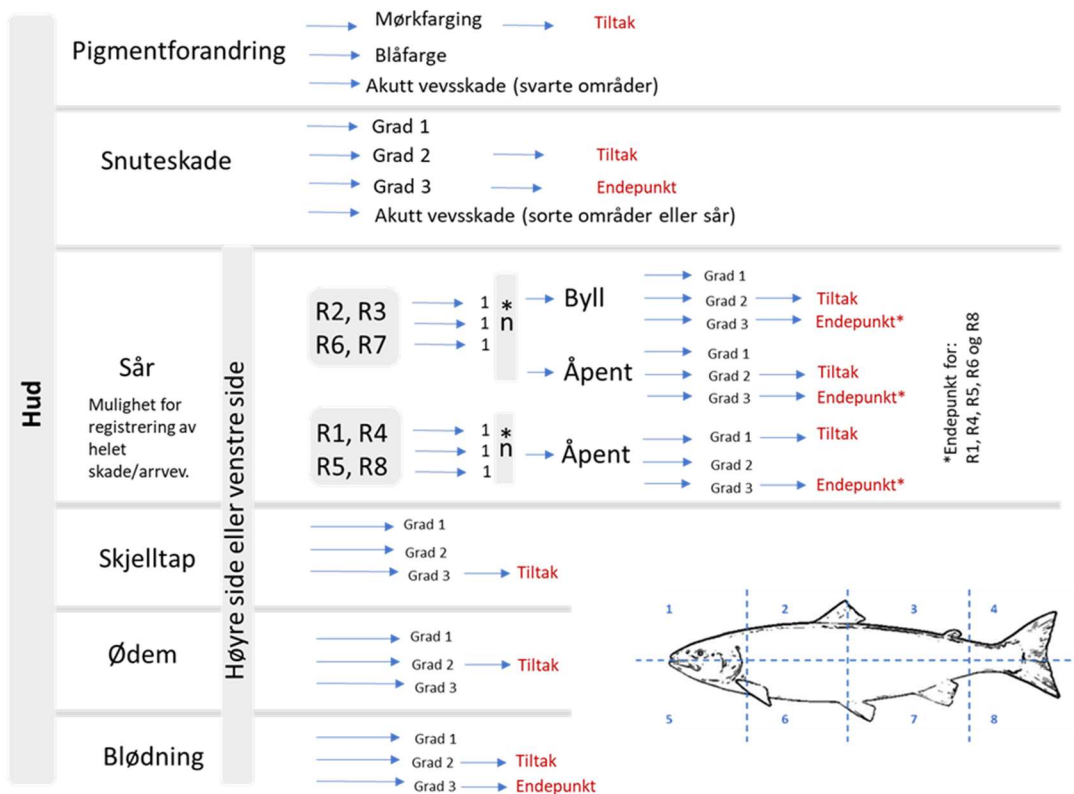
Figur 15. Eksempler på gjellescore i kategori 0-5 [10]. Score 3 settes til HE da andelen frie gjelleflater på dette tidspunktet er lav.

Avmagring:

Om fisken er tynn kan dette ofte ses gjennom inspeksjonsvinduet. Det beste er å følge opp med jevnlig snittvekter av et utvalg bedøvede individer underveis i langvarige forsøk der en kun får målt vekt og lengde i forbindelse med uttak eller annen forsøksaktivitet. Fisk med score 3 i Fishwell- skala for avmagring ville vært tatt ut av forsøk og avlivet. Ofte vil ikke en reduksjon i kondisjonsfaktor være eneste kriterium for avlivning, men kombineres med andre observasjoner, for eksempel om fisken svimer også.

Vurdering av tiltak og HE for skader og lesjoner knyttet til hud som skjelltap, sår- og hudskader, snuteskader, hoppeskader, ødem og blødninger kan ses i figur 16.





Figur 16. Vurdering og tiltak for skader og lesjoner knyttet til hud. Inndelingene i figuren her er forslag til valgnivåer og kategorier / underkategorier som kan legges inn i eMar. Man velger først om det er snakk om pigmentforandringer, snuteskade, sår, skjelltap, ødem eller blødning. For sår bør det registreres om det er et helet sår (arrvev). For pigmentforandringer kan man velge om det er snakk om mørkfarging, blåfarging (ses ofte under bedøvelse) eller om det er en akutt vevsskade (svarte områder eller sår). Tiltak vil være ved mørkfarging. For snuteskade kan man velge grad 1-3 hvor det gjøres tiltak ved grad 2 og endepunkt vil være individer med grad 3. For sår, skjelltap, ødem og blødning kan det være en fordel å kunne registrere hvilken side av fisken lesjonen kan ses. For sår vil man så kunne velge hvilken region (region 1-8, R1-8) såret kan ses i (se avsnitt om sår s. 20 og figur 18). Sår og byller i region 1, 4, 5, 6 og 8 vil være mer alvorlig enn om de kan ses i region 2 og 3, dette grunnet nærhet til bukhule, hode og finner viktige for å opprettholde normal svømmefunksjon (hale og brystfinner). Man vil så for hvert sår (her merket som n) ha muligheten for å registrere om det er en byll eller åpent sår. Sår og byll vurderes i grad 1-3 der grad 2 for byll vil være tiltak og grad 3 endepunkt for R1, 4, 5, 6 og 8. For åpne sår vil disse kunne kategoriseres i grad 1-3 der man vil gjøre tiltak ved grad 1 for R1, 4, 5, 6 og 8 og endepunkt ved grad 3. For skjelltap, ødem og blødning vurderes ved grad 1-3. For skjelltap kan tiltak gjøres ved grad 3, for ødem og blødning ved grad 2 og grad 3 vil være endepunkt for blødninger.

Skjelltap

Skjelltap kan lett observeres fra siden gjennom inspeksjonsvinduet.

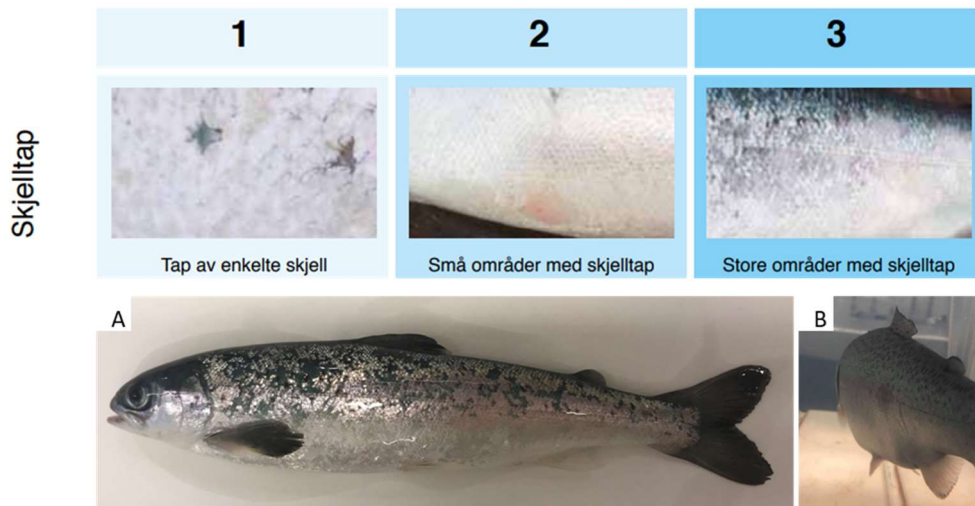
Ved mye skjelltap bør en ta forhåndsregler ved evt håndtering av fisken (bruke sedasjon ved håndtering for å roe fisken, og for eksempel ha lavere salinitet 25 ‰ den første tiden etter overføring til nye kar for å redusere sjansen for sår). Dette fordi smolt på sjøvann er svært sensitive for håndtering, og får lett skjelltap, særlig ved bruk av håv.



Det er viktig å være obs på at fisk med stor andel skjelltap likevel kan klare seg fint dersom det beskyttende slimlaget er intakt. Skjelltap som individuell parameter har derfor ikke like stor verdi mtp HE, men må vurderes sammen med andre observasjoner. Det er ikke sikkert skjelltap i seg selv er det mest relevante, men mer kroppens reaksjoner på skjelltapet (for eksempel ødem) kan være viktigere. Fisk med spredt skjelltap vil altså kunne brukes i forsøk.

Skalaen som oppgis for skjelltap i Fishwell er ikke så egnet for vurdering av skjelltap i forsøk. Tap av individuelle skjell burde vært Score 0 og ikke 1 da det er vanlig å ha noe skjelltap. Score 2 er i Fishwell 10% skjelltap. Fisken vil ikke tas ut og avlives, men 10% skjelltap av fiskens overflate er et stort område.

Fisk med mye skjelltap (Figur 17) vil kunne brukes i noen typer forsøk, men ikke i luseforsøk. Fisk med ødem vil ikke brukes i luseforsøk, men kan for eksempel brukes i gjelleforsøk om det ikke virker som om områder med små ødem utvikler seg. Skjelltap i seg selv bør altså ikke være et endepunkt, men vurdert sammen med systemiske reaksjoner fra kroppen (inflammasjon, ødem og hevelser) kan det være et endepunkt. Skjelltap må også sees i forhold til slimtap.



Figur 17. Øverst vises skala fra Fishwell for vurdering av skjelltap. A) Laks med omfattende skjelltap B) Fisk med skjelltap/hudskade av mindre alvorlighetsgrad. Fisken i B) ble holdt i et enkeltkarsystem [12] og hadde mistet et område med skjell etter å ha vært for nær utløpet. Dette var en tilstand fisken levde bra med, den fikk ingen infeksjoner eller annet.

Sår

Som forsøksdyrtilstand kan man noen ganger befinne seg i etiske dilemmaer når det oppstår sår i en fiskegruppe. Hva gjør man når enkeltfisk i kar har sår, skal man da bedøve alle fiskene i karet for å ta ut enkeltindivider? Dette er et dilemma i forhold til stresspåvirkning av de andre fiskene i karet, da laks er en fisk som blir lett stresset, og det da ofte medfører at flere fisk får sår. Samtidig bør individer med sår tas ut og avlives. Dette kan løses ved såkalt hyppig observasjon og iverksetting av tiltak. Oftest løses dette ved at man framskynder en sorteringsaktivitet eller annet slik at man får fatt i enkeltindividene med sår. Samtidig kan man da i tiden etterpå oppleve at flere fisker får sår og det er ikke alltid lett å



vite om sårutviklingen kunne vært unngått om fiskegruppen hadde fått gå i fred. Ved slike situasjoner er det viktig å ta i betraktning den trolige årsaken til sårene, er sårene trolig forårsaket av en bakteriell infeksjon, av enkelte miljøparametere (for eksempel for mye oksygenering), synes sykdomsagens å spres mellom fiskene i karet, oppfører fiskene seg ellers normalt?

Sår bør behandles utfra om det er et betent eller ikke betent, aktiv eller helet skade. Sår kan oppstå i produksjon eller forsøk, og det er viktig å forsøke å finne årsaken til sårene, det trenger ikke ha mekanisk årsak, men kan vel så ofte være tegn på et vannmiljøproblem eller en bakterieinfeksjon.

Det er viktig å følge med på sårskader. Sår representerer et brudd i fiskens ytre barriere og kan øke faren for septikemi (virus eller bakterier), altså at mikrober får tilgang til blodbanene og spres i hele kroppen. Septikemi med tilhørende fatigue og vevsskader forårsaket av infeksjonen oppleves som svært belastende for fisken. Fisk som er viremisk, spiser ikke, men svimer/ sturer mens fisk med sår veldig ofte tar til seg mat, hvilket kan tyde på at septikemi er en mer belastende tilstand for fisken.

Hvordan skal sår og alvorlighetsgrad måles? Er det ut fra antall, plassering, størrelse i diameter eller ut fra dybde (om muskel er blottlagt eller ikke)? Skal man oppgi én av disse parameterne, alle eller en kombinasjon av disse? Vurdering og tiltak knyttet til HE er oppgitt i Figur 16.

Sår er vanskelig å gradere ettersom de varierer veldig i størrelse og utseende. Enkelte sår kan utvikle seg fort mens andre tar lengre tid for å utvikles, og det er også uforutsigbart hvor store sår fisken kan «leve med» uten å være plaget av det i stor grad. Et lite sår som blør, kan for eksempel også gro bedre enn et stort sår som ikke blør.

Det er også eksempler på at forsøk med høy belastningsgrad hvor fisken må gå en relativ lang periode med sår for å skille ulikheter i sårpatologi forårsaket av ulike bakterieisolater. Blottlagt muskel kan da alene ikke være punkt for avliving, men må sammenstilles med for eksempel adferdsendringer. Vurderinger opp mot type forsøk er derfor spesielt viktig.

Scoreskalaen for sår fra Fishwell er lite egnet for forsøk med sår (Figur 19) (den engelske utgaven av posteren inneholder litt flere detaljer som at på score 1 skal såret være under 1 cm i diameter og det subkutane vevet være intakt- ingen muskel synlig. Ved score 3 er sårene alvorlig med muskel ofte eksponert, samt størrelse ≥ 1 cm). For at skalaen skal være egnet for forsøksfisk bør det inkluderes et høyere detaljnivå og flere undergrupper av sår. For vurdering av HE: store sår vil være sår større enn 1 cm i diameter hos presmolt og fisken bør da avlives [6]. Men sårstørrelsen må ses i forhold til fiskestørrelsen og er også avhengig av hvor på kroppen såret er. Sår i munnregion (Region 1) (se Figur 16 og 18), eller ved brystfinne (Region 5 og 6) er å anse som spesielt alvorlig ettersom kjevesår vil kunne påvirke føeropptak mens sår i brystfinnerregion kan trenge gjennom til bukhulen.

Scoring av fisk med sår i forsøk

Hensikten med dette dokumentet er å sikre god dokumentasjon av sårutviklingen i smitteforsøk. Både underveis i forsøket og ved avslutning av forsøket skal alle fiskene scores i henhold til skjemaet under.

¹**Plassering:** Hver side av fisken (høyre og venstre) deles inn i 8 soner – benevnes f.eks.

«3,7 V» for sår som dekker område 3 og 7 på venstre side av fisken.

²**Størrelse:** Diameter (om aktuelt), eller lengde og bredde på såret, evt. differensiering mellom kjøttår og omkringliggende «sårsoner» med f.eks. skjelltap.

³**Form:** Jevnt eller ujevnt? Med ujevne sår menes sår hvor diameter eller lengde/bredde ikke gir et fullgodt bilde av sår-areal.

⁴**Dybde:** Overfladisk, sår (inkl. kjøttår), sår med eksponert muskel

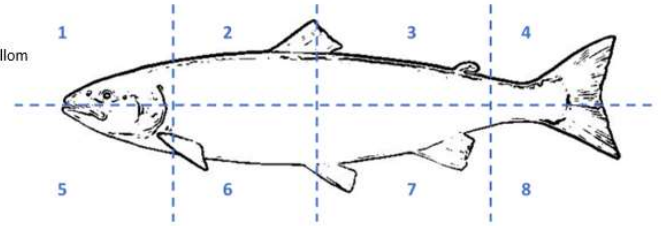
⁵**Farge:** Ved avvikende farge i forhold til forventet/uaffisert område. F.eks. svart eller hvit

⁶**Blødende:** Dersom det er aktiv blødning fra sår når fisken tas ut av vannet.

⁷**Sammenflytende:**

⁸**Skjelltap:** Beskrivende for overfladiske sår evt. sårsoner (se ²Størrelse).

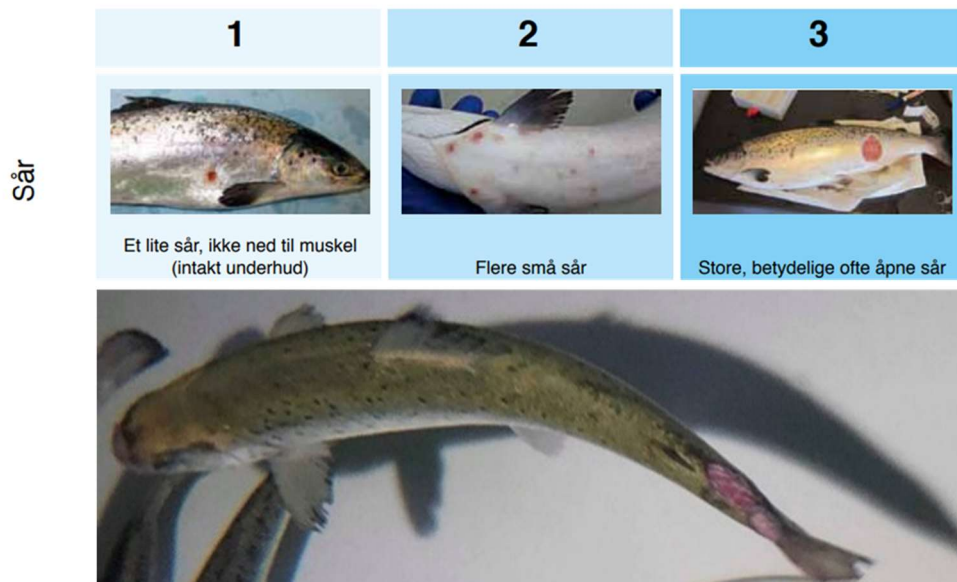
⁹**Ødem:** Beskrivende for overfladiske sår evt. sårsoner (se ²Størrelse).



Dato:					Personell:										
Fisk nr	Død? Svimer? Uttak?	Kar og merking	Vekt	Lengde	Ant. sår	Sår nr	Plassering ¹	Størrelse ²	Form ³	Dybde ⁴	Farge ⁵	Blødende ⁶	Sammenflytende ⁷	Skjelltap ⁸	Ødem ⁹
1	Død	K1 AF	63	16	3	1	V 2	1x1 (3x3)	Jevn	Muskel				Ja	Ja
						2	V 3,7	3x6	Oval	Muskel					
						3	H 2,3,6,7	2,5 x 5	Oval	Overfladisk	Svart				Ja
2	Svimer	K1 VM	61	16	1	1	V 3,7	3x3	Jevn	Muskel		Ja			

Figur 18. Skjema fra ILAB for scoring av sår i ulike regioner på fisken (region 1-8, R1-8). Skjemaet muliggjør registrering av plassering av sår, antall, utseende og gradering av alvorlighetsgrad. Eksempler på utfylling av skjemaet kan ses med blå skrift.

Halefinnesår (Figur 19) er ofte så alvorlige at fisken bør avlives da det påvirker fiskens evne til å utvise naturlig svømmeadferd. Det kan gå fint å benytte fisk med småsår (for eksempel på buk) med mindre fisken skal smittes med sykdomsagens eller lakselus som kan påvirke huden.



Figur 19. Fisk med halefinnesår

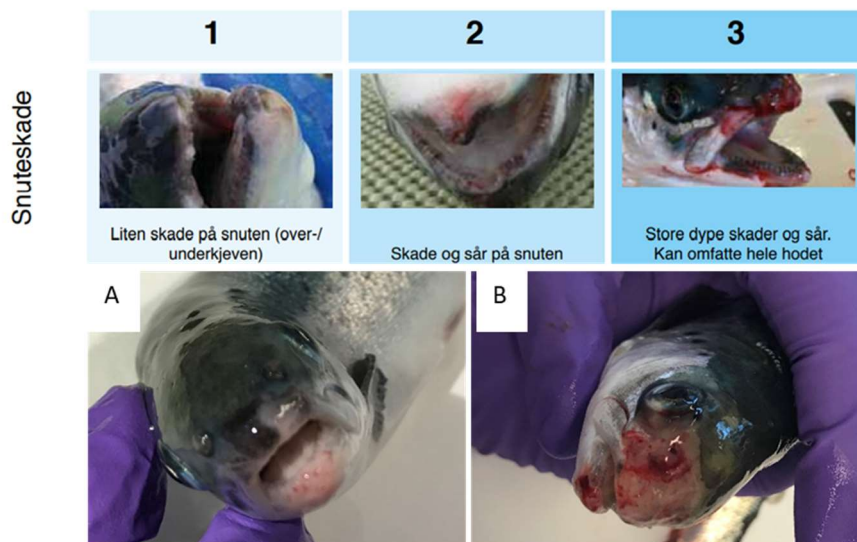
Snuteskader

Snuteskader (Figur 20) kan være forårsaket av mekanisk skade fra at fisken har kommet borti karvegg eller feks fôrautomat, eller fra å ha skrapet mot bunnen (for eksempel når den forsøker å spise pellets fra bunn- her er det viktig å passe på at fisk ikke vokser seg for store for karet, da oppstår slike skader lettere). Hvis pelletstørrelsen er for liten i forhold til fiskestørrelse kan dette gjøre at fisken skrapet mot bunnen og får snuteskader. Det er derfor viktig når man observerer snutesår at man vurderer karforholdene, fiskestørrelse og fôringsregime for å se om noe kan forklares ved det.



Snuteskader kan også ses i forbindelse med luseforsøk [13]. Fisk med lus klør og hopper mye og kan da lettere skade seg mot for eksempel karvegg.

Fishwellskala for snuteskader: Grad 3; fisk ville blitt avlivet. Grad 1 og 2 kan ikke ses før fisken tas ut av karet og undersøkes (dvs på observasjonsnivå 3). Det er viktig å være obs på at sår i snuteområdet kan påvirke fiskens spiseadferd.



Figur 20. Snuteskader hos laks. Fishwell skala for snuteskår vises øverst, mens en fisk med vevsskade (svart område på snute) kan ses i A) og en fisk med blodig snutesår (HE) kan ses i B).

Snuteskader eller sår kan ses etter varmtvannsbehandling når denne er gjennomført i håv. Fisken forsøker å svømme ut av håv og presser derfor snute hardt mot håvmaskene. Sår kan ses som små svarte merker på snute (Figur 20A). Slike små snuteskader kan heles, men kan også utvikle seg og bli blodige sår (Figur 20B).

Hoppeskader på hodet

Laks kan noen ganger (særlig kort tid etter innsett i nye kar) hoppe og slå hodet mot karlokk, automat eller andre strukturer. Dette kan ofte ses som små (ca 1 cm) svarte flekker på hodet (Figur 21) og noen ganger kan man observere fisk svime (svømmer i spiral eller opp ned/ på siden) etter å ha slått hodet. Det kan bli nødvendig å ta individer som utviser merkelig svømmeadferd, ut av forsøket ettersom disse individene har blitt påvirket nok til å «bli slått i svime». Dersom man gir slike fiskegrupper ro vil de



imidlertid komme seg kjapt og kan brukes i forsøk etter en uke eller to. Merkene på hodet kan ofte vedvare en ukes tid, men vil bli gradvis svakere.



Figur 21. Laks med hoppeskader på hodet som kan ses som svarte flekker på hodet (ca 1cm)

Hudskader

Grad 2 i Fishwells skala for vurdering av hudblødninger (Figur 22) er ikke et egnet endepunktskriterium. Det vil være vanskelig å oppdage denne type skader uten at man tar fisken ut av karet (dvs observeres på nivå 3). Men hudskader av denne graden kan oppdages for eksempel under veiing. Score 2 vil indikere at man må justere for parametere som er viktige for karmiljøet, som å undersøke tettheten (biomassen) i karet eller redusere saliniteten for å se om det kan hjelpe på situasjonen. Man kan også gjøre justeringer i strømhastigheten, temperatur etc.

Grad 3 i Fishwells skala for hudblødninger: her nevnes ødem for første gang under dette scoret. Ved dette punktet ville fisken blitt tatt ut av forsøket, dette er en endepunksregistrering avhengig av størrelse og omfang.

Noen ganger kan man se et markant skille i pigmentering av fisken der fisken har fått en endret farge på halen fra fettfinnen og bakover (mørkfarget/svart). Dette har vi enkelte ganger observert hos fisk som har vært injisert og kan innebære at fisken har fått en nerveskade.

Ødem

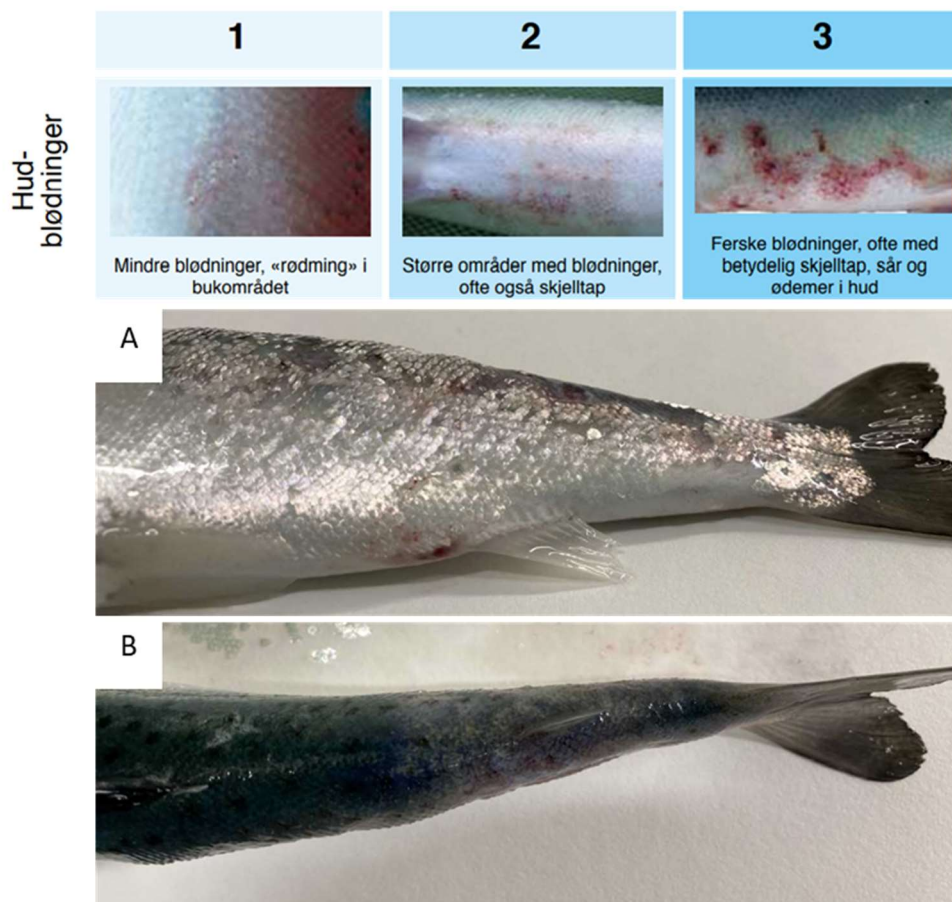
Ødem er karakterisert av hevelse i huden, skjellene løftes og spiler utover grunnet væskeopphopning i underhuden. Ødem (Figur 22) observeres oftest på sjøsatt fisk som er større enn 50-60 g, og oftest på bakre del av fisken, og ved ryggfinne. Hos pattedyr kan dette skyldes en allergisk reaksjon og er ofte en lokalisert, ikke generalisert respons.

Det er vanskelig å angi en eksakt størrelse på ødem for om det kommer til å heles eller utvikles da dette ikke bare er avhengig av størrelsen på området som er påvirket, men også av bakenforliggende prosesser. Men som en generell tommelfingerregel kan man si at dersom ødemet er på størrelse med kronestykke (2 cm i diameter) eller mindre så kan det heles og fisken kan klare seg fint videre. For å starte helingsprosessen bør en senke saliniteten (<25 ‰) og fisken må få tid og ro. Dersom ødem utvikler seg til å bli mer uttalt kan det medføre brudd i evnen til osmoregulering. Likeledes kan brudd

i osmoreguleringsevnen være årsak til utvikling av ødem. Bakenforliggende årsaker til hvorfor ødem oppstår er uklar og trolig kan ulike og sammensatte faktorer spille inn.

Fisk med ødem vil ikke benyttes i luseforsøk eller for eksempel behandlingsforsøk ettersom det er viktig at fisken er best mulig rustet for påkjenningen en slik smitte eller en behandling vil utgjøre. Fisk med småsår eller grad 2 i Fishwell vil ikke benyttes i forsøk.

Årsak til ødem i fiskegrupper er komplekse og ender ofte med at fisk må avlives eller ikke kan inkluderes i forsøk, og dette er et godt eksempel på en av fiskens hverdagslidelser som man ikke har nok kunnskap om.



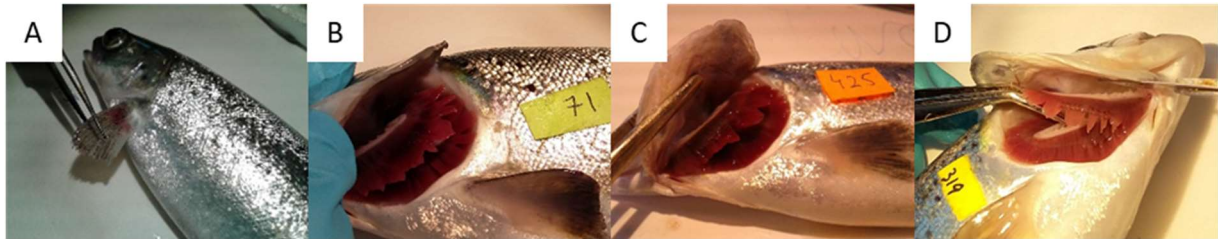
Figur 22. Fisk med ødem sett fra siden (A) og fra ryggviden (B). Legg merke til utstående skjell, ujevn profil, skjelltap, små blødninger og begynnende sår. Fishwell-skala for hudblødninger er vist øverst.

Blødninger

Blødninger hos fisken (Figur 16 og 23) kan forekomme de fleste steder i kroppen. Ved akutt blødning i gjeller som følge av toksisk eksponering av et stoff eller mekanisk skade kan man se blod i vannet og at det siver ut fra gjellelokk. Fisken vil ofte da også ha kraftige gjellelokkbevegelser («gulping»). Blødninger i gjeller som har et karakteristisk mønster (ser ut som om gjellefilamentene har blitt klippet



av) har blitt observert i forbindelse med hydrogenperoksidbehandling (Figur 23B-D). Av ytre blødning er det kanskje vanligst å se blødninger i brystfinner eller brystfinnebasis (Figur 23A), samt bukfinner og punktblødninger på buk. Punktblødninger er også vanlig å se i forbindelse med skjelltap. I forbindelse med øyelesjoner kan også ofte blødninger ses, eller ved nylig oppstått finneslitasje. Det kan ofte ses blødninger i forbindelse med lakselusinfestasjoner. Av indre blødninger så kan denne være generell med småblødninger og blodig bukveske eller mer punktvis og lokalisert, for eksempel i tilknytning til tarm eller bukhinne.

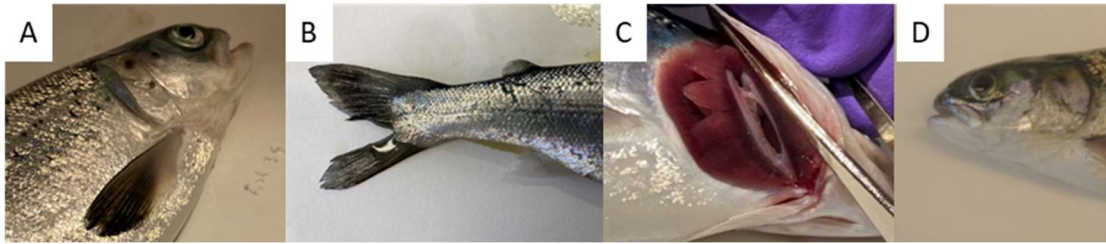


Figur 23. Laks med ulike blødninger. (A) En fisk med blødning i brystfinnebasis. B)-D) Eksempler på skader fra H_2O_2 behandling i smitteforsøk [14]. B) Fisk med blødning i gjellefilamenter 24t etter behandling med hydrogenperoksid (900 ppm i 40 min) C) Gjellefilamenter har falt av etter blødning/koagulasjon 21 d tidligere etter en behandling (1400 ppm i 20 min) D) Gjellefilamenter har falt av etter blødning/koagulasjon 8 d tidligere etter en behandling (900 ppm i 40 min). Dette kan nesten se ut som «avklippede» filamenter der gjellebuen deler seg i hemibrancher. NB bildene er ikke fra samme fisk eller forsøk. Foto: ILAB

Diskusjon

Fiskens hverdagslidelser

Vi har i senere tid ervervet mye kunnskap om en rekke tilstander og sykdommer som kan ramme fisk. Mange av disse tilstandene vil i seg selv ikke utgjøre et vesentlig problem eller være alvorlig nok til at fisken blir syk, dør eller lider, - men det kan likevel være plagsomt for fisken og føre til nedsatt helse eller ytelse. Hos mennesker kaller man ofte dette hverdagslidelser (for eksempel utslett, eksem, allergi, halsbrann og tørre og rennende øyne), fisken har også slike lidelser. Dette er noe vi ønsker å belyse, for om man skaffer mer datagrunnlag og kunnskap, kan man kanskje klare bedre betingelsene for fisken og eliminere en del slike tilstander. Eksempler på hverdagslidelser (Figur 24) er gjellelokkforkortning, finneslitasje, snuteforkortning, gjellelokkdeformiteter (for eksempel krøllede gjellelokk), små blødninger i øye og ødem. For disse lidelsene mangler man kunnskap om årsaksforhold og kartlegging av hvordan tilstanden påvirker fisken.



Figur 24. Eksempler på tilfeller av det som kan betegnes «fiskens hverdagslidelser». A) Fisk med gjellelokkdeformasjon (krøllete gjellelokk), B) Fisk med splittet hale, C) et individ med sammenvokste gjellebuer, og D) Fisk med forkortet overkjeve.

Fiskevelferdsovervåking og ny teknologi

Laks er en fiskeart som lett blir stresset under ulike håndteringer og det er klare fordeler med framskritt der en kan ta i bruk ikke-invasiv teknologi eller overvåking for å følge med fiskevelferd. I dag gjøres mange felt-operasjoner manuelt for fisk, som for eksempel telling av lus. Likevel ser man at det kommer stadig flere alternativer, som bruk av laserteknologi for å fjerne lus, automatisk lusetelling og automatisert, appetittbasert fôring. Et annet eksempel er planer for «velferdsstasjoner» (sensorstasjon) for fisk der individer undersøkes ved hjelp av bildegjenkjenning og individgjenkjenning og ut fra dette sluses videre til individoppfølging, for eksempel avlusing eller annen behandling (iFarm-prosjektet til Cermaq). Man kan altså følge hver enkel laks med maskinsyn, og det etableres en helsejournal per individ, og man sorterer til side fisk som skal følges opp. Dette reduserer behovet for håndtering av fisken og bidrar dermed til å styrke velferden. Det er grunn til å tro at denne type ikke-invasiv overvåking er noe man kommer til å se stadig mer av framover. Kamerateknologi for overvåking av fisk blir stadig mer viktig, og vil trolig bli enda viktigere i framtiden for daglig fiskevelferdsevaluering, også i forsøksfasiliteter, gjerne kombinert med datalæring. For noen fiskearter, som for eksempel leppefisker som er vist å være svært intelligente fiskearter og som kan lære seg komplekse mønstre, kan det være mulig at fisk kan trenes for inspeksjon (for eksempel å gå inn i en «velferdsstasjon»). For mus i forsøk er det allerede etablert en COST-aksjon på såkalt «Home cage monitoring» der man kan samle velferdsinformasjon fra dyrets eget hjemmemiljø.

eMar APP for vurdering av kliniske tegn og humane endepunkter i fiskeforsøk

For å dra nytte av ny teknologi for å vurdere fiskevelferd har AMC-Technology AS (eMar Digital AS) utviklet eMar, en dataløsning som omfatter app, web, mobil-web og dashbord. eMar er i utgangspunktet et generisk scoringssystem for ulike fiskearter som administrerer, aggregerer og holder status på fiskehelse i oppdrett og forskning. Utgangspunkt for eMar har vært implementering av Fishwell-skalaene med tilhørende bilder for standardisert scoring. I dette arbeidet vurderes egnetheten til ulike morfologiske skalaer for vurdering av kliniske tegn for fisk og hvordan skalaene kan vurderes opp mot det som bør være tiltakspunkter/ aksjonspunkter og akseptable endepunkter i forsøk med laks. **Hvilke av skalaene med tilhørende bilder som kan tas med for vurdering av HE samt forslag til oppbygning med ulike nivåer og kategorier/underkategorier i appen er diskutert her i rapporten og vist i [Figur 3](#), [10](#), [12](#) og [15](#).** I tillegg til de enkelte parameterne for tiltakspunkter og endepunkter for individer bør det være muligheter i appen for å kunne samle inn data for gruppen som kondisjonsfaktor og tetthet i karet (basert på vekt og lengdemålinger), appetitt, evt svimeradferd

og plassering i vannsøylen. Via et dashboard kan man ha tilgang til samlet data for forsøket, og det bør kunne sendes varsler for tiltakspunkt, basert på scoring, for eksempel ved vektnedgang i gruppen. Ved observasjon av sår i en gruppe kan man kanskje også legge inn sjekkpunkter (som hyppig observasjon, evt sykdomspåvisning, miljøparametere, håndtering etc). AMC Technology AS har konfigurert et dashboard som tillater sammenstilling av data for real- time grafisk visualisering og bedre oversikt over de ulike dataene innsamlet fra forsøket. Bruk av digital teknologi vil muliggjøre bedre innsamling av data fra forsøk, særlig å knytte for eksempel fotodokumentasjon til individinformasjon fra forsøkene og bidra til bedre kartlegging og innsamling av individuell data. På sikt kan dette også bidra til bedre forståelse av årsaksforhold knyttet til utvikling av for eksempel fiskens hverdagslidelser, som gjellelokkforkortning.

Referanser

1. European Commission, Directive 2010/63/EU and the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, European Commission, 2010.
2. Garber, J.C., et al., Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition, T.N. Academies, Editor. 2010, Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; National Research Council: National Academies Press p. 248.
3. OECD. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. 2019 [cited 2021 14 December].
4. Katsiadaki, I., et al., Dying for change: A roadmap to refine the fish acute toxicity test after 40 years of applying a lethal endpoint. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021. 223: p. 112585.
5. Franco, N.H., M. Correia-Neves, and I.A.S. Olsson, How "Humane" Is Your Endpoint?-Refining the Science-Driven Approach for Termination of Animal Studies of Chronic Infection. *Plos Pathogens*, 2012. 8(1).
6. Noble, C., Nilsson, J., Stien, L. H., Iversen, M. H., Kolarevic, J. & Gismervik, K. (2018). Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd. 312 pp.
7. Hendriksen C (2011). Humane endpoints in vaccine potency testing. *Procedia in Vaccinology* 5 (2011) 5, 221-226
8. Midtlyng PJ, Reitan LJ, Speilberg L (1996) Experimental studies on the efficacy and side-effects of intraperitoneal vaccination of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) against furunculosis. *Fish Shellfish Immunol* 6:335-350
9. Wall T & Bjerkås E (1999). A simplified method of scoring cataracts in fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 19(4), 162-165
10. Taylor RS, Muller WJ, Cook MT, Kube P, Elliott G (2009). Gill observations in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) during repeated amoebic gill disease (AGD) field exposure and survival challenge. *Aquaculture* 290: 1-8
11. Hytterød S, Bråthen Kristoffersen A, Darrud M, Kolstø S, Mo TA, Blindheim S, Eide S, Andersen L (2018). Standardisering av AGD- gjellescore. Enhetlig gjellescore basert på data fra eksperimentelle forsøk og oppdrettsanlegg for laks. *Vet inst rapport* 19- 2018, 23s
12. Hamre & Nilsen (2011). Individual fish tank arrays in studies of *Lepeophtheirus salmonis* and lice loss variability *Diseases of Aquatic Organisms* 97: 47-56
13. Hamre LA & Andersen L (2021). *Lepeophtheirus salmonis*. Chapter 23 in Fish Parasites- A Handbook of Protocols for their Isolation, Culture and Transmission. 5M Books, Essex, UK
14. Hytterød S, Andersen L, Hansen H, Blindheim SH, Poppe TT, Kristoffersen A, Mo TA (2017). AGD-behandlingsstrategier- Dose-respons-studier med hydrogenperoksid og ferskvann. *Vet inst rapport* 10- 2017, 50s