



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

NMBU Veterinærhøgskolen  
Institutt for basalfag og akvamedisin  
Seksjon for akvamedisin og ernæring

Fordypningsoppgave 2019, 20 stp.

Akvamedisin

## **Temporale makroskopiske og histopatologiske forandringer etter termisk avlusing hos atlantisk laks (*Salmo salar* L.)**

Temporal Macroscopic and Histopathological Changes  
following Thermic Delousing in Atlantic salmon (*Salmo  
salar* L.)

Lillian Marie Jørgensen  
Ingrid Harneshaug Rød  
Kull 2013

Øystein Evensen

# Innhold

Sammendrag .....	4
Definisjoner og forkortelser .....	5
Innledning .....	6
Materiale og metoder .....	14
Materiale .....	14
Metoder .....	14
Innfangning og avliving .....	14
Registreringer .....	14
Uttak av prøvemateriale .....	15
Histologisk preparering .....	16
Makroskopisk vurdering .....	17
Histologisk vurdering .....	18
Statistiske metoder .....	20
Resultater .....	21
Makroskopisk vurdering .....	21
Hud .....	21
Øye .....	23
Gjeller .....	25
Finner .....	30
Histologisk vurdering .....	30
Hud .....	30
Øye .....	37
Gjelle .....	39

Thymus .....	48
Oppsummering.....	49
Diskusjon .....	51
Hud.....	51
Feilkilder .....	52
Gjeller .....	53
Makroskopiske funn.....	53
Histologiske funn .....	54
Feilkilder .....	56
Øye .....	57
Thymus .....	58
Generelle feilkilder .....	59
Prøveuttak .....	59
Makroskopisk vurdering .....	60
Histologisk vurdering.....	60
Generaliserbarhet .....	61
Konklusjon .....	62
Takk til bidragsytere .....	64
Summary .....	65
Referanser .....	66
Vedlegg .....	70
Vedlegg makroskopisk vurdering .....	70
Vedlegg histologisk vurdering .....	74
Utskrift av databasen.....	81
Medforfattererklæring.....	90

## **Sammendrag**

Termisk avlusing var i 2018 den mest brukte avlusingsmetoden i Norge. Formålet med studien var å undersøke forekomst og utvikling av makroskopiske og histopatologiske forandringer i tiden etter denne behandlingen. Det har tidligere blitt hevdet at termisk avlusing forårsaker forandringer i ytre organer, og vi har derfor undersøkt øye, hud, finner, gjeller og thymus. Det ble tatt prøver fra 20 fisk før avlusing, og deretter fra 20 fisk ved fire ulike tidspunkt etter behandlingen (0 timer, 24 timer, 48 timer og 17 dager). Fisken ble fotografert og målt (lengde i centimeter) før prøveuttak.

Forekomsten og utbredelsen av hudblødning økte etter avlusing, men avtok i tiden etter. Det ble observert en sammenheng mellom blødning og økende fiskelengde, og det samme gjaldt for økt blodfylde i huden. Epidermal erosjon viste også signifikant forøket forekomst. Rett etter avlusing var forekomsten av makroskopisk gjelleblødning forøket, og i tiden etter avlusing økte forekomsten av gjellenekrose. Forkortet gjellelokk hadde effekt på forekomsten av begge parametrene. Andre observerte forandringer i gjellene ble videre klassifisert som akutte eller kroniske. Forekomsten av aneurismer økte etter avlusing, men det kunne i varierende grad angis signifikans for forekomsten av de ulike typene aneurismer.

Hudforandringene som ble observert vil representere et velferdsproblem, samt medføre utfordringer knyttet til at hudbarrieren er brutt. Gjellelesjonene vi observerte vil trolig, ved god vannkvalitet og tilstrekkelig tid, kunne avhele. Uttalte forandringer kan imidlertid tenkes å føre til respiratoriske og osmoregulatoriske forstyrrelser, og i ytterste konsekvens død. Undersøkelse av thymus og øye ga ingen konklusive funn, og det kan på bakgrunn av resultatene ikke konkluderes med om hvorvidt termisk avlusing forårsaker skade på disse organene.



## Definisjoner og forkortelser

Tabell 1: Definisjoner

<b>Aneurisme</b>	Blodfylt utposning av kapillær i sekundærlamell.
<b>Clubbing</b>	Hypertrofi, hyperplasi og/eller økt antall slimceller på tuppen av sekundærlamellene.
<b>Erosjon</b>	Henfall av øverste avflatet cellelag.
<b>Fusjon</b>	Sammensmelting av sekundærlameller.
<b>Ghost cell</b>	Forstørrede, eosinofile epiteliale celler med eosinofilt cytoplasma, men uten kjerne (1, 2).
<b>Hyperplasi</b>	Økt antall celler (3).
<b>Hypertensjon</b>	Forhøyet blodtrykk.
<b>Hyperton</b>	En løsning som inneholder flere oppløste partikler i forhold til en annen. Vann beveger seg over en biologisk membran og inn i en hyperton løsning (4).
<b>Hypertrofi</b>	Økning i cellestørrelse (3).
<b>Lifting</b>	Interstitielt ødem i rommet mellom de to lagene av lamellært epitel.
<b>Lus, bevegelig stadium (preadult 1 og 2, adulte lus)</b>	Parasittære stadier av lakselus, som beveger seg rundt på fisken, og spiser av fiskens hud, slim og blod (5).
<b>Lus, fastsittende stadium (chalimus 1 og 2)</b>	Parasittære stadier av lakselus, som sitter fast på fisken og spiser av fiskens hud, slim og blod (5).
<b>Lus, kjønnsmodent stadium</b>	Voksne stadier av lakselus, som formerer seg på fisken. Hver hunnlus kan produsere flere tusen egg, som etter klekking, vil frigjøre det første av tre frittsvømmende stadier (5).
<b>Nekrose</b>	Lokal vevsdød med følgende fargeforandring i vevet.
<b>Nociceptor</b>	Reseptor som aktiveres av stimuli som gir vevsødeleggelse, eller som vil gi vevsødeleggelse hvis stimuli fortsetter (6).
<b>Osmoregulering</b>	Prosessen i en organisme som dreier seg om å opprettholde et bestemt osmotisk trykk i kroppsvæskene, uavhengig av blant annet forandringer i vann- og saltinnholdet i miljøet (7).
<b>Petekkie</b>	Punktformet blødning, på 2-3 millimeter i diameter, som oppstår i hud og slimhinner (8).
<b>Resistens</b>	En medfødt eller tilegnet motstandskraft mot legemidler hos en organisme (9).
<b>Termisk avlusing</b>	Ikke-medikamentell overflatebehandling der laksen holdes i vann på 28-34 °C i 30 sekunder (1).
<b>Thermolicer</b>	Et gjennomstrømmingssystem hvor fisk pumpes, avsiles og føres gjennom et rør med oppvarmet sjøvann. Deretter avsiles varmtvannet, før fisken føres tilbake til merden (10).

# Innledning

## Norsk oppdrettsnæring

Fra en sped start på 1970-tallet, har atlantisk laks i dag blitt til Norges viktigste produksjonsdyr. I løpet av 2018 ble det slaktet totalt 1.25 millioner tonn laks (11), hvorav 1.10 millioner tonn ble eksportert (12) til en samlet eksportverdi på over 70 milliarder NOK. Produksjonen av atlantisk laks har dermed stor betydning for norsk økonomi.

Fiskehelse rapporten for 2016 og 2017 viser at de årlige tapstallene i sjøvannsfasen var omtrentlig 53 millioner laks. Tallene fra 2018 viser at tapene ligger omkring samme nivå som de foregående årene, hvorav fisk som døde utgjorde 87.2 % av dette (11).

Tap av laks i løpet av produksjonssyklusen rapporteres inn til Fiskeridirektoratet, og fordeles i kategoriene dødfisk, utkast, rømming og «annet». Dødfisk omfatter dødelighet som skyldes blant annet skader og sykdom, hvor smittsomme sykdommer utgjør den største tapsposten. Utkast er fisk som sorteres ut ved slakting, for eksempel på grunn av dårlig kvalitet. I sammenheng med denne studien er kategorien «annet» spesielt interessant, da den omfatter blant annet dødelighet som skyldes lusebehandling. I 2018 ble det meldt inn 6.0 % tap i kategorien «annet», og selv om dette er en tilsynelatende lav prosentandel, utgjør det et betydelig antall individer. Dødelighet regnes som en indikator for fiskevelferd, og dødelighet knyttet til behandling og annen håndtering er å anse som et alvorlig velferdsproblem (11).

## Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) og aktuelle behandlingsmetoder

Lakselus er en naturlig forekommende ektoparasitt på den nordlige halvkule som infesterer laksefisk i sjø. Under naturlige forhold vil interaksjoner mellom lus og laks forekomme relativt sjeldent, og det er dermed begrenset hvor høyt smittepress som kan bygge seg opp blant

villaksen. I dagens oppdrettssituasjon, hvor fisketettheten er høy, med opptil 200.000 fisk per merd, har lusene lett tilgang på verter. Muligheten blir dermed stor for å bygge opp et høyt smittepress, med mye lus, i områdene hvor det foregår produksjon av laks. Analyser av lusedata angir at 66 % av lusesmitten i et anlegg stammer fra egen fisk (intern smitte), 28 % stammer fra lusepopulasjoner i nabolokaliteter, mens det kun er 6 % som har ukjent opphav, trolig fra lus på vill eller rømt fisk. Det er dermed et poeng å holde lusetallene på anlegg lave, for å unngå intern smitte av fisken (13).

Lakselus har åtte livsstadier, og gjennomgår et skallskifte mellom hvert av disse. Utviklingstiden er temperaturavhengig, og går raskere ved høye vanntemperaturer. Stadiene som kan forårsake direkte skade på fisken er de fastsittende (chalimus 1 og 2) og bevegelige stadiene (preadult 1 og 2, og adulte lus). Lakselusen spiser hud, slim og blod av fisken, og omfanget av hudskader vil være avhengig av antall lus som sitter på fisken. Et stort antall lus vil kunne lage store sår, som videre kan føre til anemi, problemer med osmoreguleringen, sekundære infeksjoner og i verste fall død. Disse problemstillingene vil trolig ikke være aktuelle under norske oppdrettsforhold, ettersom *Forskrift om bekjempelse av lakselus i akvakulturanlegg* regulerer tillatt lusenivå på fisken. Formålet med forskriften er å redusere forekomsten av lakselus, både i akvakulturanlegg og på vill laksefisk, slik at skadevirkningene minimaliseres. Forskriften skal også bidra til å redusere og bekjempe resistensutviklingen hos lakselusen. I forskriften kreves det at tiltak for fjerning av lus iverksettes dersom det registreres over et bestemt antall kjønnsmodne hunnlus i gjennomsnitt per fisk i anlegget (14). Årsaken til at forskriften fokuserer på kjønnsmodne hunnlus skyldes potensialet for formering, ettersom ei hunnlus kan produsere opptil 11 eggstrenger per livssyklus, og hver av disse kan inneholde flere hundre egg (5).

Tradisjonelt har infestasjon med lakselus blitt behandlet med medikamenter, men i senere tid har lusene utviklet resistens overfor samtlige av tilgjengelige midler. I mangel på godkjenning av nye medikamenter, har man i stor grad gått over til å benytte ikke-medikamentelle metoder til avlusing. Tabellen under viser økningen i antall ikke-medikamentelle behandlinger fra 2014-2018, hvor termisk avlusing er den klart mest brukte metoden for fjerning av lus.

Tabell 2: Oversikt over fordeling av lusebehandlinger fra 2014-2018, hentet fra Fiskehelse rapporten 2018 (11)

	2014	2015	2016	2017	2018
<b>Termisk</b>	3	36	683	1244	1370
<b>Mekanisk</b>	38	34	331	279	469
<b>Ferskvann</b>	1	28	88	95	102
<b>Annet</b>	136	103	77	55	76
<b>Sum</b>	178	201	1179	1673	2017

Spørreundersøkelsen gjort i forbindelse med Fiskehelse rapporten 2018 viste at termisk avlusing fikk en høyere score på akutt dødelighet enn de andre avlusingsmetodene. Erfaringer kan tyde på at fisk som kolliderer i vegger i behandlingskammeret er vanligere ved termisk enn ikke-termisk, mekanisk avlusing. Dette skyldes muligens en kraftigere panikkatferd hos fisken når den utsettes for varmt vann. Samme spørreundersøkelse viser at fiskens helsestatus før behandling er avgjørende for hvor godt fisken tåler behandlingen. I tillegg er hvordan behandlingen gjennomføres, samt sultetid av fisken, viktige momenter (11).

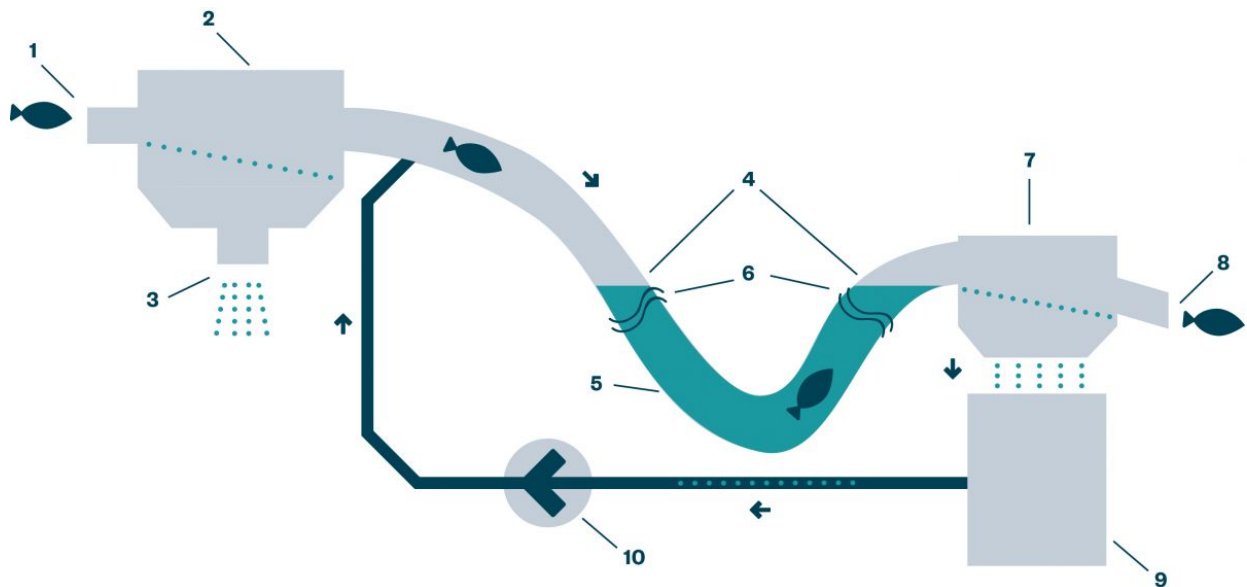
### **Termisk avlusing/Thermolicer**

Stadig økende bruk av ikke-medikamentelle behandlingsformer har flere fordeler, blant annet at det reduserer resistensutviklingen mot medikamenter, i tillegg til at det begrenser forurensing av miljøet. Termisk avlusing baserer seg på kunnskap om at lakselus tåler varmt vann dårligere enn det laksen gjør. På grunn av lusens størrelse vil den mye raskere varmes opp til skadelige

temperaturer enn det laksen vil, og dermed løsne fra fisken (1). Lusen vil deretter filtreres ut fra behandlingsvannet, og destrueres.

I forkant av hver ikke-medikamentelle avlusing skal veterinær eller fiskehelsebiolog gjøre en vurdering av fiskehelsen i merdene som skal avluses, for å sikre at fisken er frisk nok til å tolerere påkjenningene. Før behandlingen starter trenges fisken sammen i merden, og pumpes deretter ombord i behandlingseenheten. Fisken transporteres videre til behandlingskammeret, hvor vannet vanligvis holder 28-34 °C. Temperaturen på behandlingsvannet avhenger av blant annet sjøtemperaturen, lusenivå på fisken, observert avlusingseffekt og fiskehelsen. Fisken holdes vanligvis i behandlingskammeret i 30 sekunder. Temperaturintervallet 28-34 °C er valgt da det i laboratorieforsøk har blitt vist at laks kan overleve slike temperaturer i en kortere periode. Det er imidlertid andre forsøk som konkluderer med at temperaturtoleransen til laks er betydelig lavere, og smerteaspektet hos fisken er ikke tatt med i betraktningen ved fastsettelse av toleransegrensene. Etter opphold i varmtvannskammeret, blir fisken pumpet ut av kammeret og varmtvannet siles av, før fisken deretter pumpes tilbake til merden (1, 15).

Fisken som ble undersøkt i denne studien var av slakteklar størrelse, og ble behandlet med Thermolicer. Det ble brukt en behandlingstid på 30 sekunder, og en vanntemperatur på 34.5 °C. Sjøtemperaturen på behandlingstidspunktet var 10.3 °C.



Figur 1: Skjematisk fremstilling av Thermolicer (16)

1. Fisken føres inn Thermoliceren etter pumping
2. Vannseparasjon
3. Sjøvann blir filtrert og sluppet ut
4. Fisken utsettes for lunkent vann (28-34 °C)
5. Behandlingsløyfe
6. Vannoverflate
7. Separator for behandlingsvann
8. Fisken forlater maskinen
9. Oppvarmet vann sirkuleres til vanntanken for filtrering, lufting og oppvarming
10. Behandlingsvannet pumpes tilbake til behandlingsløyfen

Produsentene av utstyr beregnet til termisk avlusing har tidligere reklamert med at metodene er både miljøvennlige og skånsomme for fisken. Metodene har imidlertid vist seg å ha klare svakheter, spesielt med hensyn på fiskehelse og fiskevelferd (1). Allerede under Frisk Fisk-konferansen i 2015 ble det fremlagt en rapport fra Veterinærinstituttet som konkluderte med at

termisk behandling er en fysisk påkjenning for laksen, og at man risikerer høy dødelighet dersom fisken ikke har god helse før behandlingen. Dette har ført til at produsentene av Thermolicer blant annet har utbedret pumpesystemet, som tidligere medførte lang trengingstid (17). Hvor lenge fisken trenges er en kjent risikofaktor ved avlusing, da fisken opplever dette som meget stressende, og det er risiko for mekanisk skade på blant annet gjeller, finner, øyne og hud (11).

### **Undersøkte organer**

Det har tidligere blitt hevdet at termisk avlusing gir patologiske forandringer i ytre organer (1), og i denne studien har vi derfor valgt å fokusere på forandringer i øye, hud, finner, gjeller og thymus.

#### *Øye*

Øyne hos fisk er anatomisk svært like øyne hos pattedyr, og har samme funksjon (18). Normalt syn er blant annet viktig for å kunne orientere seg i omgivelsene, og for fôropptak. Øynene er spesielt utsatt under håndtering, både på grunn av fare for uttørking og mekanisk påført traume. Fiskens øyne kan skades på flere måter, men mekanisk forårsaket skade er det vanligste. Dette skyldes blant annet øynenes posisjon, ettersom de stikker delvis ut fra hodet, og at fisken ikke har øyelokk eller tårevæske for beskyttelse (19).

#### *Hud*

Intakt hud, skjell- og slimlag utgjør en viktig barriere mot patogener i miljøet. Skader påført i forbindelse med håndtering kan føre til svekkelse av denne barrieren. Selv en liten skade, som skjelltap, kan fungere som inngangsport for patogener, mens større brudd på hudbarrieren vil

kunne medføre osmoregulatoriske problemer for fisken. Store hudskader vil være en stor velferdsmessig utfordring, og vil kunne medføre økt dødelighet (19, 20).

### *Finner*

Finneskade og -slitasje er velkjent hos fisk i oppdrett, og er definert som en tilstand hvor det er varierende grad av skade på epidermis, dermis og finnestrålene eller hvor disse har redusert størrelse. Det er trolig flere årsaker til at finneskader oppstår i oppdrett, blant annet aggressiv atferd og mekanisk slitasje. Ved aggressiv atferd, hvor laksen napper i hverandres finner, er ryggfinnen mer utsatt enn brystfinnene. Finneskade kan i ekstreme tilfeller påvirke fiskens svømmeevne og fôropptak (21). I NOFIMAs bok om velferdsindikatorer for oppdrettslaks, klassifiseres finneskader i tre hovedtyper, herunder erosjon, splitting og fortykning. Dette kan resultere i blødninger i finnevevet, og representerer en inngangsport for patogener, i tillegg til at det vil oppleves som smertefullt for fisken. En finneskade kan også klassifiseres som aktiv eller helbredet, hvor helbredede skader ikke vil representere et like stort velferdsproblem som aktive sår (19).

### *Gjeller*

Gjellene har flere viktige fysiologiske funksjoner; de står for gassutveksling mellom blod og vann, spiller en viktig rolle i osmoregulering, pH-regulering og hormonproduksjon. I tillegg har gjellene strukturer som har en funksjon i fiskens immunforsvar (11, 19).

### *Thymus*

Thymus hos pattedyr og laksefisk viser store likheter i funksjon. Det er i dette organet utdannelsen av T-celler finner sted, og thymus spiller derfor en nøkkelrolle i utviklingen av immunsystemet og fiskens immunresponser. T-lymfocytter har også en viktig funksjon i det



humorale immunsystemet, hvor T-hjelpeceller inngår i stimuleringen av B-lymfocytter og videre antistoffproduksjon. T-cellene er dermed også viktig ved utvikling av immunitet etter vaksinasjon (22, 23). Skader i thymus kan derfor antas å påvirke fiskens immunitet og motstandskraft mot infeksjon (1).

### **Formål med undersøkelsen**

Hovedformålet med denne studien var å undersøke om termisk avlusing forårsaket påvisbare makroskopiske og/eller histopatologiske forandringer i eksponerte organer, og hvordan eventuelle forandringer utviklet seg i tiden (dager) etter avlusing. Vi har undersøkt øye, hud, gjeller og thymus. Ryggfinne og brystfinner ble også undersøkt for forandringer som kunne relateres til avlusingen.

I tillegg hadde vi tre delmål:

Delmål 1: Undersøke omfanget av eventuelle forandringer som kunne relateres til avlusingsprosessen, sammenlignet med forandringer hos kontrollgruppen (i forkant av behandling).

Delmål 2: Undersøke om det var sammenheng mellom fiskens lengde og forekomsten/alvorlighetsgraden av makroskopiske og/eller histopatologiske forandringer.

Delmål 3: Undersøke om enkelte organer utpekte seg som mer utsatt for skade.

## **Materiale og metoder**

### **Materiale**

Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) ble avluset med Thermolicer i felt ved anlegg A. Det var omtrent 100 000 fisk i merden som ble avluset. Det ble tatt ut 20 fisk dagen før avlusing, og disse prøvene ble merket som G0 (kontrollgruppe). I tillegg ble det, etter avlusing, tatt ut 20 tilfeldige fisk ved fire ulike tidspunkt, og disse ble merket G1-G4. Prøvene ble tatt ut henholdsvis umiddelbart etter avlusing (G1), 24 timer (G2), 48 timer (G3) og 17 dager (G4) etter avlusing.

Studiepopulasjonen var atlantisk laks i oppdrett som har gjennomgått termisk avlusing (G1-G4) med Thermolicer. Referansepopulasjonen var all fisk i oppdrett.

### **Metoder**

#### **Innfangning og avliving**

Fisken ble fanget enten ved bruk av håv eller kasting av not, og videre overført til kar hvor de ble avlivet med overdose av benzocain (Benzoak vet.). Av praktiske årsaker ble all fisk i G0 avlivet samtidig, mens det for G1-G4 ble avlivet ti fisk om gangen.

#### **Registreringer**

Før uttak av vevsprøver ble all fisk målt (lengde i centimeter) og fotografert med identitetsmerke for senere vurdering av makroskopiske forandringer.

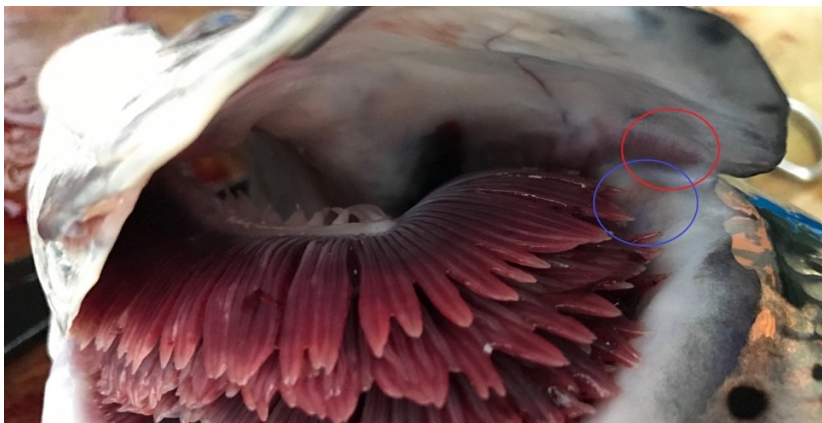
## Uttak av prøvemateriale

Umiddelbart etter prøveuttak ble vevsprøvene lagt i merkede glass med 10 % bufret formalin. Etter at gjellesnitt ble lagt i, ble glassene vendt for å sikre at hele gjelleprøven ble tilstrekkelig fiksert. Prøvene ble oppbevart på formalin frem til de ble fremført for histologisk preparering (se nedenfor).

Gjelle: Prøvene ble tatt ut fra andre gjellebue. Gjellelokk og første gjellebue ble løftet opp, og spissen av andre gjellebue ble klippet ut. For å unngå skade på lamellene holdt vi i gitterstavene med pinsetten. Dette var første prøve som ble tatt ut, på grunn av rask autolyse post mortem.

Øye: Ettersom epidermis hos fisk går over i cornea, ble det først lagt et snitt i utkanten av bulbus. Deretter ble pinsetten stukket inn på baksiden av øyet. Øyet ble fiksert ved å ta tak i *nervus opticus*, og videre fridissekert til det løsnet.

Thymus: For fisk i gruppe 0 ble prøven tatt ut i basis av gjellelokket (rød sirkel, figur 2). For gruppe 1-4 ble prøven tatt ut i området hvor det ble observert petekkier etter avlusning (blå sirkel).



Figur 2: Prøvetakingssted for thymus, hvor rød sirkel angir hvor prøven ble tatt ut for G0, mens blå sirkel angir hvor prøven ble tatt ut for G1-G4.

Hud: Det ble det tatt ut prøver (1x1 cm) i laterallinjen fra begge sider av fisken, rett nedenfor ryggfinnen. I tillegg ble det tatt ut prøver fra områder med hudblødninger etter avlusing (G1-G4). Slike blødninger ble hovedsakelig observert ventralt i området bak gattfinnen, og vevsprøver med hudforandringer ble primært tatt herfra.

### **Histologisk preparering**

Vevsprøvene ble sendt til Veterinærinstituttet for histologisk preparering, framført og preparert etter standard protokoller og farget med hematoxylin og eosin. Første trinn i prepareringen av vevsbitene innebærer dehydrering og innstøpning i parafin. Dehydreringen foregår ved at preparatene føres fra formalin, via økende konsentrasjoner av etanol, til xylene, og derfra til flytende parafin. Preparatene blir i siste trinn helt gjennomtrukket av parafin, og er da klare for snitting med mikrotom hvor det skjæres 2-4 µm tynne snitt av de innstøpte vevsprøvene. Etter snitting, avparafiniseres snittene i et varmeskap. Parafinen vil da smelte, og snittene fester seg til objektglasset. Deretter farges snittene med hematoxylin og eosin, som farger cellulære komponenter og vev ulikt. Kjerner, RNA-rikt cytoplasma og kalsium farges blått; muskulatur, fibrin og keratin farges rødt; kollagen farges rosa og erythrocytter får en rødoransje farge. Etter endt farging monteres snittene ved at et dekkglass limes over snittet (24, 25).

## Makroskopisk vurdering

Makroskopisk vurdering ble foretatt etter kriterier som listet i tabellene under (ordinal skala eller som 0/1). Vurderingen ble foretatt på grunnlag av identitetsmerkede bilder tatt av fisken i felt.

Tabell 3: Kriterier for makroskopisk vurdering av hud.

	0	1	2	3
<b>Hud</b>	Ingen forandringer.	Litt hudblødning.	Moderat hudblødning.	Markert hudblødning.

Tabell 4: Kriterier for makroskopisk vurdering av ryggfinne.

	0	1	2
<b>Ryggfinne</b>	Ingen forandringer.	Skadet ryggfinne ved splitting og/eller blødninger (aktiv skade)	Manglende/underutviklet ryggfinne (mulig helbredet skade).

Tabell 5: Kriterier for makroskopisk vurdering av brystfinne.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Brystfinne</b>	Skadet brystfinne (splittet, blødninger).	Normale brystfinner.

Tabell 6: Kriterier for makroskopisk vurdering av øye.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Øye</b>	Blakking av cornea.	Ingen forandringer.

Tabell 7: Kriterier for makroskopisk vurdering av gjeller og gjellelokk.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Forkortet/deformert gjellelokk</b>	Gjellelokket er tydelig forkortet og lamellene er eksponert.	Normale gjellelokk, lamellene er ikke eksponert.
<b>Gjelle, blødning</b>	Makroskopisk synlig blødning.	Ingen forandringer.
<b>Gjelle, nekrose</b>	Gråhvite områder på tuppen av lamellene.	Ingen forandringer.

## Histologisk vurdering

Histologisk vurdering ble foretatt etter kriterier listet i tabellene under.

### Hud

Tabell 8: Kriterier for histologisk vurdering av hud, herunder blødning, økt blodfylde, inflammasjon og epidermal erosjon.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Blødning</b>	Tilstedeværelse av frie røde blodceller i vevet.	Ikke tilstedeværelse av frie røde blodceller i vevet.
<b>Økt blodfylde</b>	Økt blodfylde i kar i subepidermalt vev.	Normal blodfylde i kar i subepidermalt vev.
<b>Inflammasjon</b>	Infiltrasjon av betennelsesceller (nøytrofile granulocytter, lymfocytter, makrofager), ødem og karreaksjon.	Ikke tilstedeværelse av betennelsesceller, ødem og karreaksjon.
<b>Epidermal erosjon</b>	Erosjon av øverste cellelag. Tilstedeværelse av ghost cells og vakuoler.	Avflatet og noenlunde intakt øvre cellelag.

### Øye

Tabell 9: Kriterier for histologisk vurdering av corneaepitelet.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Erosjon av øverste epitellag</b>	Avflatet øvre cellelag i cornea er brutt.	Kontinuerlig øvre cellelag i cornea.
<b>Vakuolisering av corneaepitel</b>	Vakuoledannelse i corneaepitelet. Dannelse av ghost cells på corneaoverflaten.	Normalt corneaepitel, uten dannelse av ghost cells eller vakuoler.

Vi inkluderte ikke snitt eller områder i snitt hvor det var urealistisk utbredelse av erosjon i corneaepitelet, og heller ikke områder hvor kun basalcellelaget stod igjen. Dette for å unngå overestimering av forekomsten av erosjon.

## Gjelle

Tabell 10: Kriterier for histologisk vurdering av gjellenes sekundærlameller, herunder akutte, subakutte og kroniske aneurismer.

	Akutt (ja/nei, 1/0)	Subakutt (1/0)	Kronisk (1/0)
<b>Aneurismer</b>	Røde blodceller omgitt av et tynt epitellag. Uavhengig av størrelse.	Organisert, hyalint materiale omgitt av tynt epitel. Uavhengig av størrelse.	Organisert, hyalint materiale med cellulær reaksjon rundt (> 2 cellelag). Uavhengig av størrelse.

Tabell 11: Kriterier for histologisk vurdering av gjellenes sekundærlameller, herunder lifting.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Lifting</b>	Interstitielt ødem i rommet mellom de to lagene av lamellært epitel. Flere sekundærlameller er affisert.	Ikke ødem i rommet mellom de to lagene av lamellært epitel.

Lifting av epitelcellene på sekundærlamellene er et vanlig prepareringsartefakt, og vi inkluderte derfor ikke områder hvor vi observerte mange sekundærlameller hvor liftingen var ensartet, eller steder hvor liftingen hadde urealistisk stor utbredelse.

Tabell 12: Kriterier for histologisk vurdering av gjellenes sekundærlameller, herunder clubbing og betennelse.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Clubbing</b>	Hypertrofi, hyperplasi og/eller økt antall slimceller i tuppen av sekundærlamellene. Flere sekundærlameller er affisert.	Normale tupper på sekundærlamellene.
<b>Betennelsesfokus</b>	Infiltrasjon av betennelsesceller og ødem i sekundærlamellene.	Ikke tilstedeværelse av betennelsesceller og ødem i sekundærlamellene.

Tabell 13: Kriterier for histologisk vurdering av gjellenes sekundærlameller, herunder fusjon.

	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3
<b>Fusjon</b>	Ingen fusjonerte sekundærlameller.	Fokal fusjon av sekundærlameller (< 5 fusjoner).	Multifokal fusjon av sekundærlameller (5-10 fusjoner).	Diffus distribusjon av fusjonerte sekundærlameller (> 10 fusjoner).

Vi inkluderte ikke områder hvor vi ikke så sekundærlamellenes fulle lengde på grunn av skjev snitting. Dette for å unngå å overestimere graden av fusjon.

**Thymus**

Tabell 14: Kriterier for histologisk vurdering av thymus.

	Ja (1)	Nei (0)
<b>Blødning</b>	Tilstedeværelse av frie røde blodceller i vevet.	Ikke tilstedeværelse av frie røde blodceller i vevet.
<b>Økt blodfylde</b>	Økt blodfylde i kar i vevet.	Normal blodfylde i kar i vevet.

Det ble kun foretatt histologisk vurdering av fisk som hadde makroskopisk synlig blødning, i form av petekkier, i thymus.

**Statistiske metoder**

Rådata ble lagt inn i Excel og det ble foretatt en enkel oppstilling av resultater i stolpediagramformat. Disse analysene ble etterfulgt av en regresjonsanalyse (Stata 15) for binære eller ordinale variabler. Det ble foretatt regresjonsanalyser hvor responsvariablene ble holdt som avhengige variabler, og grupper (G0-G4, tidspunkt) samt lengde ble satt som uavhengige variabler. Hvor det var aktuelt, ble avhengige og uavhengige variabler analysert for normalfordeling. Med dette som utgangspunkt, ble det foretatt en regresjonsanalyse for flere av de uavhengige variablene. Forekomst av antall aneurismer ved ulike tidspunkt ble analysert ved en «sensurert» Poisson analyse (0-inflatert). I etterkant av regresjonsanalysene ble *margins*-kommandoen i Stata benyttet, som gir predikerte sannsynligheter for de ulike variablene. De predikerte sannsynlighetene ble så plottet med kommandoen *marginsplot* (i etterkant av *margins*-analysen).



# Resultater

## Makroskopisk vurdering

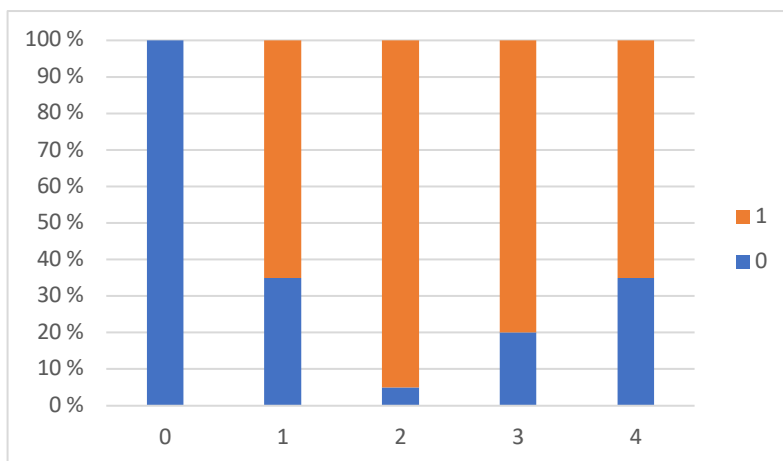
### Hud

#### Hudblødning

Forekomsten av hudblødninger i de ulike gruppene er presentert i tabell 15. Det ble ikke observert hudblødning i kontrollgruppen (G0), mens forekomsten av hudblødning hos fisken prøvetatt rett etter avlusing (G1) var 65 %. Forekomsten av hudblødninger steg ytterligere i G2 og G3, til henholdsvis 95 % og 80 %, mens den i G4 var lik forekomsten rett etter avlusing. Det samme er illustrert grafisk i figur 3, med tydelig økt forekomst i tiden etter avlusing.

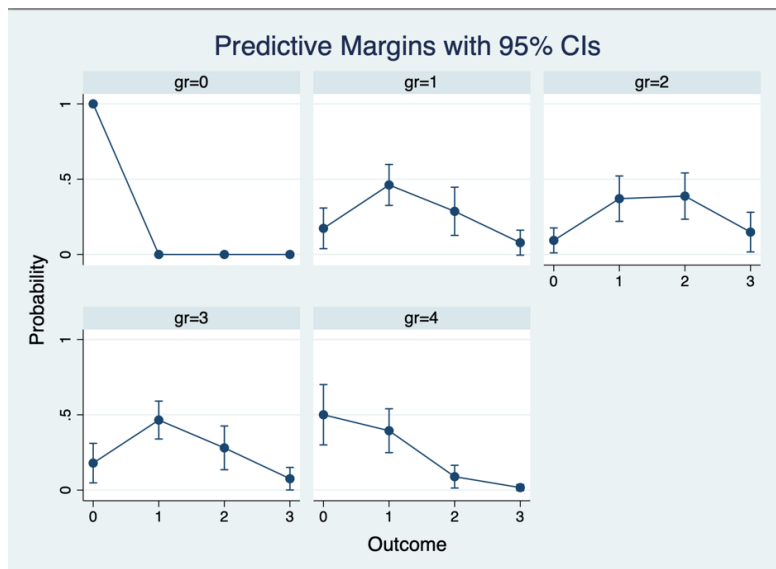
Tabell 15: Forekomst av makroskopisk hudblødning i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av hudblødning, og 0 angir ingen forandringer.

Gruppe	0	1	Andel med blødning (%)
0	20	0	0
1	7	13	65
2	1	19	95
3	4	16	80
4	7	13	65



Figur 3: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av makroskopisk hudblødning i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av hudblødning, og 0 angir ingen forandringer.

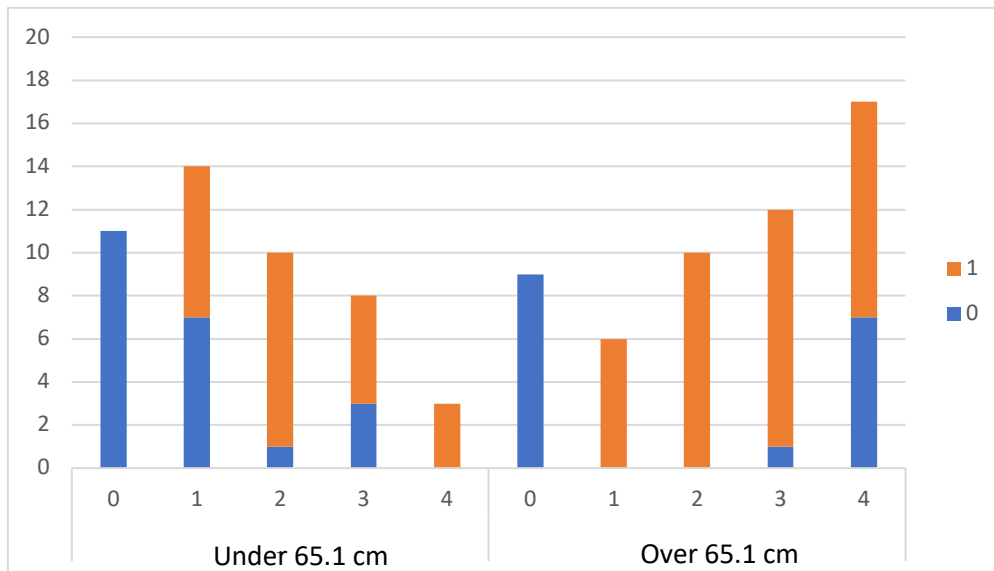
Makroskopisk hudblødning ble i tillegg gradert fra 0-3. Forekomsten av de ulike gradene i G0-G4 er presentert grafisk i figur 4, hvor høyere outcome/score angir økende grad av hudblødning. Hudblødninger ble som nevnt ikke påvist i G0. For G1 og G2 ble det sett en økende grad av hudblødning, det vil si økt sannsynlighet for høyere score/outcome, mens vi for G3 og G4 så en forskyvning mot lavere score.



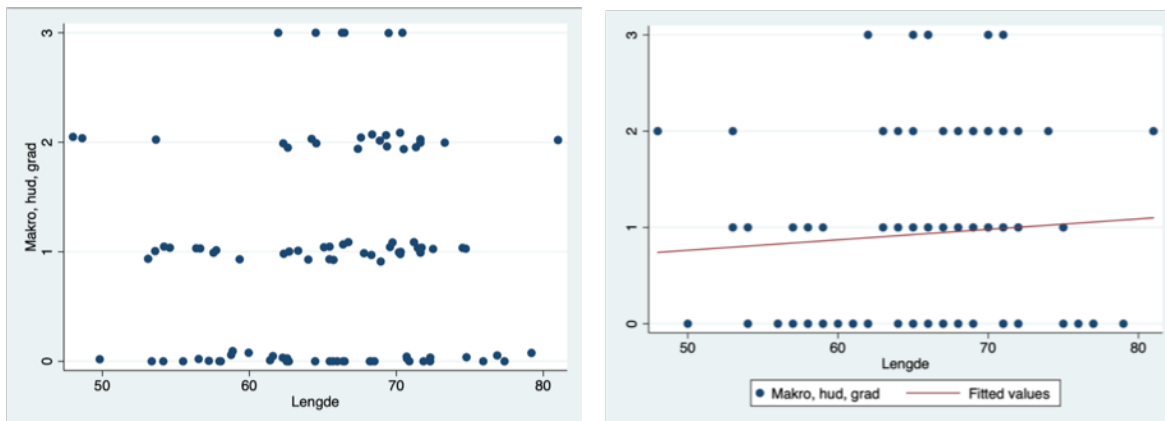
Figur 4: Grafisk fremstilling av graden av makroskopiske hudblødninger i de ulike gruppene (G0-G4), hvor høyere outcome/score angir økende grad av hudblødning. Sannsynligheten for opptreden av hudblødning vises på y-aksen. Det er høyest sannsynlighet for opptreden av høy score i G1 og G2, henholdsvis umiddelbart og 24 timer etter avlusing.

### **Sammenheng mellom fiskens lengde og hudblødning**

Forekomsten av hudblødning, relatert til fiskens lengde, er presentert i figur 5. Fiskene ble kategorisert som over eller under 65.1 cm, som representerte det geometriske gjennomsnittet i utvalget vårt. Statistiske analyser viste en effekt av fiskens lengde på graden av hudblødning. Lengde ble plottet mot graden av hudblødning, og dette er illustrert i figur 6, hvor det vises en svak positiv sammenheng mellom lengde og grad av forandring.



Figur 5: Stablet stolpediagram som viser sammenhengen mellom fiskens lengde og forekomst av hudblødning i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av hudblødning, og 0 angir ingen forandringer.



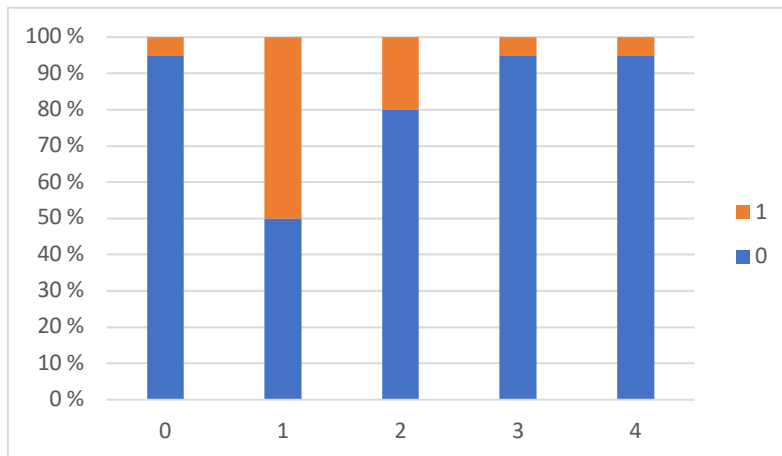
Figur 6: Spredningsplott som viser effekt av fiskens lengde på grad av makroskopisk hudblødning. Grad av hudblødning angis på y-aksen, mens x-aksen angir fiskens lengde. Grafen viser en svak positiv sammenheng mellom lengde og grad av forandring.

## Øye

Forekomsten av øyeforandringer i de ulike gruppene er presentert i tabell 16. I G0 var forekomsten av øyeforandringer lav, mens det ble observert en høyere forekomst av forandringer i G1 og G2, henholdsvis 50 % og 20 %. Forekomsten av øyeforandringer i G3 og G4 var imidlertid lik den som ble observert i G0. Dette er illustrert grafisk i figur 7.

Tabell 16: Forekomst av makroskopiske øyeforandringer i de ulike gruppene (G0-G4).

Gruppe	0	1	Andel med forandring (%)
0	19	1	5
1	10	10	50
2	16	4	20
3	19	1	5
4	19	1	5



Figur 7: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av makroskopiske øyeforandringer i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av øyeforandringer, og 0 angir ingen forandringer.

Statistiske analyser viste at resultatene for G1 var signifikant forskjellig fra G0 ( $p = 0.009$ ). Det ble derimot ikke vist noen signifikant forskjell mellom resultatene fra de senere uttakstidspunktene (G2-G4), da disse ble sammenlignet med G0. Fordelingen av score i de ulike gruppene viste svært lav forekomst av makroskopiske forandringer i G0, G3 og G4, hvor det kun ble observert forandringer hos én fisk i hver av gruppene. Ettersom de statistiske beregningene derfor er usikre, har ikke resultatene blitt vektlagt i særlig grad.

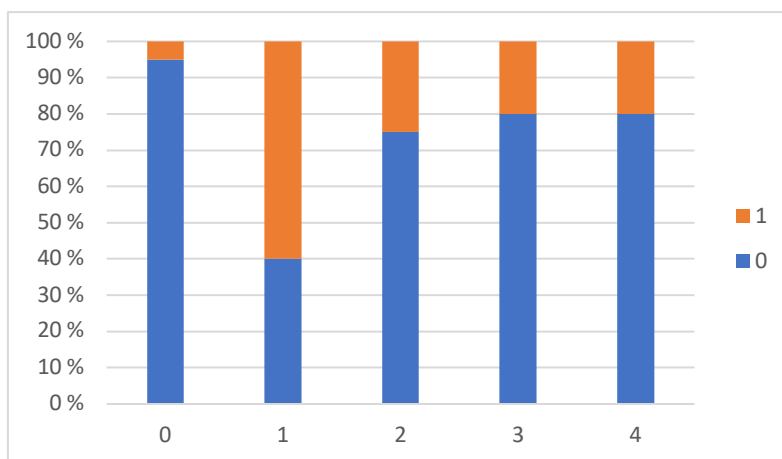
## Gjeller

### Gjelleblødning

Forekomsten av gjelleblødning i de ulike gruppene er presentert i tabell 17. Forekomsten av gjelleblødning i G0 var 5 %. I G1 økte forekomsten til 60 %, mens den sank til 25 % i G2, og 20 % i G3 og G4. Det samme er illustrert grafisk i figur 8, med tydelig økt forekomst av gjelleblødning rett etter avlusing.

Tabell 17: Forekomst av makroskopisk gjelleblødning i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

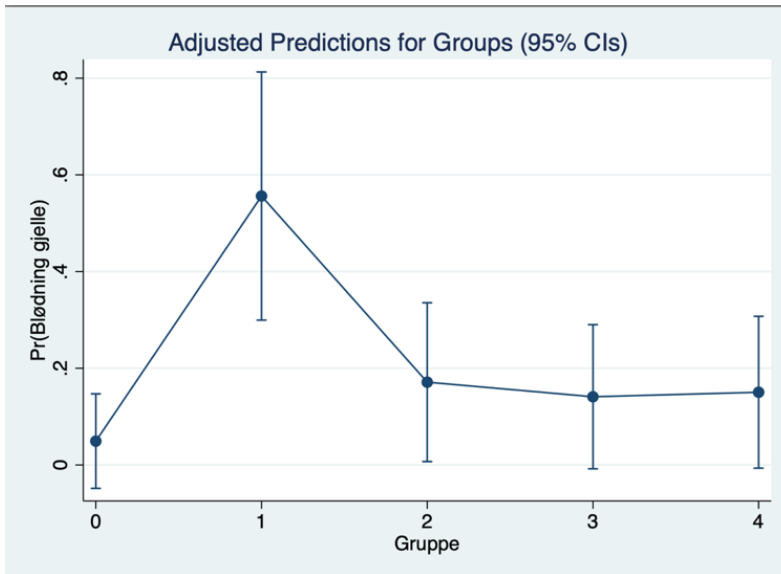
Gruppe	0	1	Andel med blødning (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	19	1	5	0	-	-
1	8	12	60	3.350	1.149-5.551	0.003
2	15	5	25	1.846	0.405-4.097	0.108
3	16	4	20	1.558	0.732-3.848	0.182
4	16	4	20	1.558	0.732-3.848	0.182



Figur 8: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av makroskopisk gjelleblødning i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av gjelleblødning, og 0 angir ingen forandringer.

Resultatene for G1 var signifikant forskjellig fra G0 ( $p = 0.003$ ), noe som vil si at det var signifikant høyere forekomst av blødning rett etter behandling, sammenlignet med før. Det ble

derimot ikke vist noen signifikant forskjell mellom resultatene fra senere uttakstidspunkt (G2-G4), da disse ble sammenlignet med G0. Grafisk fremstilling av dette er vist i figur 9.



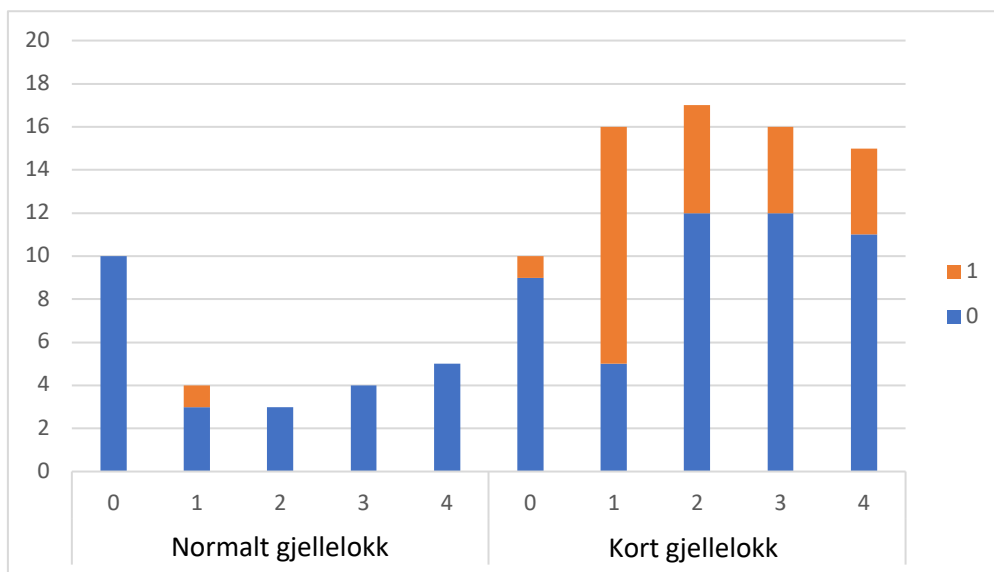
Figur 9: Prediksjonsanalyse som viser statistisk signifikant forskjell mellom G0 og G1 (konfidensintervallene overlapper ikke). Y-aksen angir predikert sannsynlighet for gjelleblødning, mens x-aksen angir de ulike gruppene (G0-G4).

### **Forkortet gjellelokk og gjelleblødning**

74 % av fisken som ble undersøkt hadde forkortet gjellelokk. Forekomsten av fisk med normale og korte gjellelokk, samt hvor mange av disse som hadde gjelleblødning, er presentert i tabell 18. Grafisk fremstilling av sammenhengen mellom gjellelokkets utforming og forekomsten av gjelleblødning vises i figur 10. For fisk med normale gjellelokk var det ikke høyere forekomst av gjelleblødninger etter avlusing, sammenlignet med kontrollgruppen. Vi påviste derimot en signifikant høyere forekomst av gjelleblødning umiddelbart etter avlusing (G1) da vi så på gruppen med korte gjellelokk ( $p = 0.012$ ). Ved senere tidspunkt var det ingen forskjeller sammenlignet med G0.

Tabell 18: Forekomst av fisk med normale og korte gjellelokk, og andelen av disse som hadde gjelleblødning, med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

Gruppe		0	1	Andel med blødning (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	Normal	10	0	0	-	-	-
	Kort	9	1	10	-	-	-
1	Normal	3	1	25	-	-	0.998
	Kort	5	11	69	2.986	0.665-5.306	0.012
2	Normal	3	0	0	-	-	1.000
	Kort	12	5	29	1.322	-0.993-3.636	0.263
3	Normal	4	0	0	-	-	1.000
	Kort	12	4	25	1.099	-1.257-3.454	0.361
4	Normal	5	0	0	-	-	1.000
	Kort	11	4	27	1.186	-1.176-3.547	0.325



Figur 10: Stablet stolpediagram som viser sammenhengen mellom lengde på gjellelokk og forekomst av gjelleblødning i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av gjelleblødning, og 0 angir ingen forandringer.

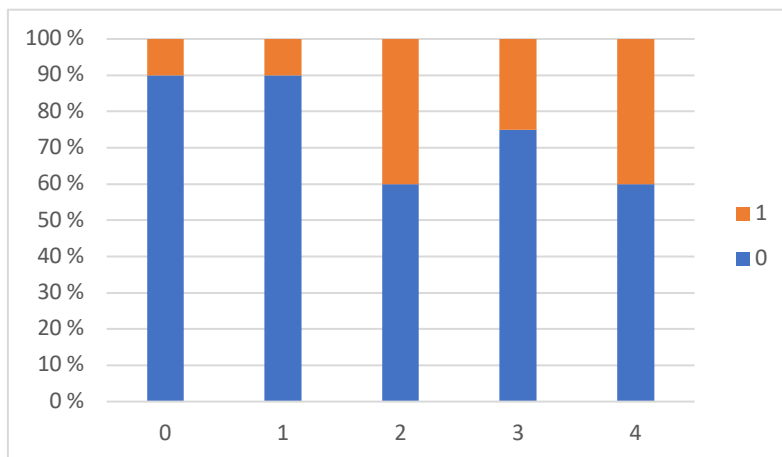
### Gjellenekrose

Forekomsten av nekrose i gjellevevet i de ulike gruppene er presentert i tabell 19. Både i G0 og G1 var forekomsten lav, mens den steg til 40 % i G2. Forekomsten sank deretter i G3, mens den i G4 igjen steg til 40 %. Det samme er illustrert grafisk i figur 11. Resultatene viste en

signifikant økning i forekomsten av makroskopisk gjellenekrose i G2 ( $p = 0.040$ ) og G4 ( $p = 0.040$ ), da disse gruppene ble sammenlignet med G0.

Tabell 19: Forekomst av makroskopisk gjellenekrose i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

Gruppe	0	1	Andel med nekrose (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	18	2	10	-	-	-
1	18	2	10	-5.09e-17	-2.066-2.066	1.000
2	12	8	40	1.792	0.079-3.505	0.040
3	15	5	25	1.099	-0.679-2.876	0.226
4	12	8	40	1.792	0.079-3.505	0.040



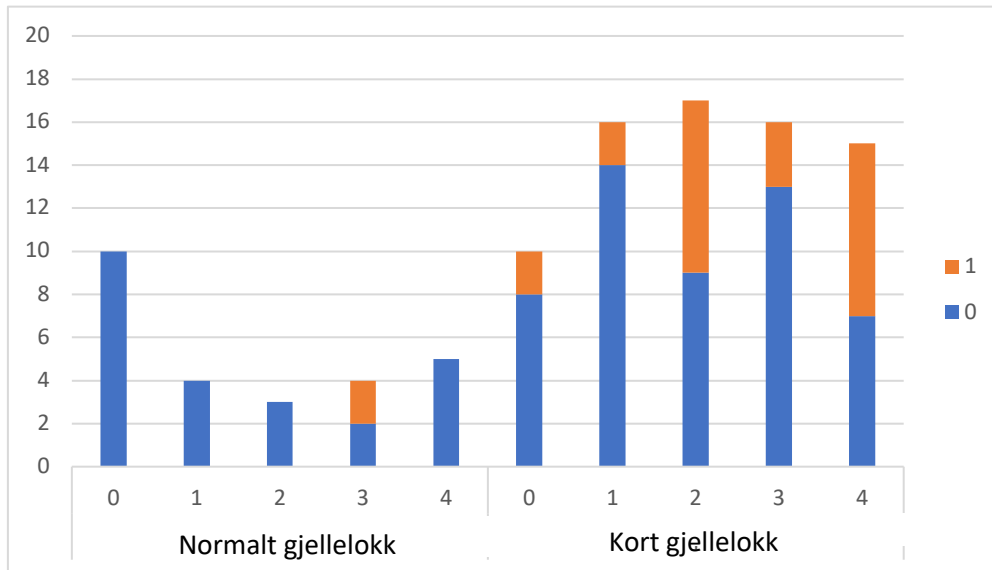
Figur 11: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av makroskopisk gjellenekrose i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av gjellenekrose, og 0 angir ingen forandringer.

### Forkortet gjellelokk og gjellenekrose

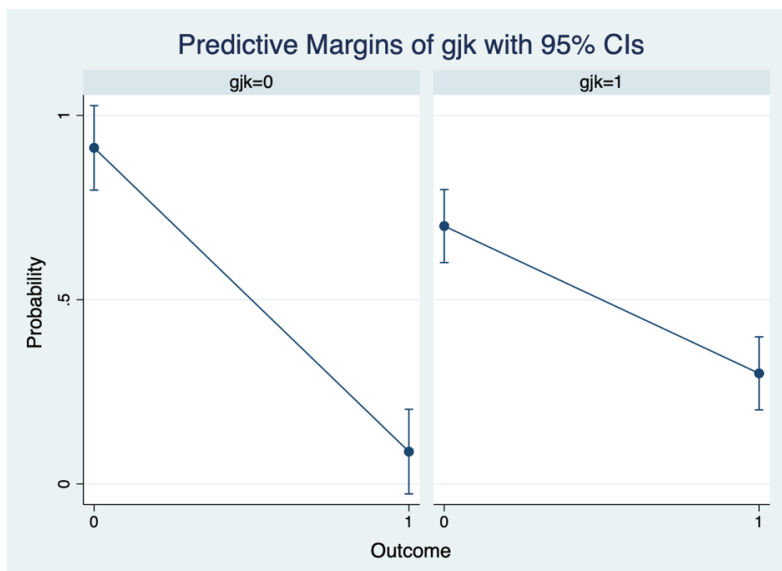
Den grafiske fremstillingen i figur 12 viser en tendens til at korte gjellelokk kan ha disponert for økt forekomst av gjellenekrose. Statistiske analyser påviste en effekt av korte gjellelokk, noe som vil si at det var økt sannsynlighet for at det oppstod gjellenekrose når gjellelokkene var korte. Som det fremgår av figur 13 var sannsynligheten for forekomst av gjellenekrose lav



etter behandling når gjellelokkene hadde normal størrelse, mens det var statistisk høyere sannsynlighet for opptreden av nekrose når fisken hadde korte gjellelokk.



Figur 12: Stablet stolpediagram som viser sammenhengen mellom lengde på gjellelokk og forekomst av gjellenekrose i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av gjellenekrose, og 0 angir ingen forandringer.



Figur 13: Prediksjonsanalyse som illustrerer at sannsynligheten for forekomst av gjellenekrose er lav etter behandling når gjellelokkene har normal størrelse, mens det er statistisk høyere sannsynlighet for opptreden av nekrose når fisken har korte gjellelokk. Gjk=0 angir normale gjellelokk, mens gjk=1 angir korte gjellelokk. Outcome 0 angir ingen nekrose, mens outcome 1 angir forekomst av nekrose.

## Finner

Det ble observert høy forekomst av skader på rygg- og brystfinner i kontrollgruppen, henholdsvis 90 % og 95 %. På bakgrunn av dette valgte vi å ikke inkludere disse resultatene i studien, ettersom forandringene vi observerte etter avlusing ville vært vanskelige å knytte til den termiske behandlingen.

## Histologisk vurdering

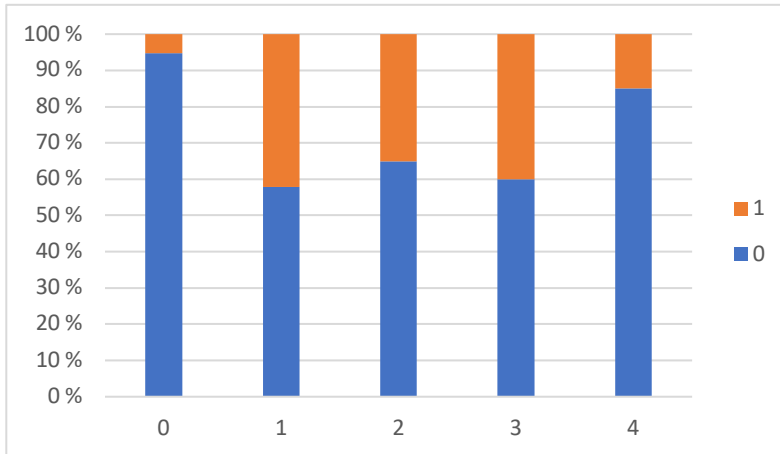
### Hud

#### *Hudblødning*

Forekomsten av hudblødning i de ulike gruppene er presentert i tabell 20. I G0 var forekomsten lav, mens den steg til 42 % i G1. En betydelig reduksjon i forekomsten av hudblødning ble ikke observert før i G4, hvor den var 15 %. Det samme er illustrert grafisk i figur 14.

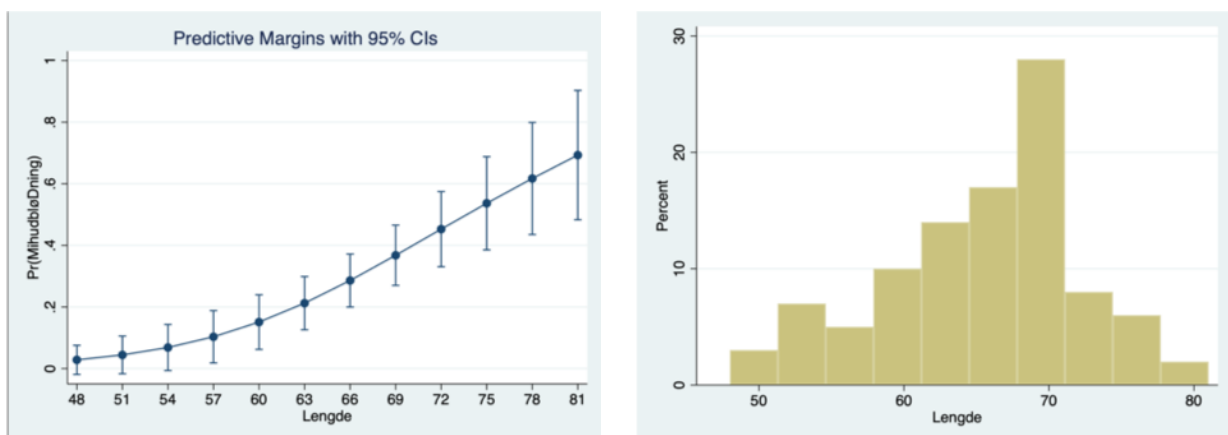
Tabell 20: Forekomst av mikroskopisk hudblødning i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

Gruppe	0	1	Andel med blødning (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	18	1	5.3	0	-	-
1	11	8	42	3.429	1.058-5.780	0.005
2	13	7	35	2.497	0.199-4.795	0.033
3	12	8	40	2.580	0.292-4.867	0.027
4	17	3	15	0.486	-1.951-2.923	0.696



Figur 14: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av mikroskopisk hudblødning i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av hudblødning, og 0 angir ingen forandringer.

Regresjonsanalyse for effekt over tid viste at det var en signifikant økning i forekomsten av mikroskopisk hudblødning i G1-G3, altså helt frem til 48 timer etter behandling. Statistisk analyse viste at det var effekt av fiskens lengde. Effekt av fiskens lengde ble modellert, og det ble vist at predikert sannsynlighet for hudblødning økte med økende fiskelengde (figur 15). Årsaken til økende konfidensintervall ved økende lengde skyldes at antall fisk med denne størrelsen var relativt lavt, som illustrert i histogrammet nedenfor.



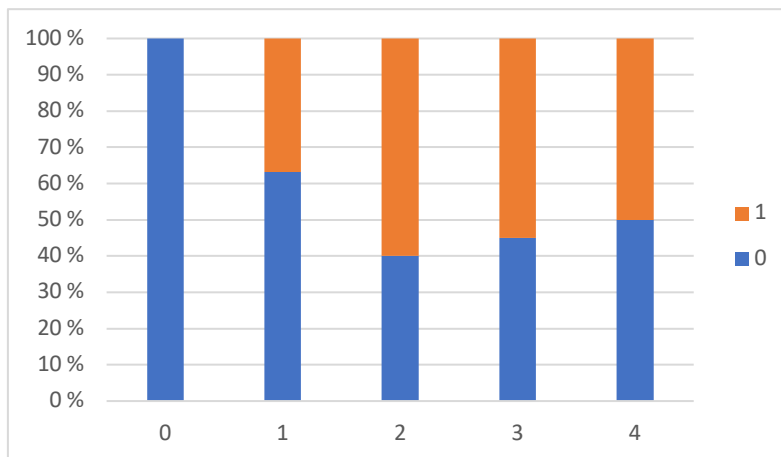
Figur 15: Prediksjonsanalyse (venstre) viser at sannsynligheten for hudblødning øker med økende fiskelengde. Histogrammet (høyre) illustrerer prosentvis forekomst av ulike lengder (cm).

**Økt blodfylde**

Forekomsten av økt blodfylde i huden i de ulike gruppene er presentert i tabell 21. Ingen fisk i G0 hadde økt blodfylde i subepidermalt vev. Det ble observert en økning i forekomsten i G1, mens den høyeste forekomsten så vi i G2, hvor 62 % av fisken hadde mikroskopisk økt blodfylde. Videre sank forekomsten noe i G3 og G4. Det samme er illustrert grafisk i figur 16.

Tabell 21: Forekomst av mikroskopisk økt blodfylde i de ulike gruppene (G0-G4).

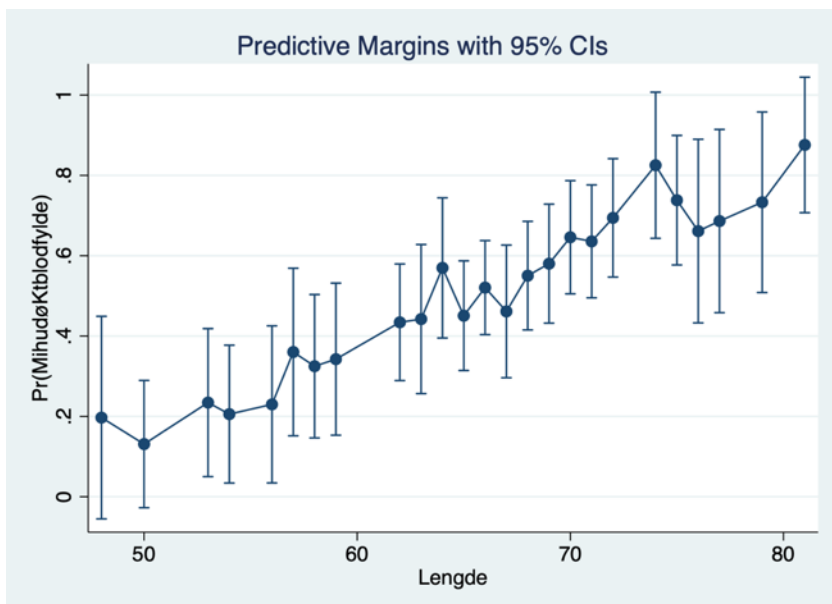
Gruppe	0	1	Andel med økt blodfylde (%)
0	19	0	0
1	12	7	37
2	8	12	60
3	9	11	55
4	10	10	50



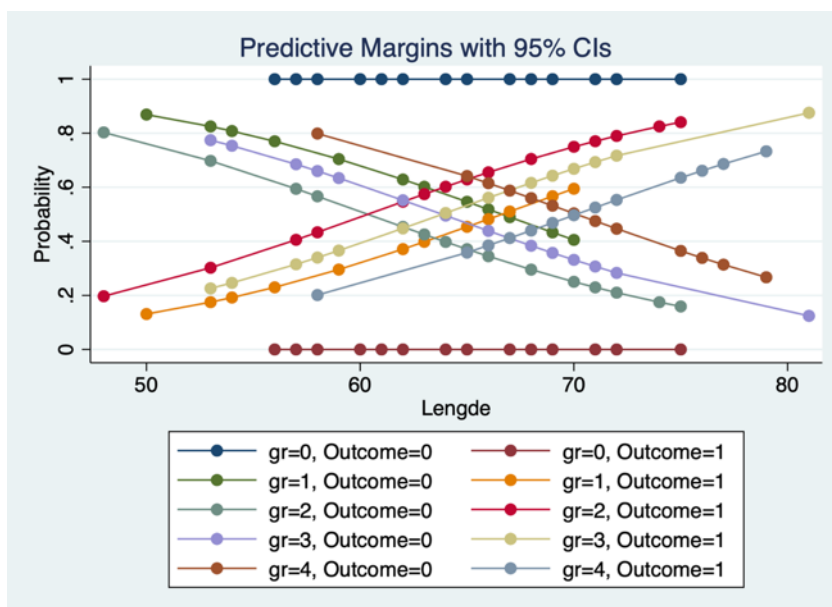
Figur 16: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av mikroskopisk økt blodfylde i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av økt blodfylde, og 0 angir ingen forandringer.

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell med hensyn til blodfylde i etterkant av behandling.

Det ble derimot påvist en sammenheng mellom blodfylde og fiskens lengde, uavhengig av behandling/tid etter behandling. Dette er fremstilt i figur 17, og videre i figur 18 hvor det samme er illustrert per gruppe og forekomst.



Figur 17: Prediksjon for mikroskopisk økt blodfylde i forhold til fiskens lengde for alle grupper (G0-G4). Når fiskens lengde er over 70 cm ser vi en signifikant økning i sannsynligheten for opptreden av økt blodfylde, sammenlignet med fisk med lengde under 60 cm (konfidensintervallene overlapper ikke).



Figur 18: Illustrasjon av sannsynligheten for forekomst av økt blodfylde, hvor outcome 0 angir normal blodfylde og outcome 1 angir økt blodfylde.

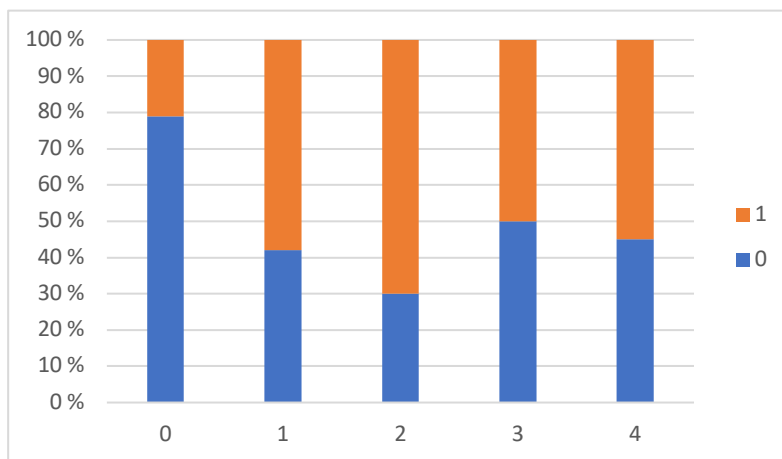
I G0 har ingen fisk økt blodfylde, det vil si at alle har outcome 0 i denne gruppen. I de andre gruppene (G1-G4) øker sannsynligheten for forekomst av økt blodfylde med økende fiskelengde, samtidig som sannsynligheten for normal blodfylde synker.

## Erosjon

Forekomsten av epidermal erosjon i de ulike gruppene er presentert i tabell 22. Vi så en økning i forekomsten fra G0 til G1, henholdsvis fra 21 % til 58 %. Høyest forekomst så vi i G2, hvor 70 % av fisken hadde epidermal erosjon. Forekomsten sank deretter i G3 og G4, til 50 % og 55 %. Det samme er illustrert grafisk i figur 19.

Tabell 22: Forekomst av mikroskopisk epidermal erosjon i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende odds ratio, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

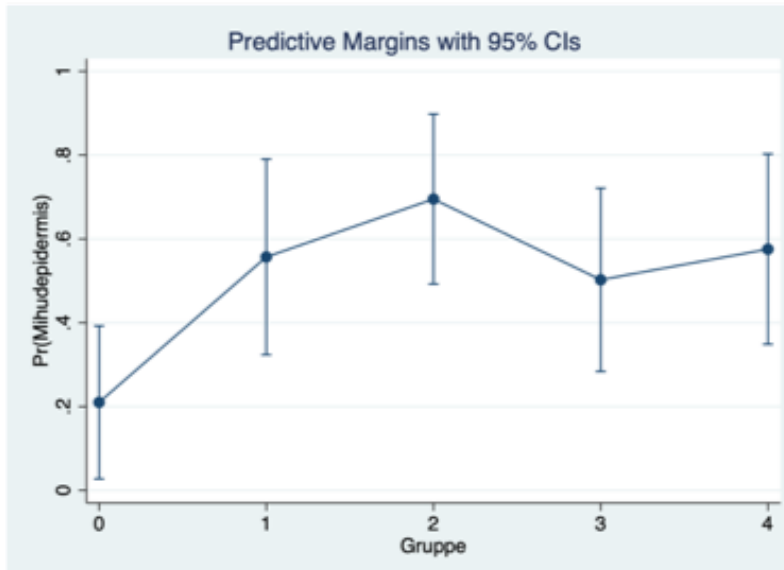
Gruppe	0	1	Andel med erosjon (%)	Odds ratio	95 % KI	p-verdi
0	15	4	21	-	-	-
1	8	11	58	4.768	1.120-20.308	0.035
2	6	14	70	8.675	2.009-37.457	0.004
3	10	10	50	3.825	0.931-15.721	0.063
4	9	11	55	5.146	1.196-22.143	0.028



Figur 19: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av mikroskopisk epidermal erosjon i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av erosjon, og 0 angir ingen forandringer.

Resultatene viste en signifikant økning i forekomsten av epidermal erosjon i G1 ( $p = 0.035$ ), G2 ( $p = 0.004$ ) og G4 ( $p = 0.028$ ), da disse ble sammenlignet med G0. Logistisk regresjonsanalyse viste signifikant økning i forekomsten av epidermal erosjon i etterkant av behandlingen, uttrykt i tabell 22 som odds ratio for de ulike gruppene. Odds ratio økte frem til

G2, for deretter å avta. De samme resultatene er illustrert i figur 20. Det ble ikke påvist effekt av fiskens lengde, og dette er derfor ikke illustrert.



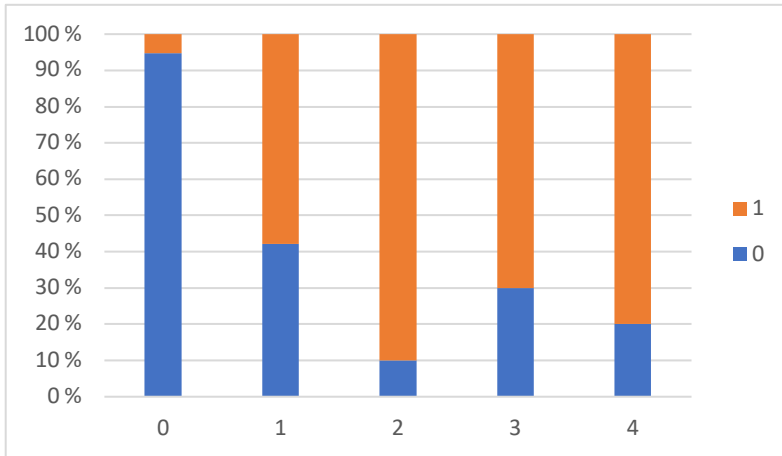
Figur 20: Prediksjonsanalyse viser statistisk signifikant forskjell mellom G0 og G2 (konfidensintervallene overlapper ikke). Y-aksen angir predikert sannsynlighet for epidermal erosjon, mens x-aksen angir de ulike gruppene (G0-G4).

### Inflammasjon

Forekomsten av inflammasjon i huden i de ulike gruppene er presentert i tabell 23. Vi så en økning i forekomsten fra G0 til G1, henholdsvis fra 5.3 % til 58 %. Høyest forekomst så vi i G2, hvor 90 % av fisken hadde mikroskopisk synlig inflammasjon i huden. Forekomsten sank deretter i G3 og G4, til 70 % og 80 %. Det samme er illustrert grafisk i figur 21.

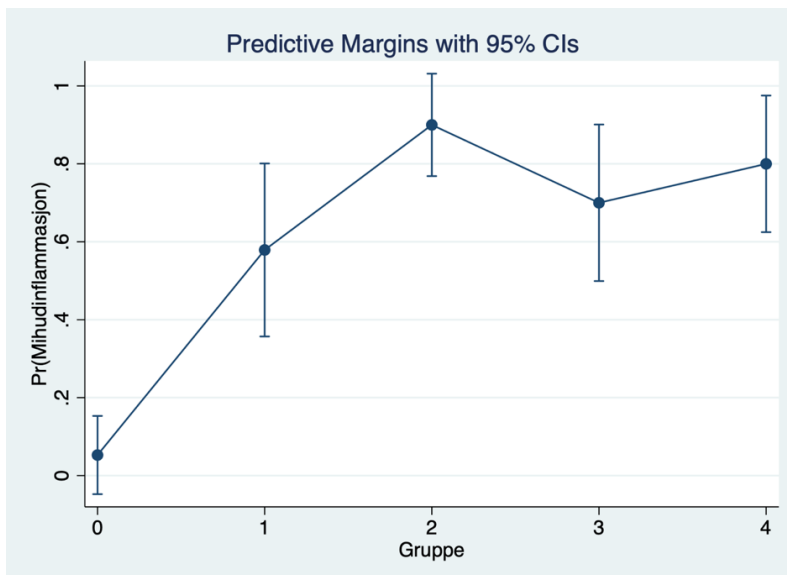
Tabell 23: Forekomst av mikroskopisk inflammasjon i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

Gruppe	0	1	Andel med inflammasjon (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	18	1	5.3	0	-	-
1	8	11	58	3.209	0.999-5.419	0.004
2	2	18	90	5.088	2.600-7.575	0.000
3	6	14	70	3.738	1.508-5.967	0.001
4	4	16	80	4.277	1.984-6.569	0.000



Figur 21: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av mikroskopisk inflammasjon i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av inflammasjon, og 0 angir ingen forandringer.

Resultatene viste en signifikant forskjell i forekomsten av epidermal inflammasjon i alle de avluste gruppene ( $p < 0.05$  for G1-G4), da disse ble sammenlignet med G0. De samme resultatene er illustrert i figur 22. De statistiske beregningene ga dog et feilaktig bilde, ettersom forekomsten i G0 trolig var kunstig lav. Det var hovedsakelig i buksnittene inflammasjon ble påvist, men slike snitt ble ikke tatt ut fra fisk uten synlig hudblødning, og heller ikke fra kontrollgruppen. Resultatene ble derfor ikke vektlagt i særlig grad.



Figur 22: Prediksjonsanalyse viser statistisk signifikant forskjell mellom G0 og alle avluste grupper (konfidensintervallene overlapper ikke). Y-aksen angir predikert sannsynlighet for epidermal inflammasjon, mens x-aksen angir de ulike gruppene (G0-G4).



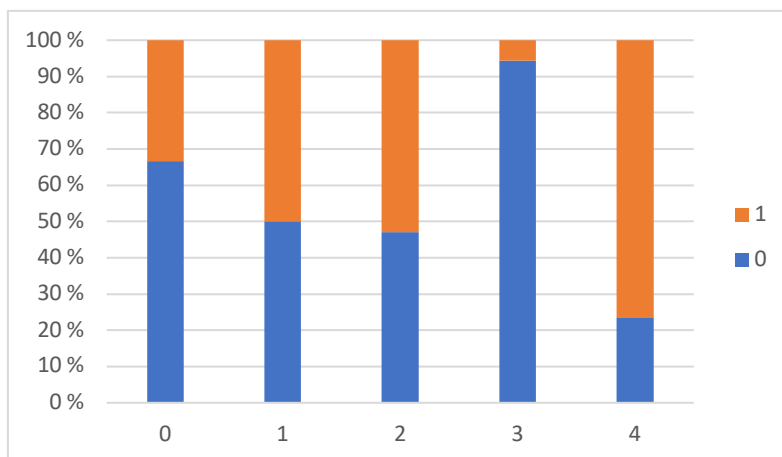
## Øye

*Erosjon*

Forekomsten av erosjon i cornea i de ulike gruppene er presentert i tabell 24. G0 hadde en forekomst på 33.3 %, som steg til henholdsvis 50 % og 53 % i G1 og G2. I G3 sank forekomsten til 5.6 %. Høyeste forekomst ble registrert i G4, hvor 76 % av fisken hadde erosjon i cornea. Det samme er illustrert grafisk i figur 23. Ettersom resultatene viste stor variasjon, særlig i G3, ble det ikke foretatt statistiske beregninger for denne parameteren.

Tabell 24: Forekomst av mikroskopisk erosjon i de ulike gruppene (G0-G4).

Gruppe	0	1	Andel med erosjon (%)
0	10	5	33.3
1	5	5	50
2	8	9	53
3	17	1	5.6
4	4	13	76



Figur 23: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av mikroskopisk erosjon i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av erosjon, og 0 angir ingen forandringer.

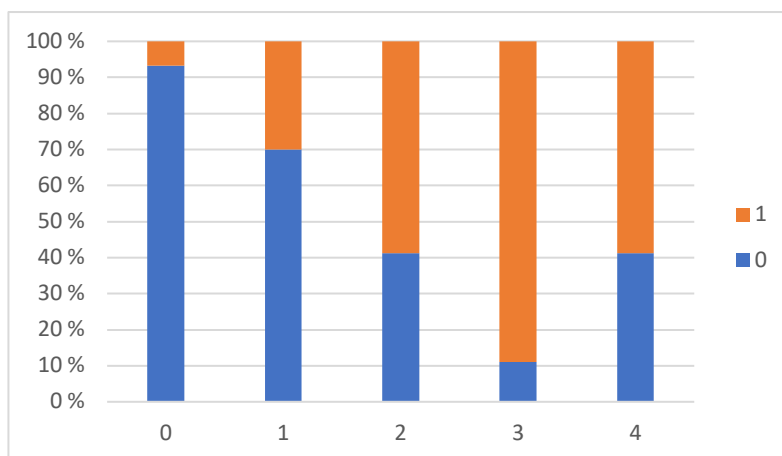
## Vakuolisering

Forekomsten av vakuolisering i cornea i de ulike gruppene er presentert i tabell 25. I G0 hadde 6.7 % vakuolisering i cornea. Forekomsten økte etter avlusing, med høyest forekomst i G3, hvor 89 % av fisken hadde mikroskopisk synlig vakuolisering. Det samme er illustrert grafisk i figur 24.

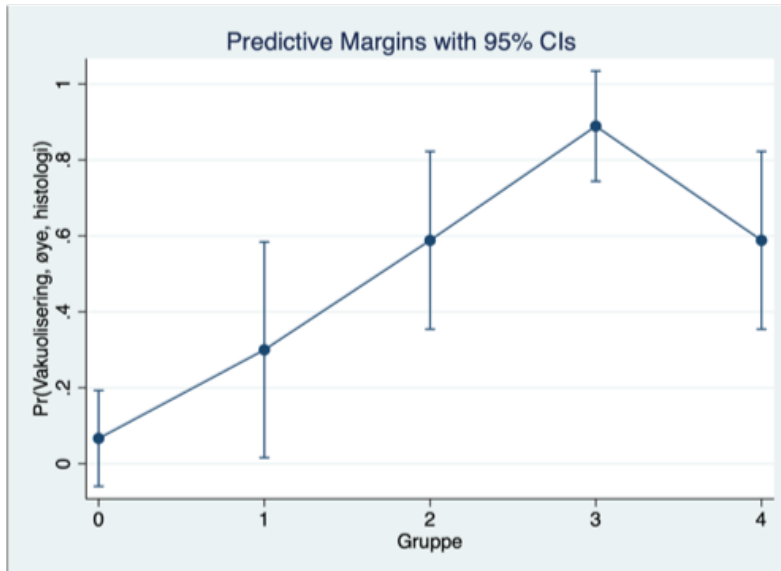
Statistisk analyse viste en signifikant økning i forekomsten etter behandling, fra G2 til og med G4, da disse ble sammenlignet med G0 ( $p < 0.001$  for G2-G4). Estimert sannsynlighet for forekomst av vakuolisering er illustrert i figur 25.

Tabell 25: Forekomst av mikroskopisk vakuolisering av cornea i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

Gruppe	0	1	Andel med vakuolisering (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	14	1	6.7	0	-	-
1	7	3	30	1.792	-0.647-4.230	0.150
2	7	10	59	2.996	0.749-5.243	0.009
3	2	16	89	4.718	2.213-7.224	0.000
4	7	10	59	2.996	0.749-5.243	0.009



Figur 24: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av mikroskopisk vakuolisering av cornea i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av vakuolisering, og 0 angir ingen forandringer.



Figur 25: Prediksjonsanalyse viser statistisk signifikant forskjell mellom G0 og G2-G4 (konfidensintervallene overlapper ikke). Y-aksen angir predikert sannsynlighet for vakuolisering av corneaepitelet, mens x-aksen angir de ulike gruppene (G0-G4).

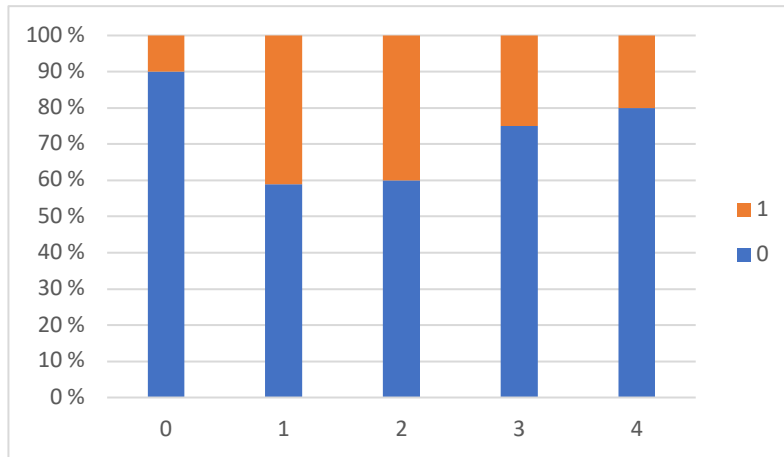
## Gjelle

### Lifting

Forekomsten av lifting av gjellepitelet i de ulike gruppene er presentert i tabell 26. I G0 hadde 10 % av fiskene mikroskopisk synlig lifting, mens forekomsten steg til 41 % i G1. Forekomsten var deretter synkende, og redusert til 20 % i G4. Det samme er illustrert grafisk i figur 26. Statistiske analyser viste en signifikant økning i forekomst av lifting i G1 og G2, mens det i G3 og G4 ikke kunne påvises signifikante forskjeller fra G0.

Tabell 26: Forekomst av mikroskopisk synlig lifting av gjellepitelet i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

Gruppe	0	1	Andel med lifting (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	18	2	10	0	-	-
1	10	7	41	1.841	0.089-3.592	0.039
2	12	8	40	1.792	0.079-3.505	0.040
3	15	5	25	1.099	-0.679-2.876	0.226
4	16	4	20	0.811	-1.015-2.637	0.384



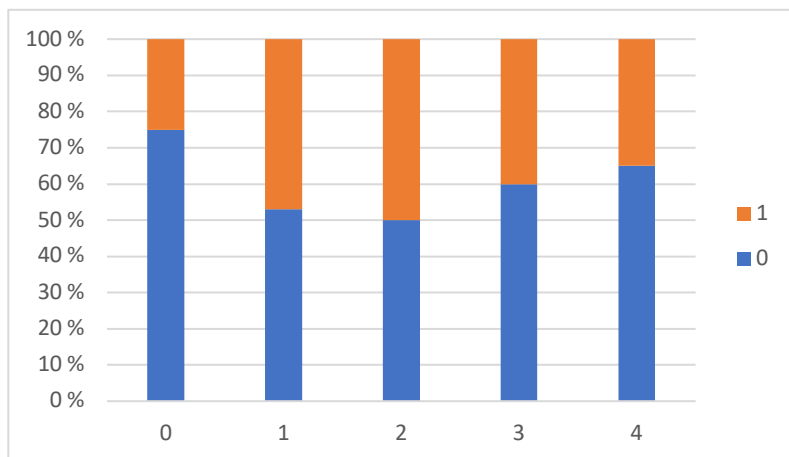
Figur 26: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av mikroskopisk synlig lifting av gjelleepitel i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av lifting, og 0 angir ingen forandringer.

### Akutte aneurismer

Forekomsten av akutte lamellære aneurismer hos fiskene i de ulike gruppene er presentert i tabell 27. I G0 var forekomsten 25 %, og denne steg ytterligere til 47 % i G1. Høyest forekomst ble observert i G2, hvor 50 % av fiskene hadde akutte aneurismer. Det samme er illustrert grafisk i figur 27. Regresjonsanalyse viste ingen statistiske forskjeller for G1-G4 sammenlignet med kontrollgruppen (G0).

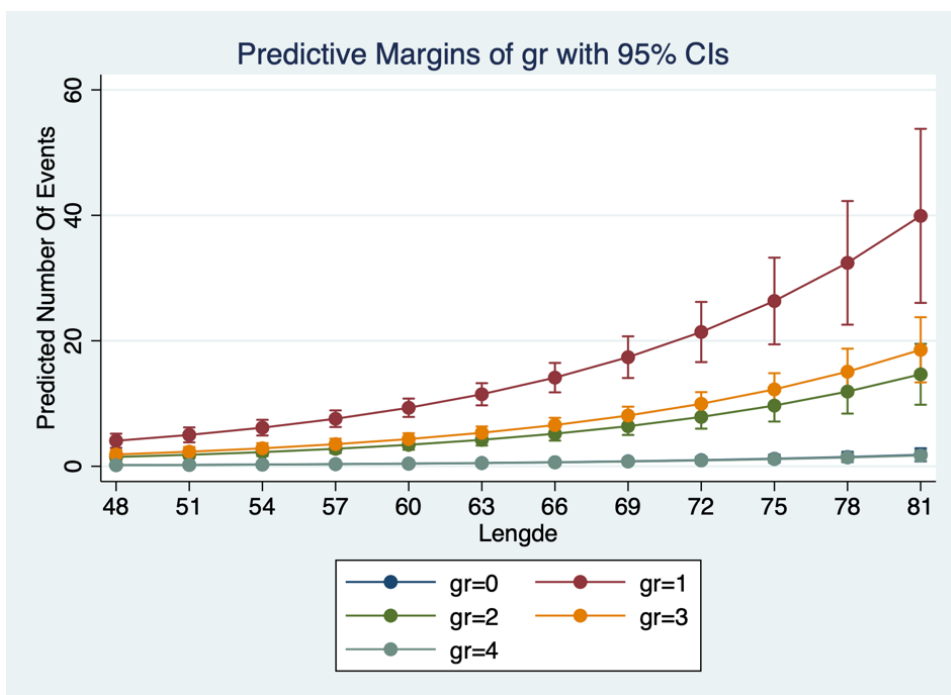
Tabell 27: Forekomst av akutte aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4).

Gruppe	0	1	Andel med akutte aneurismer (%)
0	15	5	25
1	9	8	47
2	10	10	50
3	12	8	40
4	13	7	35



Figur 27: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av akutte aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av akutte aneurismer, og 0 angir ingen forandringer.

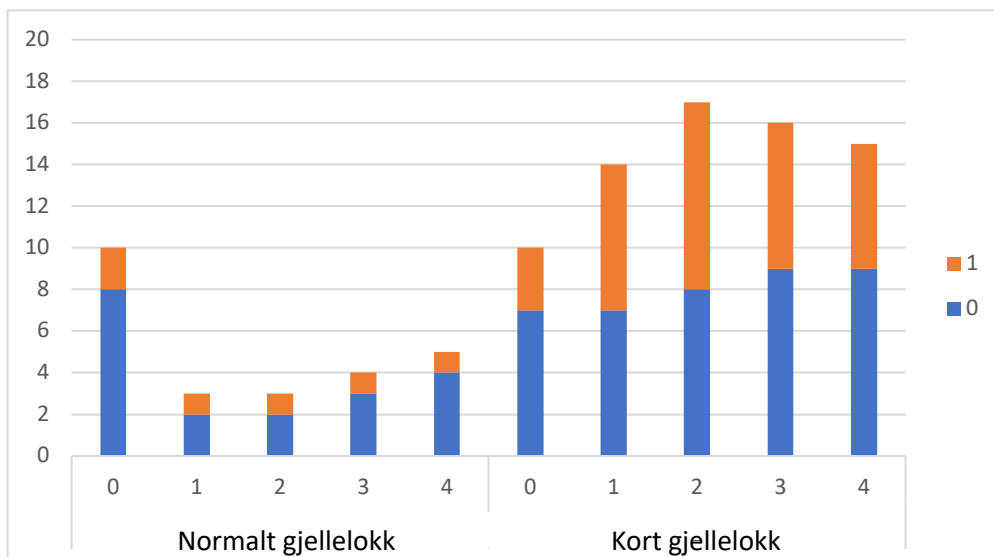
Poisson-analyse av antall akutte aneurismer viste derimot en signifikant effekt av avlusing, hvor G1-G3 var signifikant forskjellig fra G0. Det var også effekt av lengde, hvor lengre fisk viste seg mer utsatt. Dette framkommer av figur 28.



Figur 28: Prediksjonsanalyse viser signifikant økt sannsynlighet for forekomst av akutte aneurismer med økende lengde på fisken, samt at G1-G3 er forskjellig fra G0 og G4.

**Forkortet gjellelokk og forekomst av akutte aneurismer**

Den grafiske fremstillingen i figur 29 viser en tendens til at korte gjellelokk disponerte for økt forekomst av akutte aneurismer etter behandling. Det ble, ved hjelp av statistiske analyser, derimot ikke påvist signifikante forskjeller mellom G0 og de andre gruppene. Det ble heller ikke for fisk med normale gjellelokk påvist signifikante forskjeller mellom avluset og ikke-avluset fisk. Det samme gjaldt da G1 til G4 ble sammenlignet.



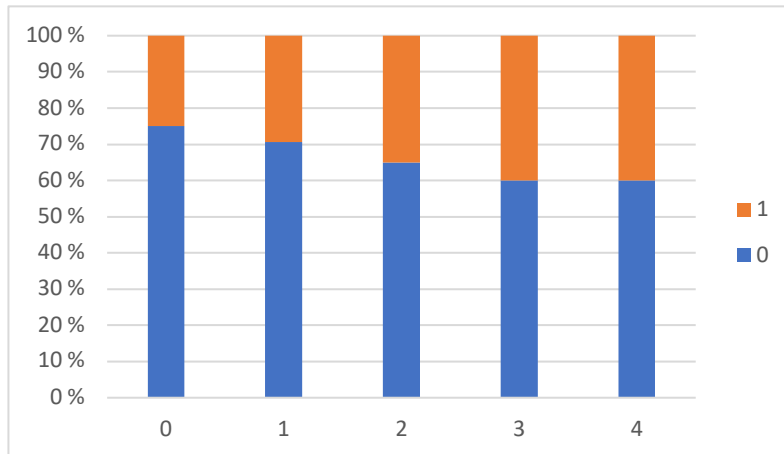
Figur 29: Stablet stolpediagram som viser sammenhengen mellom lengde på gjellelokk og forekomst av akutte aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av akutte aneurismer, og 0 angir ingen forandring.

**Subakutte aneurismer**

Forekomsten av subakutte aneurismer i de ulike gruppene er presentert i tabell 28, og det samme er illustrert grafisk i figur 30. G0 hadde en forekomst på 25 %. Det ble ikke observert betydelig økning i forekomsten før i G3, hvor 40 % av fiskene hadde mikroskopisk synlige subakutte aneurismer. Økningen i forekomsten var imidlertid ikke statistisk signifikant.

Tabell 28: Forekomst av subakutte aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4).

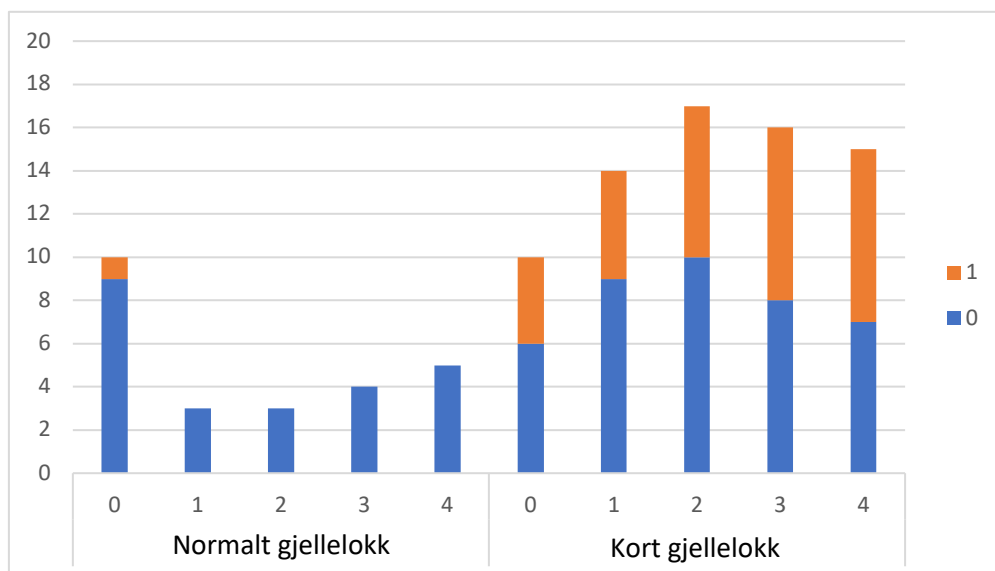
Gruppe	0	1	Andel med subakutte aneurismer (%)
0	15	5	25
1	12	5	29
2	13	7	35
3	12	8	40
4	12	8	40



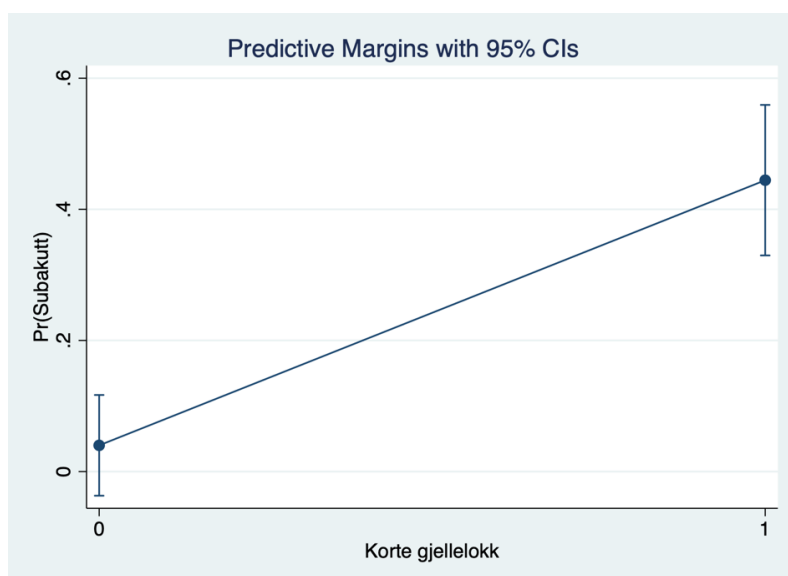
Figur 30: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av subakutte aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4, hvor 1 angir forekomst av subakutte aneurismer, og 0 angir ingen forandringer).

### **Forkortet gjellelokk og forekomst av subakutte aneurismer**

Den grafiske fremstillingen i figur 31 viser en tendens til at korte gjellelokk disponerte for økt forekomst av subakutte aneurismer etter behandling. Statistiske analyser viste at korte gjellelokk hadde en signifikant effekt på forekomsten av subakutte aneurismer, men det var ingen signifikant forskjell mellom G0 og de øvrige gruppene. Ved beregning av odds ratio var den 19.2 for forekomst av subakutte aneurismer ved korte gjellelokk (LR chi2 = 17.07,  $p < 0.000$ ). Prediksjonen basert på *margins*-analyse (i Stata) er gjengitt i figur 32.



Figur 31: Stablet stolpediagram som viser sammenhengen mellom lengde på gjellelokk og forekomst av subakutte aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av subakutte aneurismer, og 0 angir ingen forandring.



Figur 32: Prediksjonsanalyse viser signifikant økt sannsynlighet for forekomst av subakutte aneurismer ved korte gjellelokk (konfidensintervallene overlapper ikke). På x-aksen angir 0 normalt gjellelokk, mens 1 angir kort gjellelokk.

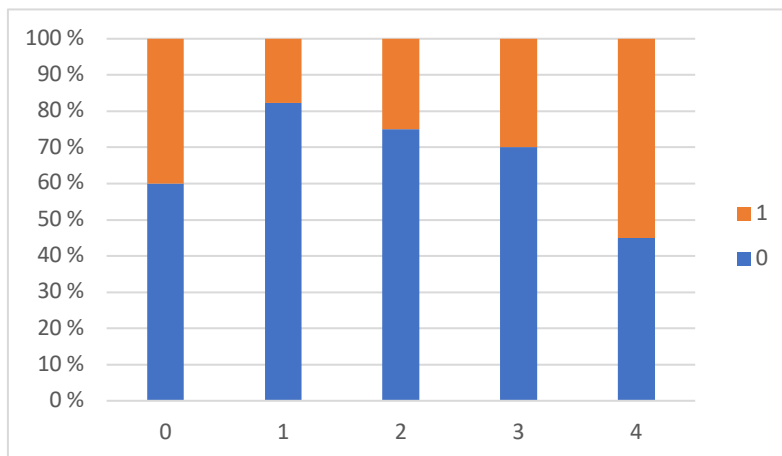


### Kroniske aneurismer

Forekomsten av kroniske aneurismer i de ulike gruppene er presentert i tabell 29. G0 hadde en forekomst på 40 %, mens i G1 var denne 18 %. Forekomsten steg deretter i G2 og G3, hvor henholdsvis 25 % og 35 % hadde kroniske aneurismer. Høyest forekomst ble observert i G4, hvor 55 % hadde kroniske aneurismer. Det samme er illustrert grafisk i figur 33.

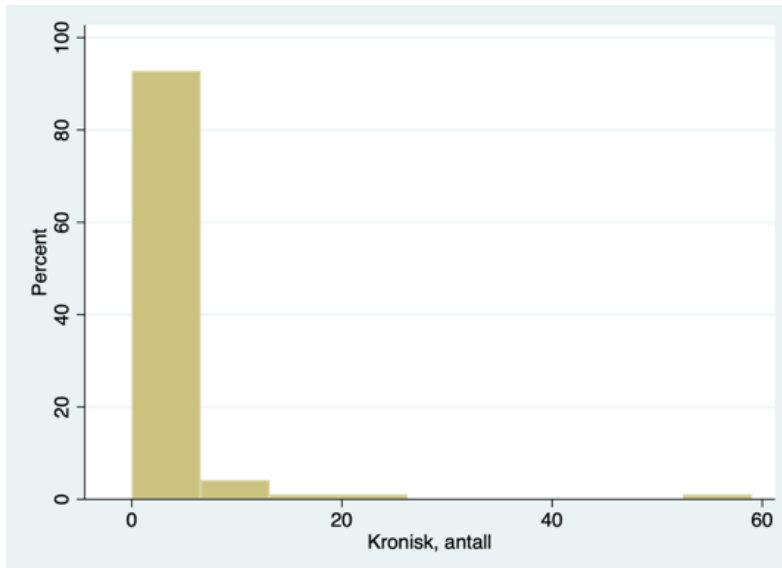
Tabell 29: Forekomst av kroniske aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4).

Gruppe	0	1	Andel med kroniske aneurismer (%)
0	12	8	40
1	14	3	18
2	15	5	25
3	14	6	30
4	9	11	55



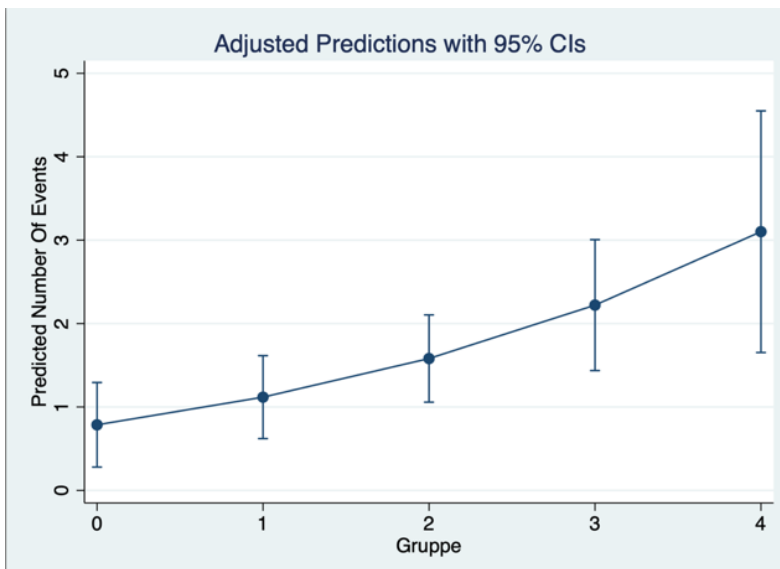
Figur 33: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av kroniske aneurismer i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av kroniske aneurismer, og 0 angir ingen forandringer.

Histogrammet (figur 34) viser at forekomsten av kroniske aneurismer på gjellenes sekundærlameller var høyreforskjøvet (gjennomsnitt 1.6, median = 0), med et stort antall individer med null aneurismer. Hos fisk som fikk påvist kroniske aneurismer var imidlertid antallet ofte høyt.



Figur 34: Histogrammet viser at forekomsten av kroniske aneurismer på gjellenes sekundærlameller er høyreforskjøvet, med et stort antall individer med null aneurismer..

Statistisk analyse (Poisson-analyse, zero-inflatert analyse) predikerte at antall kroniske aneurismer vil øke i G4 sammenlignet med G0 og G1. De samme resultatene er illustrert i figur 35.



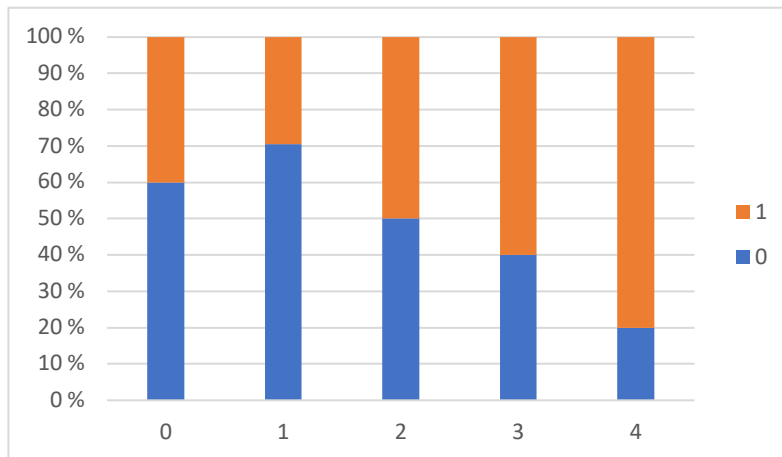
Figur 35: Prediksjonsanalyse viser statistisk signifikant forskjell mellom G4 og G0-G1 (konfidensintervallene overlapper ikke). Y-aksen viser predikert antall kroniske aneurismer i de ulike gruppene. Gruppene er vist på x-aksen. Større konfidensintervaller indikerer større usikkerhet i prediksjonen.

## Fusjon

Forekomsten av fusjon i de ulike gruppene er presentert i tabell 30. I G0 var forekomsten på 40 %, mens den var lavere i G1, henholdsvis 29 %. Forekomsten steg deretter i G2-G4, hvor den høyeste forekomsten ble observert 17 dager etter avlusing. Det samme er illustrert grafisk i figur 36. Det var statistisk høyere forekomst av fusjon i G4 sammenlignet med de øvrige gruppene. Odds ratio-beregninger viste seks ganger høyere odds ratio for G4 over G0.

Tabell 30: Forekomst av fusjon i de ulike gruppene (G0-G4), med tilhørende koeffisient, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

Gruppe	0	1	Andel med fusjon (%)	Koeffisient	95 % KI	p-verdi
0	12	8	40	0	-	-
1	12	5	29	-0.470	-1.844-0.904	0.503
2	10	10	50	0.405	-0.847-1.658	0.526
3	8	12	60	0.811	-0.454-2.076	0.209
4	4	16	80	1.792	0.377-3.206	0.013



Figur 36: Stablet stolpediagram som viser prosentvis forekomst av fusjon i de ulike gruppene (G0-G4), hvor 1 angir forekomst av fusjon, og 0 angir ingen forandringer.

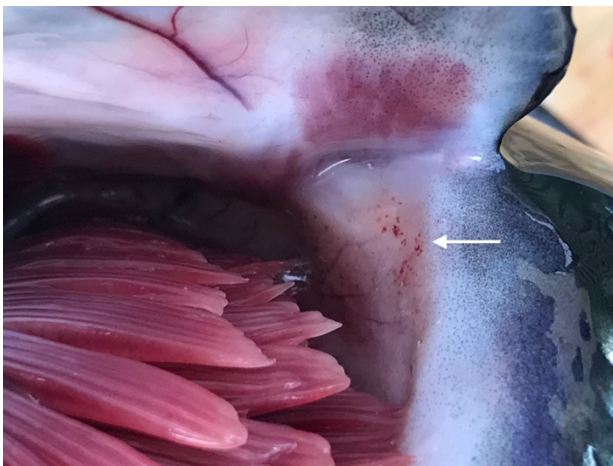
## Clubbing og betennelse

Det ble observert 100 % forekomst av både clubbing og betennelse i gjellene i kontrollgruppen.

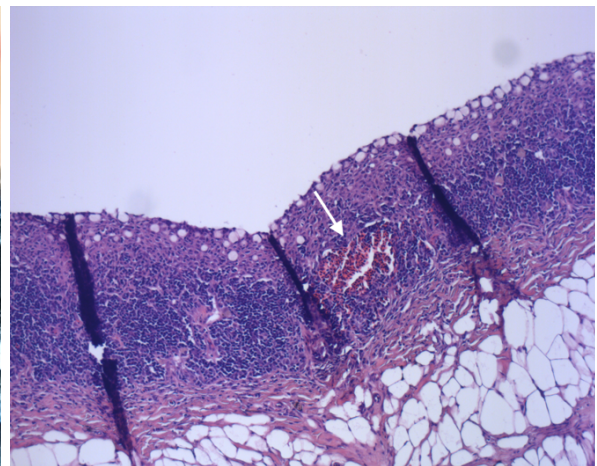
På bakgrunn av dette valgte vi å ikke inkludere disse parametrene i oppgaven, ettersom den høye forekomsten indikerte at det allerede før avlusing forelå kroniske gjelleforandringer.

## Thymus

Ettersom thymus kan være vanskelig å se på stor fisk, da avgrensingen er uklar, ble prøver fra fisk i G0 tatt ut på feil sted, og inneholdt følgelig ikke thymusvev. For G1-G4 ble det tatt ut snitt fra området hvor det ble observert petekkier. Opprinnelig skulle ikke thymus vurderes makroskopisk, og det ble derfor ikke tatt vurderbare bilder av alle fiskene. En stor andel av snittene var ikke mulige å vurdere, som følge av prepareringsartefakter. Flere snitt hadde også vridd seg under preparering, og inneholdt derfor ikke thymusvev. Kombinasjonen av disse faktorene resulterte i at vi fikk et lite representativt antall fisk i alle gruppene, og det var derfor ikke mulig å angi statistisk signifikans for funnene våre. Observasjonene vi gjorde er derfor videre kun beskrevet.



Figur 37: Makroskopisk synlige petekkier i thymusområdet (hvit pil).



Figur 38: Blødning i thymus (hvit pil).

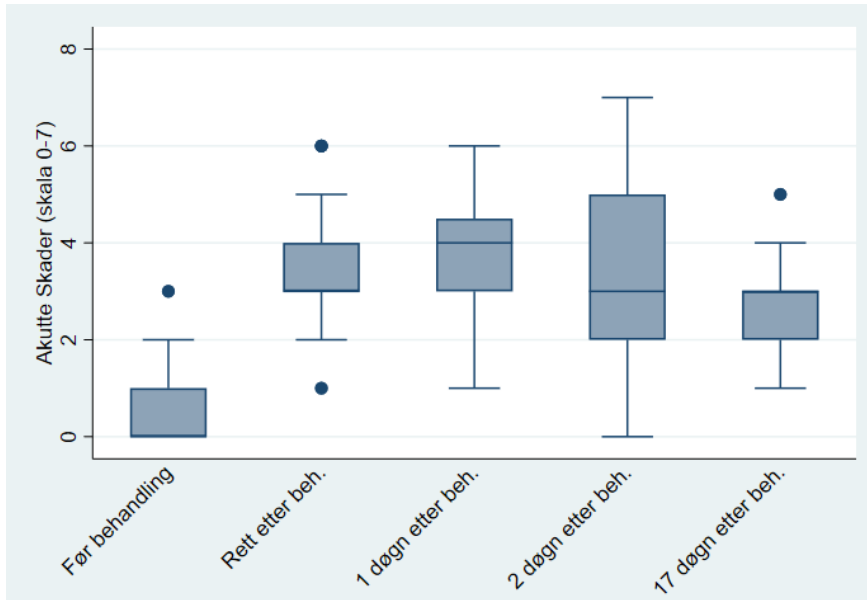
I G0 ble det ikke observert makroskopisk blødning i området vi etter avlusing tok ut prøver fra. For fisk som hadde gjennomgått avlusing ble kun de med makroskopisk synlig blødning i thymus vurdert histologisk. I G1-G4 ble det observert forandringer, som illustrert i figur 37 og 38, hos et varierende antall fisk. Hos fisk hvor vi observert makroskopisk synlig blødning etter avlusing, fant vi også blødning ved mikroskopisk undersøkelse.

## **Oppsummering**

I figur 39 og 40 er utviklingen i forekomsten av akutte og kroniske skader etter behandling illustrert. I kategorien «akutte skader» ble makro- og mikroskopisk hudblødning, økt blodfylde, epidermal erosjon, makroskopisk gjelleblødning, lifting av gjelleepitelet og akutte aneurismer inkludert. Makroskopisk gjellenekrose, lamellær fusjon, subakutte og kroniske aneurismer ble klassifisert som kroniske skader. Beregningene for akutte skader ble foretatt på grunnlag av registreringer fra 96 av totalt 100 fisk, mens for kroniske skader ble de basert på registreringer fra 97 fisk. Årsaken til dette var at ikke alle de histologiske snittene var vurderbare, og følgelig manglet vi data fra enkelte individer.

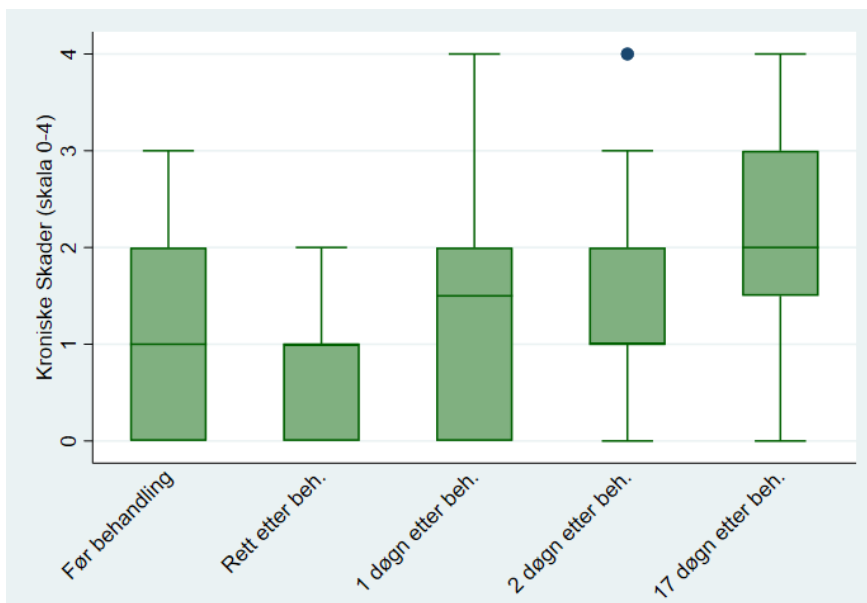
Parametere som finner, makroskopiske øyeforandringer, erosjon og vakuolisering i corneaepitelet, i tillegg til clubbing og betennelse i gjellenes sekundærlameller ble ikke inkludert i figurene. Dette fordi resultatene for noen av parametrene viste stor variasjon og usikkerhet, mens andre ble ekskludert på grunnlag av høy forekomst allerede i kontrollgruppen.

Vi så en økning i forekomsten av akutte skader umiddelbart etter avlusing (figur 39), mens det tok lengre tid før forekomsten av de kroniske skadene økte (figur 40). En slik utvikling var som forventet fra et biologisk synspunkt. Det ble registrert en relativt høy forekomst av kroniske forandringer allerede før behandling, som vist i figur 40. Forekomsten var imidlertid ytterligere forøket 17 dager etter, og dette ble også vist ved at medianen var dobbelt så høy i G4 sammenlignet med G1. Betydningen av disse forandringene har vi tatt for oss i diskusjonen.



Figur 39: Boxplot som illustrerer utviklingen i forekomsten av akutte skader, totalt syv parametere (y-aksen). Beregningene baserer seg på registreringer fra 96 fisk. Boksene strekker seg fra første kvartil til tredje kvartil, med medianen markert i midten. Utstikkerne går 1.67 ganger kvartildifferensen ut fra henholdsvis 25 % kvartilen og 75 % kvartilen. Punkter i diagrammet visualiserer ekstremverdier.

Eksempelvis, i G0 (kontrollgruppen) har 50 % av fisken akutte forandringer i ingen eller én av de overnevnte parametrene, og medianen er null.



Figur 40: Boxplot som illustrerer utviklingen i forekomsten av kroniske skader, totalt fire parametere (y-aksen). Beregningene baserer seg på registreringer fra 97 fisk. Boksene strekker seg fra første kvartil til tredje kvartil, med medianen markert i midten. Utstikkerne går 1.67 ganger kvartildifferensen ut fra henholdsvis 25 % kvartilen og 75 % kvartilen. Punkter i diagrammet visualiserer ekstremverdier.

## **Diskusjon**

### **Hud**

Undersøkelse av huden viste at det var økt sannsynlighet for at det oppstod makroskopisk hudblødning i forbindelse med termisk avlusing, men at forekomsten og utbredelsen avtok i tiden etter behandlingen. Resultatene viste også en svak positiv sammenheng mellom fiskens lengde og grad av makroskopisk hudblødning, hvor stor fisk synes å ha vært mer utsatt for skade. Det ble også påvist en signifikant økning i forekomsten av mikroskopisk hudblødning frem til 48 timer etter avlusing. Sannsynligheten for forekomst av mikroskopisk hudblødning økte med økende fiskelengde, og det samme gjaldt for økt blodfylde. I tillegg så vi en signifikant forskjell i forekomsten av mikroskopisk synlig epidermal erosjon mellom kontrollgruppen og flere av de eksponerte gruppene. Våre funn indikerer altså at huden er et utsatt organ ved termisk avlusing.

I forbindelse med termisk avlusing gjennomgår fisken flere håndteringsprosedyrer, blant annet trenging og pumping. Fisken trenges for å effektivisere videre pumping ombord i behandlingsenheten. Under trenging øker fisketettheten betraktelig, og dersom fisken kommer i kontakt med notveggen kan dette føre til skade på fiskens ytre flater. Pumping utføres vanligvis ved hjelp av vakuumpumper, hvor fisken under trykk pumpes gjennom rørsystemer. Dersom pumpehastigheten er for høy, eller dersom rørene ikke er riktig dimensjonert i forhold til fiskens størrelse, er fisken utsatt for mekaniske skader ettersom den kan kollideres i vegger og skarpe kanter (26-28).

Trenging og pumping kan medføre ulike typer hudskader, blant annet skjelltap og hudblødninger. Skjell er en viktig del av fiskens ytre barriere, og et større skjelltap kan fungere

som inngangsport for infeksjoner, samt gi problemer med osmoreguleringen (28). I sjøvann befinner fisken seg i et hypertont miljø, og det vil være en konstant utfordring for fisken å holde på vann og samtidig holde ioner ute av kroppen. Ved brudd på hudbarrieren risikerer fisken dehydrering og ioneforstyrrelser, ettersom vann vil sive raskere over hudbarrieren og fisken dermed må jobbe hardere for å opprettholde væskebalansen (20). Epidermal skade og hudblødning, som følge av slag og trykk, vil påvirke nociceptorer i huden, og medføre smerte. (19). Dette vil representere et velferdsproblem, og i denne studien viste spesielt stor fisk seg utsatt for hudblødning i forbindelse med termisk avlusing.

### **Feilkilder**

Ved histologisk vurdering av buksnittene viste det seg at fisken trolig hadde et underliggende hudproblem, da vi i disse snittene observerte et stort antall betennesceller i dermis. Det ble ikke tatt ut buksnitt fra fisk uten makroskopisk synlig hudblødning, og heller ikke fra kontrollgruppen. Dette gjorde blant annet at vi ikke kunne vurdere forekomsten av inflammasjon i G0. For avluste grupper kunne vi heller ikke vite hvilke forandringer som kunne knyttes til avlusingen, og hvordan disse eventuelt utviklet seg, ettersom det allerede i G1 ble observert tegn på kronisk inflammasjon.

Forekomst av skjelltap og skjellommeødem ble ikke vurdert, da dette er vanlige prepareringsartefakter. Det er også tenkelig at vi kan ha forårsaket skjelltap ved håndtering og avliving av fisken, samt ved uttak av prøvene.



## **Gjeller**

### **Makroskopiske funn**

Normalt utformede gjellelokk er viktig for normal vannstrøm over gjellelamellene, med påfølgende oksygenabsorpsjon. Forkortede gjellelokk kan føre til nedsatt evne til å pumpe vann over gjellene, og dette vil være spesielt problematisk når fisken oppholder seg i vann med suboptimal kvalitet, eksempelvis vann med lavt oksygennivå. I tillegg vil fisken være sårbar ved håndtering, som involverer trenging eller annen form for bevegelsesrestriksjon. For å opprettholde tilstrekkelig vannstrøm over gjellene er fisk med korte gjellelokk avhengig av å svømme kontinuerlig. Dette øker energiforbruket knyttet til respirasjon, og kan dermed påvirke fiskens tilvekst. Misdannelser som forkortede gjellelokk har vært satt i sammenheng med intensiv drift (19, 29), og i vårt utvalg ble det observert en høy forekomst av dette (74 %).

Vi observerte en signifikant høyere forekomst av gjelleblødning rett etter behandling (G1), og 92 % av fisken med blødning i denne gruppen hadde korte gjellelokk. Våre resultater viste at det var sammenheng mellom forkortet gjellelokk og makroskopisk gjelleblødning. Unormale gjellelokk har blitt satt i sammenheng med økt dødelighet, økt risiko for infeksjon og dårligere dyrevelferd (19). Forkortet gjellelokk fører til at gjellebuene er delvis eksponert. Dette gjør gjellene mer utsatt for skade, noe som kan resultere i at det oppstår blødning, eller at gjellefilamentene forkortes og fortykkes (29). Det er videre kjent at termisk behandling oppleves stressende for fisken. Stress vil føre til hypertensjon, og dette regnes som en risikofaktor for utvikling av aneurismer, som vil bli omtalt senere (1). Studier gjort på mus indikerer i tillegg at hypertensjon vil være en risikofaktor for ruptur av aneurismer (30), og det kan tenkes at dette er overførbart til fisk. Dersom hypertensjon medfører ruptur av lamellære aneurismer, vil dette kunne forårsake gjelleblødning.

Det ble observert en signifikant økning i forekomsten av gjellenekrose etter avlusing (G2, G4), og resultatene viste en statistisk høyere sannsynlighet for opptreden av nekrose når fisken hadde korte gjellelokk. Nekrose kan oppstå som følge av blant annet brudd i blodsirkulasjonen i sekundærlamellene, som videre vil føre til celledød (31). De nekrotiske områdene vil følgelig medføre at tilgjengelig areal for gassutveksling reduseres. Mulige årsaker til brudd i sirkulasjonen kan tenkes å være mekanisk traume eller ruptur av aneurismer.

### **Histologiske funn**

Gjellene består av et relativt lavt antall ulike cellulære komponenter, og følgelig kan et begrenset antall histopatologiske responser observeres. De vanligst observerte forandringene gjenspeiler endringer i membranpermeabiliteten, og manifesterer seg som oppsvulming av lamellære epitelceller eller som ødem i det subepiteliale rommet, her kalt lifting (18).

Det ble observert en signifikant økning i forekomsten av epitelial lifting det første døgnet etter avlusing. Lifting regnes som en forsvarsmekanisme ettersom det medfører økt avstand mellom vann og blod. Slike forandringer er uspesifikke, og kan oppstå i situasjoner hvor gjellene utsettes for ulike irritanter. Denne studien indikerer at varmt vann muligens kan være en slik irritant. Som en konsekvens av økt avstand mellom vann og blod forstyrres oksygenopptaket, men dette kan kompenseres for ved å øke respirasjonsfrekvensen. Ved god vannkvalitet og tilstrekkelig tid kan disse lesjonene avhele, men ved svært uttalte forandringer kan lifting resultere i nekrose av epitelcellene. Dette kan videre føre til respiratoriske og osmoregulatoriske forstyrrelser, og i ytterste konsekvens død (18, 32-34).

Forekomsten av akutte aneurismer steg i etterkant av avlusing, men det ble ikke påvist statistisk signifikante forskjeller da avlusede grupper ble sammenlignet med G0. Det ble heller ikke

påvist effekt av korte gjellelokk på forekomsten av akutte aneurismer. Trolig dannes akutte aneurismer ved at pilasterceller (modifiserte endotelceller) skades. Dette fører til en dilatasjon av lamellære kapillærer, med påfølgende opphopning av blod. Hvorvidt termisk behandling i seg selv fører til skade på pilastercellene er imidlertid ikke kjent (1). Dersom fisk med akutte aneurismer skades ytterligere, vil disse kunne rupturere og resultere i fatal blødning. I tilfeller hvor det foreligger et høyt antall aneurismer vil evnen til gassutveksling over gjellene reduseres. Dette vil være av betydning spesielt ved høye vanntemperaturer, hvor løseligheten av oksygen i vannet er lav, samtidig som det metabolske behovet for oksygen er høyt. Uttalt aneurismedannelse på sekundærlamellene krever relativt lang helingstid, sammenlignet med for eksempel hyperplastiske lesjoner. Helingstiden vil avhenge av blant annet vanntemperaturen, hvor prosessen vil ta lengre tid ved lave temperaturer (18).

De akutte aneurismer vil med tiden utvikle seg til subakutte og kroniske aneurismer, enten gjennom trombosering, fibrosering eller resorpsjon (18). Forekomsten av subakutte aneurismer steg i tiden etter avlusing, med høyest forekomst i G3. Økningen viste seg imidlertid ikke statistisk signifikant. Vi observerte økt forekomst av subakutte aneurismer hos fisk med korte gjellelokk, og statistiske analyser viste at denne sammenhengen var signifikant.

Forekomsten av kroniske aneurismer var 40 % i G0, mens den i G4 var 55 %. Statistiske analyser predikerte at antall kroniske aneurismer øker i G4 sammenlignet med G0 og G1. Hvorvidt 17 dager var nok til å registrere en økning i forekomsten av kroniske aneurismer, er til vår viten ikke kjent. Forekomsten var relativt høy allerede i G0, noe som kan skyldes at fisken tidligere har gjennomgått termisk avlusing, men det kan også skyldes andre forhold.

Vi observerte en signifikant økning i forekomsten av fusjon i G4, sammenlignet med de øvrige gruppene. Lamellær fusjon kan oppstå i løpet av 48 timer etter eksponering for skadelig stimulus (35). Dette kan være et resultat av massiv lamellær hyperplasi (18), og vil medføre at diffusjonsavstanden mellom blod og vann øker betraktelig. Effektiv gassutveksling er avhengig av at vann og blod kommer i nærkontakt, slik at gassene kan forflytte seg mellom væskene. Uttalt hyperplasi vil føre til at diffusjonen blir mindre effektiv. Skade på gjellene vil også representere en inngangsport for infeksiose agens, og infeksjon vil medføre inflammasjon i gjellevevet, med påfølgende fortykkelse og sammenvoksing av sekundærlamellene. Det vil dermed bli mindre overflate tilgjengelig for gassutveksling, og oksygenopptaket begrenses. Fisken kan kompensere for dette under normale forhold, men kan oppleve utfordringer i belastende situasjoner, hvor det både er lavere oksygentilgang og oksygenforbruket er forøket. Stress vil generelt føre til økt oksygenbehov, og fisken kan i ytterste konsekvens dø av kvelning (36).

Observasjoner gjort i denne studien indikerer at gjellene er et utsatt organ ved termisk avlusing. Fisk med korte gjellelokk viste seg spesielt utsatt for skade ved slik behandling, og generelt vil god gjellehelse være av stor betydning for om fisken tåler påkjenningene en slik behandling medfører.

### **Feilkilder**

Det ble ikke systematisk tatt bilder av gjellene på begge sider av fisken, og det er dermed mulig at det foreligger en underestimert forekomst av gjelleblødninger. Det samme vil gjelde for forekomsten av gjellenekrose. Forekomsten av bilateralt forkortet gjellelokk er dermed også ukjent.

## **Øye**

Forekomsten av makroskopisk øyeskade, i form av corneablakking, viste en signifikant økning fra G0 til G1, men de statistiske beregningene var som nevnt i resultatdelen noe usikre. Forekomsten av epitelial erosjon var høyest i G4, men ettersom resultatene viste stor variasjon ble det ikke gjort statistiske beregninger. Statistisk analyse for vakuolisering i corneaepitelet viste en signifikant økning i forekomsten etter behandling, fra G2 til og med G4.

Som tidligere nevnt vil øynene være utsatt for mekanisk skade ved håndteringsprosedyrer, blant annet på grunn av deres plassering. I tillegg til å representere en barriere mot patogener, hindrer intakt corneaepitel at vann trekker inn i stroma, og dette er med på å opprettholde corneas transparens (37). Cornea består av fem lag, som fra ytterst til innerst omfatter epitel, basalmembran (Bowmans membran), stroma, basalmembran (Descemets membran) og endotel (38). Dersom epitelet skades, vil vann fra omgivelsene kunne trekke inn i stroma, og de stromale bindevevsfibrene sprenes fra hverandre. Makroskopisk vises dette som blakking av cornea. Hastigheten for tilheling av corneaepitelet varierer mellom ulike fiskearter, men mekanismen er den samme som hos pattedyr (39). Epiteliale sår heler ved at epitelcellenes mitoseaktivitet øker, samtidig som celler fra sårkanten migrerer inn i såret (40).

I tillegg til å representere et velferdsproblem, og trolig et smerteaspekt, vil øyeskade kunne føre til nedsatt syn. Redusert syn kan medføre at fisken ikke utøver normal unngåelsesatferd, og vil dermed kunne skade seg ytterligere ved at den svømmer inn i innretninger i merden, eksempelvis notveggen. Fisken vil heller ikke være i stand til å fastslå den nøyaktige plasseringen av pellets i vannmassene, noe som kan medføre nedsatt fôropptak og videre redusert tilvekst (19).

Vi observerte øyeforandringer etter avlusing, både makroskopisk og histologisk, men resultatene viste stor variasjon og ingen tydelige tendenser. Det kan dermed ut fra denne studien ikke konkluderes med om hvorvidt øyet er utsatt for skade ved termisk avlusing, og heller ikke hvordan eventuelle skader utviklet seg i tiden etter.

### ***Feilkilder***

Det har vist seg vanskelig å preparere øye for histologisk vurdering, og dette har medført at antall vurderbare fisk i hver gruppe har blitt svært varierende.

### **Thymus**

Thymusparenchymet avgrenses fra omgivelsene av et epitel, som utgjør en kontinuerlig, ugjennomtrengelig barriere mot utsiden av fisken. Epitelcellene mangler evnen til å ta opp og presentere antigener, og thymusparenchymet regnes derfor for å være godt beskyttet mot vannbårne antigener (41). Med sin overfladiske plassering, i øvre del av gjellehulen, kan det tenkes at thymusepitelet er utsatt for skade ved termisk avlusing. Dersom fremmede antigener fra omgivelsene passerer epitelbarrieren, kan det utvikles toleranse overfor disse, og fisken vil dermed ikke utvikle en immunrespons (42). Følgelig vil infeksjoner som kroppen ellers hadde klart å bekjempe, kunne bli fatale. Vi har imidlertid ikke undersøkt skade på epitelet, både på grunn av mangel på prøver fra kontrollgruppen for sammenligning med avlusset fisk, i tillegg til problemer ved preparering av snitt.

Det ble observert blødninger i thymus, både makroskopisk og histologisk, hos fisk som hadde gjennomgått avlusing. Hos flere teleoster er det beskrevet en blod-thymus-barriere som morfologisk og funksjonelt er lik den som er beskrevet hos høyerestående vertebrater (41).

Denne barrieren består av et spesialisert endotel som kler innsiden av blodkarene, og forhindrer at fremmede antigener kommer inn i thymus. Det kan tenkes at denne barrieren er brutt hos fisk hvor det ble observert blødning, da blødning oppstår som følge av for eksempel brudd på kapillærer. Dette vil medføre utvikling av toleranse overfor antigener som befinner seg i blodet. Blødning kan oppstå som følge av hypertensjon, og det kan tenkes at stresset fisken opplever under avlusingen kan være en faktor i utviklingen av blødningene vi har observert. Blødningene kan også skyldes andre faktorer, som for eksempel varmtvannet fisken behandles med, men her bør videre undersøkelser foretas.

Det ble ikke gjort systematiske undersøkelser av thymus i denne studien, hverken makroskopisk eller histologisk. De beskrevne forandringene var derfor kun av kvalitativ karakter, men resultatene våre viste tendenser til at thymus kan være utsatt for skade ved termisk avlusing. Videre studier bør gjennomføres for å avdekke årsakene til forandringene vi observerte.

## **Generelle feilkilder**

### **Prøveuttak**

I kontrollgruppen ble det av praktiske årsaker avlivet 20 fisk samtidig, og det tok dermed en stund før prøver fra de siste fiskene ble tatt ut. Fisken lå imidlertid i kaldt sjøvann frem til uttak av prøvene. I kontrollgruppen ble det også benyttet for lite anestesimiddel til avlusingen, slik at fisken kavet en stund i karet før anestesi inntraff. Om og eventuelt hvilke følger dette har fått for resultatene våre, vet vi ikke.

Fire av fiskene i utvalget kom opp med dødfiskhåven, men var fortsatt levende og ble derfor inkludert. Det er mulig at transporten opp har forårsaket skade på ytre organer, som feilaktig

har blitt satt i sammenheng med avlusingen. To fisk var såkalte «pinner», og det er mulig at disse ikke var representative for tilstanden på fiskene ellers i merden. Fiskene ble målt og lengden ble notert i felt, og feilaktig registrering kan ha forekommet. Ved uttak av snitt til histologisk vurdering er det tenkelig vi kan ha forårsaket vevsskade, ettersom dette var noe vi hadde begrenset erfaring med.

### **Makroskopisk vurdering**

Forekomsten av makroskopiske skader ble vurdert på bakgrunn av bildene som ble tatt i felt. Ved vurdering av forekomsten av corneaødem var det på enkelte bilder vanskelig å se om det var reelle forandringer eller gjenskin. Vi har imidlertid ekskludert fiskene hvor vi var i tvil om forandringene var reelle. Det er i tillegg mulig at det har forekommet feil ved innføring av verdier i databasen.

### **Histologisk vurdering**

Ved histologisk preparering vil det oppstå artefakter og prepareringsfeil, og dette har også vært tilfelle ved preparering av våre snitt. Vår erfaring med vurdering av histologiske snitt var begrenset, og det kan derfor ikke utelukkes at vi både har over- og underestimert forekomsten av forandringer i snittene. Vår manglende erfaring gjør det også mulig at vi har feiltolket artefakter, og registrert disse som forandringer. På grunn av svært mange snitt, er det mulig at vi ikke har vært konsekvente gjennom hele vurderingsprosessen. Vi prøvde imidlertid å kompensere for dette ved å se på snittene flere ganger, i tillegg til at vi hadde definerte kriterier for forandringene som ble registrert. Det er også mulig at det har forekommet feil ved innføring av verdier i databasen.



## **Generaliserbarhet**

Fisken som ble undersøkt i denne studien nærmet seg slakteklar størrelse. Det foretas sjelden avlusing av fisk på denne størrelsen, og det er derfor mulig at forekomsten av slag- og trykkskader var høyere enn det som ses når mindre fisk avluses.

Vi utførte et naturlig eksperiment, med utgangspunkt i en behandlingsform som per dags dato praktiseres i norsk oppdrettsnæring. Derfor har vi vurdert den eksterne validiteten som god. Vi vil anta at resultatene vi fant kan overføres til fisk av lignende størrelse som i fremtiden skal gjennomgå termisk avlusing etter standard prosedyre.

## **Konklusjon**

Hovedformålet med denne studien var å undersøke forekomsten og utviklingen av forandringer i hud, finner, øye, gjeller og thymus i tiden etter termisk avlusing. Vi har tre delmål, hvor første delmål tar for seg omfanget av eventuelle forandringer som kunne relateres til avlusingsprosessen, sammenlignet med observasjoner gjort i kontrollgruppen. Vi observerte forandringer i alle de undersøkte organene etter termisk avlusing. Funnene våre samsvarte med observasjoner gjort i tidligere studier, men vi kunne i varierende grad angi statistisk signifikans.

Det ble i felt registrert høy forekomst av korte gjellelokk, og vi valgte derfor å undersøke om dette disponerte for forandringer i form av gjelleblødning og -nekrose etter avlusing. Forekomsten av gjelleblødning var signifikant høyere umiddelbart etter avlusing hos fisk med korte gjellelokk. I tillegg økte sannsynligheten for forekomst av gjellenekrose når gjellelokkene var korte. Korte gjellelokk hadde også en signifikant effekt på forekomsten av subakutte aneurismer. En slik effekt ble derimot ikke påvist for akutte og kroniske aneurismer.

Både akutte og kroniske forandringer i gjellene ble registrert for å vurdere om forekomsten av disse henholdsvis sank eller økte i tiden etter avlusingen. Lifting og akutte aneurismer ble klassifisert som akutte forandringer, mens fusjon, clubbing, betennelse og kroniske aneurismer ble klassifisert som kroniske. Vi observerte økt forekomst av både akutte og kroniske forandringer, og disse opptrådte på varierende tidspunkt etter avlusingen.

Hud ble i hovedsak vurdert for akutte forandringer, herunder blødning, økt blodfylde og epidermal erosjon, i tillegg til inflammasjon. Det ble ikke påvist makroskopisk hudblødning i kontrollgruppen. Som forventet steg forekomsten og graden av hudblødning rett etter avlusing, for så å avta med økende tid etter behandlingen. For mikroskopisk hudblødning ble det

observert en signifikant økning i forekomsten frem til 48 timer etter behandling. Økningen i forekomsten av epidermal erosjon ble vist signifikant i flere av de avluste gruppene.

Andre delmål innebar å undersøke sammenhengen mellom fiskens lengde og forekomsten/alvorlighetsgraden av eventuelle makroskopiske og/eller histopatologiske forandringer. Dette delmålet ble i utgangspunktet kun ansett som biologisk relevant for hud. Det ble ved hjelp av statistiske analyser påvist effekt av fiskens lengde på grad av makroskopisk hudblødning, noe som vil si at blødningene synes å bli mer uttalt ved økende fiskelengde. Sannsynligheten for mikroskopisk hudblødning økte ved økende lengde, og vi så en signifikant økning i forekomsten av hudblødning helt frem til 48 timer etter behandling. Det ble også påvist en sammenheng mellom økt blodfylde og fiskens lengde, uavhengig av tid etter behandling. Fiskens lengde viste seg også å ha en effekt på antall av akutte aneurismer.

I tredje delmål undersøkte vi om enkelte organer utpekte seg som mer utsatt for skade. Våre funn indikerte at gjeller og hud er utsatte organer ved termisk avlusing. Hudforandringene som ble observert vil representere et velferdsproblem, samt medføre utfordringer knyttet til at hudbarrieren er brutt. Gjellelesjonene vi observerte vil trolig, ved god vannkvalitet og tilstrekkelig tid, kunne avhele. Uttalte forandringer kan imidlertid tenkes å føre til respiratoriske og osmoregulatoriske forstyrrelser, og i ytterste konsekvens død. Når det gjelder øye og thymus kunne vi derimot ikke konkludere med om hvorvidt disse organene er utsatt for skade ved termisk avlusing, og heller ikke hvordan eventuelle skader utviklet seg i tiden etter behandling. Vi har ikke grunnlag for å uttale oss om hvorvidt det var den termiske komponenten eller den mekaniske håndteringen som førte til de observerte skadene. Vi kan heller ikke si noe om effekten av gjentatte behandlinger, og hvorvidt tidligere behandlinger har hatt innvirkning på resultatene våre. For å besvare dette bør ytterligere studier foretas.

## **Takk til bidragsytere**

Forfatterne ønsker å takke

Øystein Evensen for initiativ til fordypningsoppgaven og veiledning underveis. Han har koordinert og tilrettelagt for prøveuttak, hjulpet med de statistiske beregningene, samt bidratt under skriveprosessen og med ferdigstilling av oppgaven.

Sandra Radunovic og Cris Florin Asavei for hjelp til forberedelser på lab før prøveuttak.

Anlegg A for sin deltagelse i studien, og god hjelp i felt.

Veterinærinstituttet for fremstilling av histologiske snitt.

Eystein Skjerve for behandling av rådata og statistikk.

Rolf Bjerke Larsen for veiledning ved utarbeiding av protokoll.

David Persson for hjelp til utarbeiding av figurer.

## **Summary**

Thermic delousing has been the most frequently used method of delousing in Norway over the last 4-5 years. The aim of this study was to investigate the occurrence and development of macroscopic and histopathological lesions following this treatment. Earlier studies have claimed that thermic delousing causes pathological changes in exposed organs. Our study therefore included the eye, integument, fins, gills and thymus. The fish were photographed and measured before sampling. Samples were taken from 20 fish at each of the five designated times; before delousing, 0, 24, 48 hours after treatment and 17 days following treatment

The prevalence and distribution of integumental bleeding increased after delousing, but decreased over time. Our results showed a correlation between bleeding and increasing fish length, which is also shown with regard to increased blood density in the integument. The occurrence of epidermal erosion was shown to be significantly increased. Gill bleeding showed a significant increased occurrence immediately after delousing, while necrosis developed over time. Shortened opercula showed an effect on the occurrence of both parameters. Other lesions in gill tissue were classified as acute or chronic. The occurrence of aneurysms increased after delousing, but the significance varied for the different types of aneurysms observed.

The pathological changes in the integument represents both a welfare problem and challenge due to disruption of the skin barrier. Provided good water quality and sufficient time, lesions observed in the gills may heal. However, severe changes may lead to respiratory and osmoregulatory disturbances, the utmost consequence being death. Examination of the thymus and eye did not provide any conclusive findings and, based on the results, it cannot be concluded whether thermal delousing causes damage to these organs.

## Referanser

1. Poppe T, Dalum AS, Røislien E, Nordgreen J, Helgensen KO. Termisk behandling av laks. Norsk Veterinær Tidsskrift 2018; 3 (3):148-156.
2. Rajesh E, Jimson S, Masthan K M K, Balachander N. Ghost cell lesions. J Pharm Bioallied Sci. 2015 Apr; 7 (1):142–144. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4439654/>.
3. Store norske leksikon [Internett]. Hypertrofi. [hentet 2019-03-27]. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/hypertrofi> [
4. UiO Institutt for biovitenskap [Internett]. Hyperton. [hentet 2019-04-24]. Tilgjengelig fra: <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/h/hyperton.html>.
5. Veterinærinstituttet [Internett]. Lakselus. [hentet 2019-03-25]. Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/lakselus> [
6. Brodal P. Sentralnervesystemet. 5. utgave Universitetsforlaget, 2013. .
7. Kierulf P [Internett]. Osmoregulering. Oslo: Universitetet i Oslo; 2016. [hentet 2019-04-24]. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/osmoregulering>.
8. Evensen S A [Internett]. Petekkier. [hentet 2019-04-11]. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/petekker>.
9. Store norske leksikon [Internett]. Resistens. [hentet 2019-03-27]. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/resistens>.
10. Berg T [Internett]. Slik fungerer avlusninga - og så mye koster den å utføre. [hentet 2019-03-27]. Tilgjengelig fra: <https://ilaks.no/slik-fungerer-avlusninga-og-sa-mye-koster-den-a-utfore/> [
11. Hjeltes B, Bang Jensen B, Bornø G, Haukaas A, Walde C S (red). Fiskehelsesrapporten 2018, utgitt av Veterinærinstituttet 2019.
12. Norges sjømatråd [Internett]. Sjømateksport for 99 milliarder i 2018. [hentet 2019-03-25]. Tilgjengelig fra: <https://seafood.no/aktuelt/nyheter/sjomateksport-for-99-milliarder-i-2018-/>.

13. Kyst.no [Internett]. Betydningen av eksterne og interne smittekilder for lakselus. [Hentet 25.03.2019]. Tilgjengelig fra: <https://www.kyst.no/article/betydningen-av-eksterne-og-interne-smittekilder-for-lakselus/> [
14. Forskrift om lusebekjempelse. 2012. Forskrift om bekjempelse av lakselus i akvakulturanlegg 2012-12-05-1140. Lovdata [hentet 2019-03-25]. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2012-12-05-1140>.
15. Elliott JM. Some aspects of thermal stress on freshwater teleosts. I: Pickering AD, ed. Stress and fish. London: Academic Press; 1981: 209–45.
16. Steinsvik [Internett]. Thermolicer. [Hentet 25.03.2019]. Tilgjengelig fra: <https://www.steinsvik.no/no/produkter/n/seaculture/fiskehelse/thermolicer> [
17. Tveit K [Internett]. Stor etterspørsel av Thermolicer. [Hentet 2019-03-25], Tilgjengelig fra: <https://www.kyst.no/article/stor-ettersp-oslash-rsel-av-thermolicer/> [
18. Roberts R J, Rodger H D. The Pathophysiology and Systemic Pathology of Teleosts. I: Fish Pathology. 4th ed. UK: Blackwell Publishing Ltd, 2012: 62-143. .
19. Nilsson J et. al (Nofima). Del A. Fiskevelferd og oppdrettslaks, kunnskap og teoretisk bakgrunn. I: Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd. 3. utgave, 2018: 9-134. .
20. BioMar [Internett]. Skinnhelse og sårproblemer. [hentet 2019-03-27]. Tilgjengelig fra: <https://www.biomar.com/no/norway/arkiv/helse/helseutfordringer/hudhelse-og-sarproblemer/>.
21. Lind M B [Internett]. Fluidpermeabelt luseskjørt (SalGard™) og fiskevelferd i oppdrett av atlantisk laks (*Salmo Salar L.*) i Nord-Norge. [hentet 2019-04-08]. Tilgjengelig fra: <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/7749/thesis.pdf?sequence=2>.
22. Cao J, Chen Q, Lu M, Hu X, Wang M. Histology and ultrastructure of the thymus during development in tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Anatomy* 2017;230:720-733. DOI: 10.1111/joa.12597.
23. dos Santos et al. Ontogeny of B and T cells in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Fish & Shellfish Immunology* 2000;10(7):583-596. DOI: 10.1006/fsim.2000.0273.

24. Veterinærinstituttet, generell framstilling av parafinsnitt. Teknikksamling for Veterinærinstituttet 2004;1(1):1-5.
25. Veterinærinstituttet, hematoxylin-eosin (HE-farging). Teknikksamling for Veterinærinstituttet 2018;5(1):12.
26. Espmark Å M, Humborstad O B, Midling K Ø. Pumping av torsk og laks, faktorer som påvirker velferd og kvalitet. Nofima mai 2012. Tilgjengelige fra:  
<https://www.nofima.no/filearchive/Rapport%2006-2012.pdf>.
27. Espmark Å M, Kolarevic J, Hansen Ø A, Nilsson J. Pumping og håndtering av smolt. Nofima februar 2015. Tilgjengelig fra:  
[https://www.researchgate.net/publication/299473684\\_Pumping\\_og\\_handtering\\_av\\_smolt\\_in\\_Norwegian\\_with\\_English\\_summary](https://www.researchgate.net/publication/299473684_Pumping_og_handtering_av_smolt_in_Norwegian_with_English_summary).
28. Gismervik K et al. (Nofima). Del C. Bruk av operative velferdsindikatorer i forbindelse med ulike håndteringsprosedyrer. I: Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd. 3. utgave, 2018: 209-312.
29. Branson E J, Turnbull T. Welfare and Deformities in Fish. Fish Welfare. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2008: 207.
30. Yoshiteru T et al. Roles of Hypertension in the Rupture of Intracranial Aneurysms. Stroke 2014;45 (2): 579-586 <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.003072>.
31. Roald B [Internett]. Nekrose. [hentet 2019-04-12]. Tilgjengelig fra:  
<https://sml.snl.no/nekrose>.
32. Camargo MMP, Martinez CBR. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology 2007;5(3): 327-336. Tilgjengelig fra: <http://www.scielo.br/pdf/ni/v5n3/a13v5n3.pdf>.
33. Cengiz EI. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. Environmental Toxicology and Pharmacology 2006;22(2): 200-204 DOI:10.1016/j.etap.2006.03.006.
34. Strzyzewska E, Szaarek J, Babinska I. Morphologic evaluation of the gills as a tool



in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: a review. *Veterinarni Medicina* 2016;61(3): 123-132. DOI: 10.17221/8763-VETMED.

35. Speare D J, Ferguson H W. Gills and Pseudobranchs. I: Systemic pathology of fish : a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. 2nd ed. London: Scotian Press, 2006: 25-59.

36. BioMar [Internett]. Gjellesykdommer. [hentet 2019-03-27]. Tilgjengelig fra <https://www.biomar.com/no/norway/fiskehelse/helseutfordringer/gjellesykdommer/> [

37. Kapoor B G, Hara T J. The fish cornea: adaptations for different aquatic environments. I: Sensory Biology of Jawed Fishes - New Insights. Science Publishers Inc., 2001: 57-96.

38. Kvellestad A. Fiskeanatomi. NMBU Veterinærhøgskolen, november 2018. .

39. Ubels JL, Edelhauser HF. Healing of corneal epithelial wounds in marine and freshwater fish. *Current Eye Research* 1983;2(9): 613-618.

40. Bjerkås E. Veterinær oftalmologi. 1. utgave. Oslo: Tell forlag, 1998.

41. Castillo A, Razquin B, Villena AJ, Zapata AG, López-Fierro P. Thymic barriers to antigen entry during the post-hatching development of the thymus of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & Shellfish Immunology* 1998;8(3): 157-170.

<https://doi.org/10.1006/fsim.1997.0128>.

42. Secombes CJ, Ellis AE. The Immunology of Teleosts. I: Fish Pathology. 4th ed. UK: Blackwell Publishing Ltd, 2012: 144-166.

## Vedlegg

### Vedlegg makroskopisk vurdering

#### Makroskopisk vurdering

Bildene under illustrerer hvordan den makroskopiske vurderingen av fisken har blitt foretatt.

#### Hud

0: Ingen forandringer

1: Litt hudblødning



2: Moderat hudblødning



3: Markert hudblødning



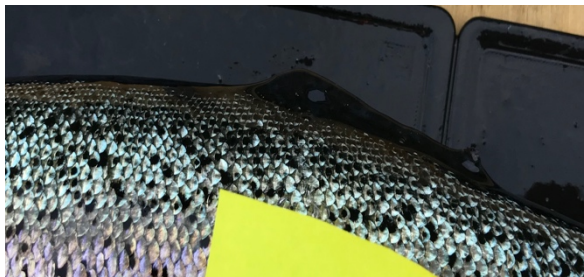
## **Ryggfinne**

0: Ingen forandringer

1: Skadet ryggfinne ved splitting og/eller blødninger (aktiv skade)



2: Manglende/underutviklet ryggfinne (mulig helbredet skade)



## **Brystfinne**

Nei (0): Ingen forandringer

Ja (1): Skadet brystfinne (splittet, blødninger)





**Øye**

Nei (0): Ingen forandringer

Ja (1): Blakking av cornea



**Forkortet/deformert gjellelokk**

Nei (0): Normale gjellelokk, lamellene er ikke eksponert

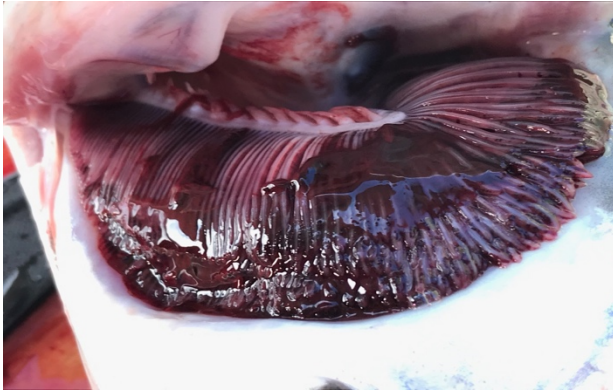
Ja (1): Gjellelokkene er tydelig forkortet, og lamellene er eksponert



**Gjelleblødning**

Nei (0): Ingen forandringer

Ja (1): Makroskopisk synlig blødning



**Gjellenekrose**

Nei (0): Ingen forandringer

Ja (1): Gråhvite områder på tuppen av lamellene





## Vedlegg histologisk vurdering

### Histologisk vurdering

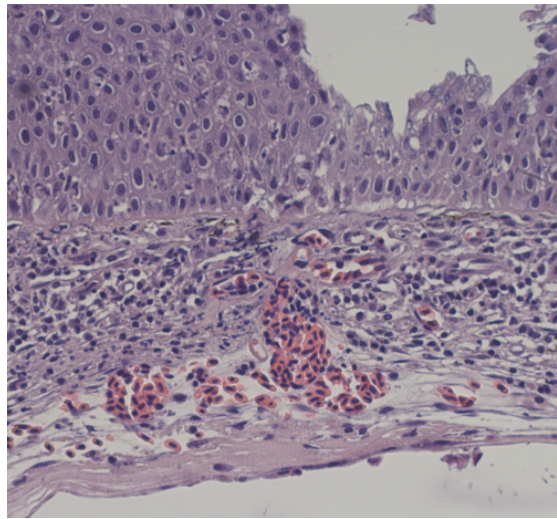
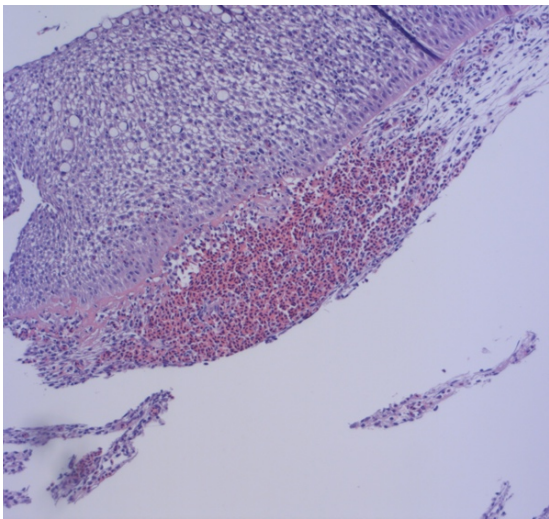
Bildene under illustrerer hvordan den histologiske vurderingen av fisken har blitt foretatt.

#### Hud

##### *Blødning*

Nei (0): Ikke tilstedeværelse av frie røde blodceller i vevet.

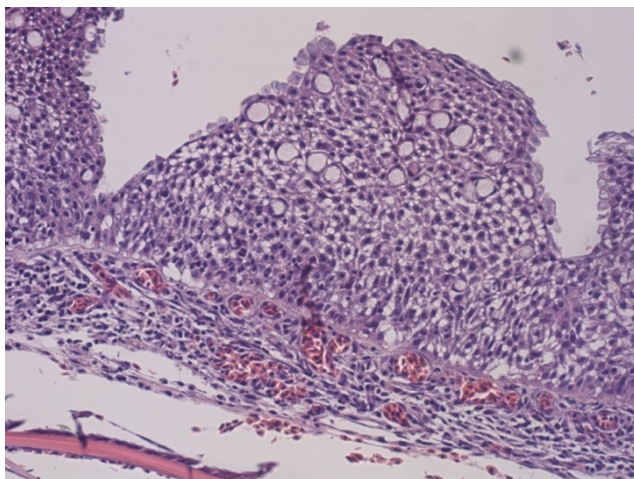
Ja (1): Tilstedeværelse av frie røde blodceller i vevet.



##### *Økt blodfylde*

Nei (0): Normal blodfylde i kar i subepidermalt vev.

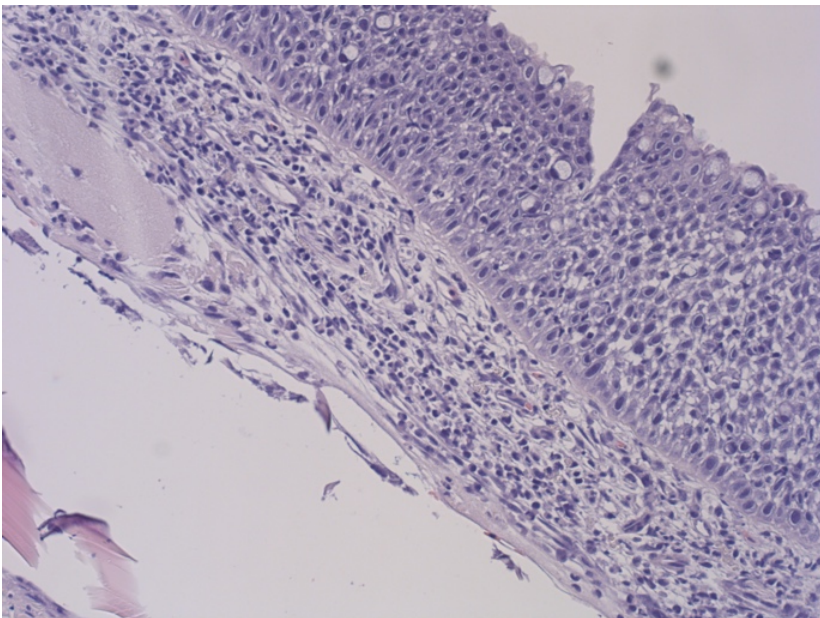
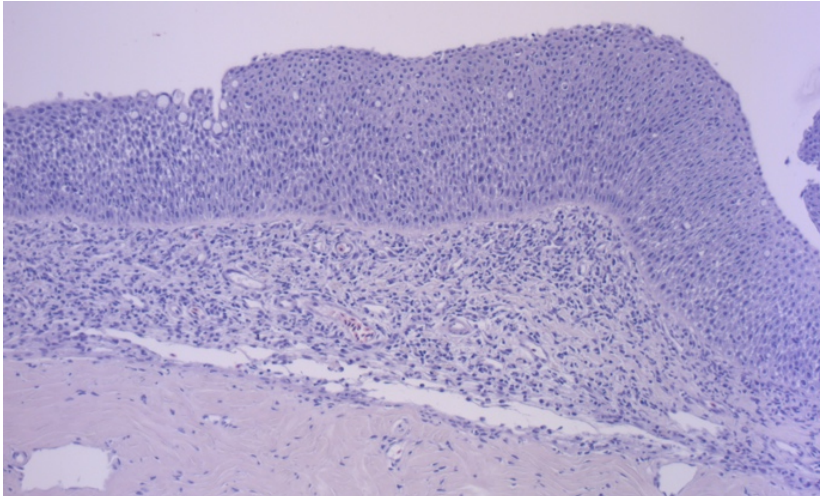
Ja (1): Aktivt økt blodfylde i kar i subepidermalt vev.



*Inflammasjon*

Nei (0): Ikke tilstedeværelse av betennelsesceller, ødem og karreaksjon.

Ja (1): Infiltrasjon av betennelsesceller (nøytrofile granulocytter, lymfocytter, makrofager), ødem og karreaksjon.

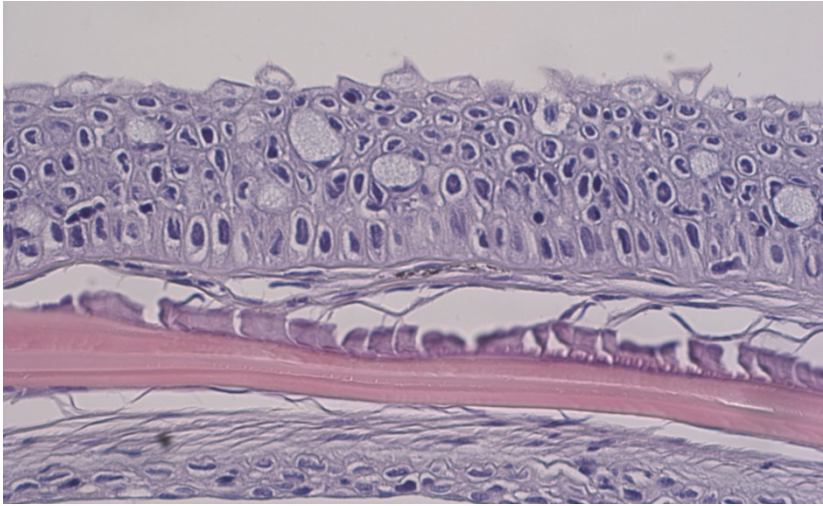




*Erosjon*

Nei (0): Avflatet og noenlunde intakt øvre cellelag.

Ja (1): Erosjon av øverste cellelag. Tilstedeværelse av ghost cells og vakuoler.

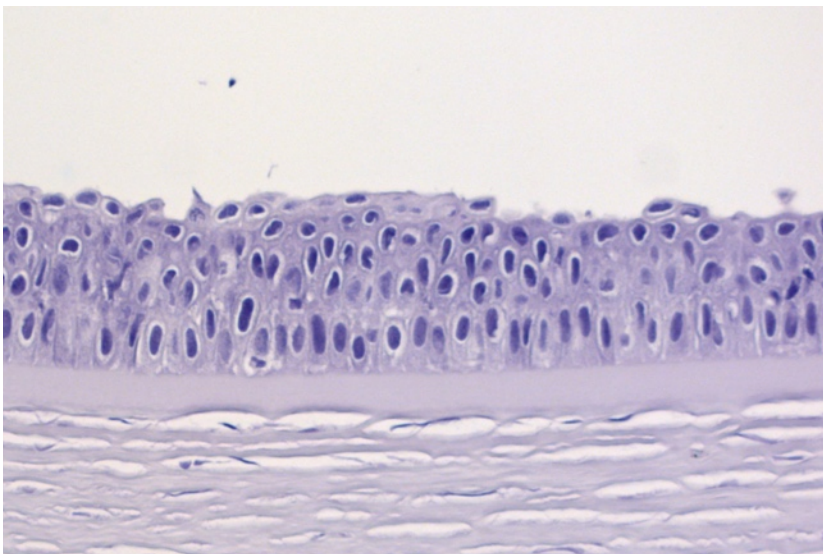


**Øye**

*Erosjon*

Nei (0): Kontinuerlig øvre cellelag i cornea.

Ja (1): Avflatet øvre cellelag av cornea er brutt.

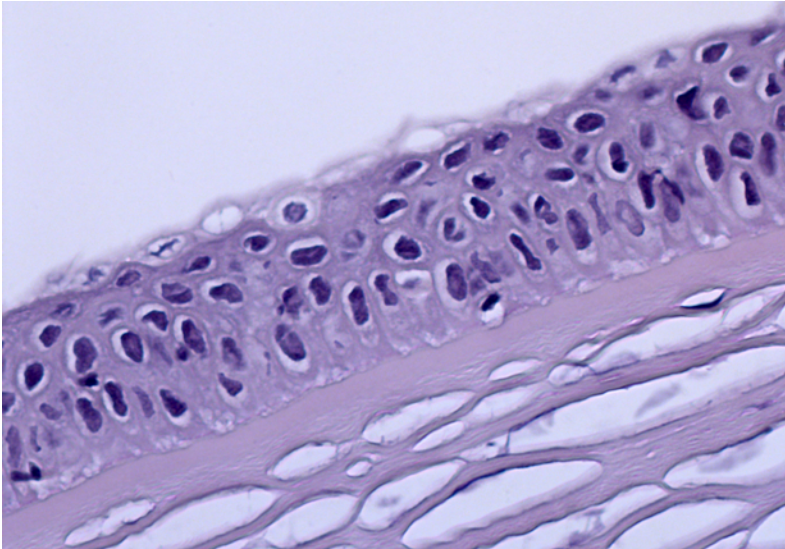




*Vakuolisering*

Nei (0): Normalt corneaepitel, uten dannelse av vakuoler.

Ja (1): Vakuoledannelse i corneaepitelet. Dannelse av ghost cells på corneaoverflaten.

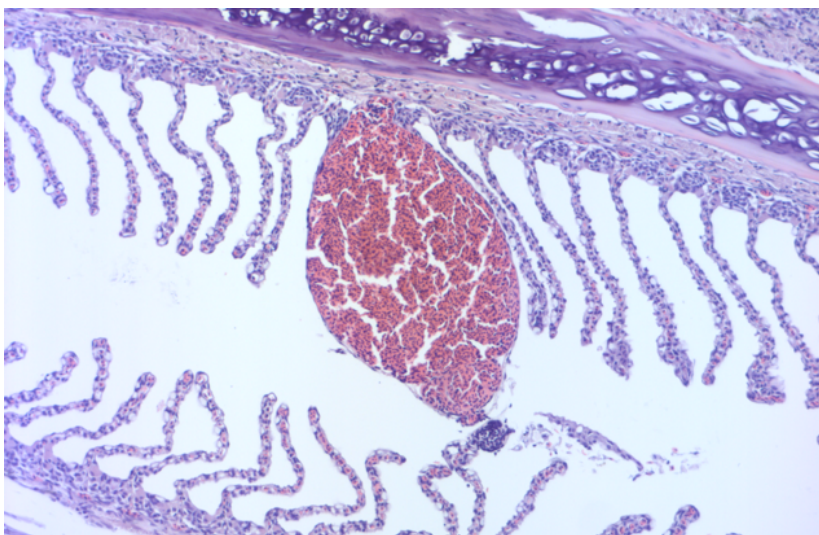


**Gjelle**

*Akutte aneurismer*

Nei (0): Ikke tilstedeværelse av akutt(e) aneurisme(r).

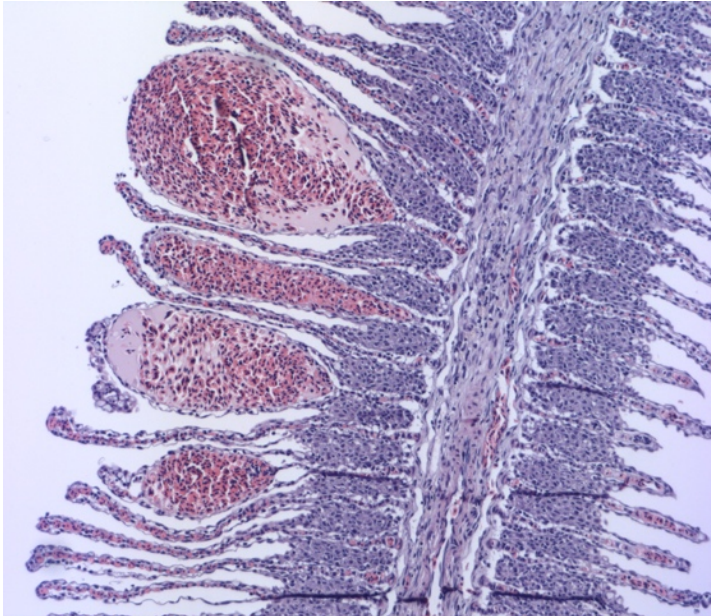
Ja (1): Røde blodceller omgitt av et tynt epitellag. Uavhengig av størrelse.



*Subakutte aneurismer*

Nei (0): Ikke tilstedeværelse av subakutt(e) aneurisme(r).

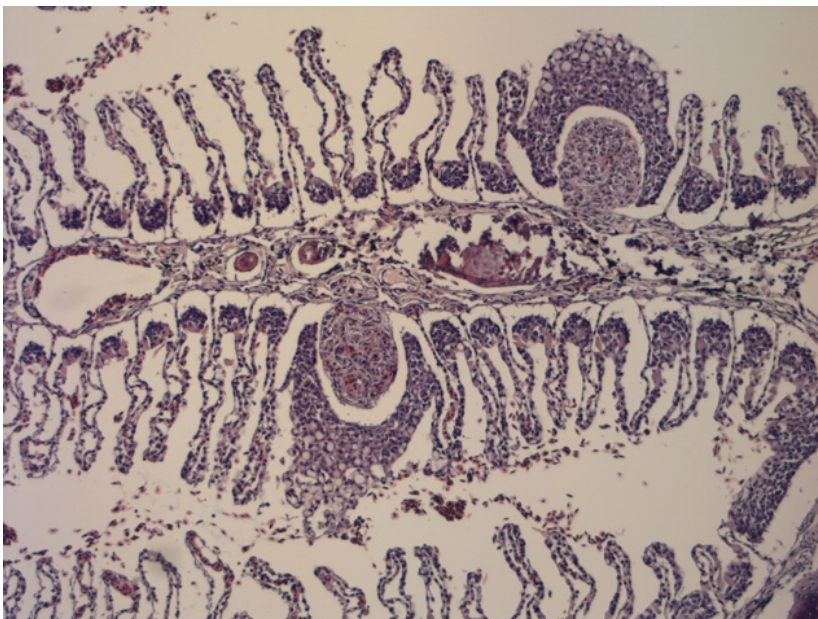
Ja (1): Organisert, hyalint materiale omgitt av tynt epitel. Uavhengig av størrelse.



*Kroniske aneurismer*

Nei (0): Ikke tilstedeværelse av kronisk(e) aneurisme(r).

Ja (1): Organisert, hyalint materiale med cellulær reaksjon rundt (> 2 cellelag). Uavhengig av størrelse.

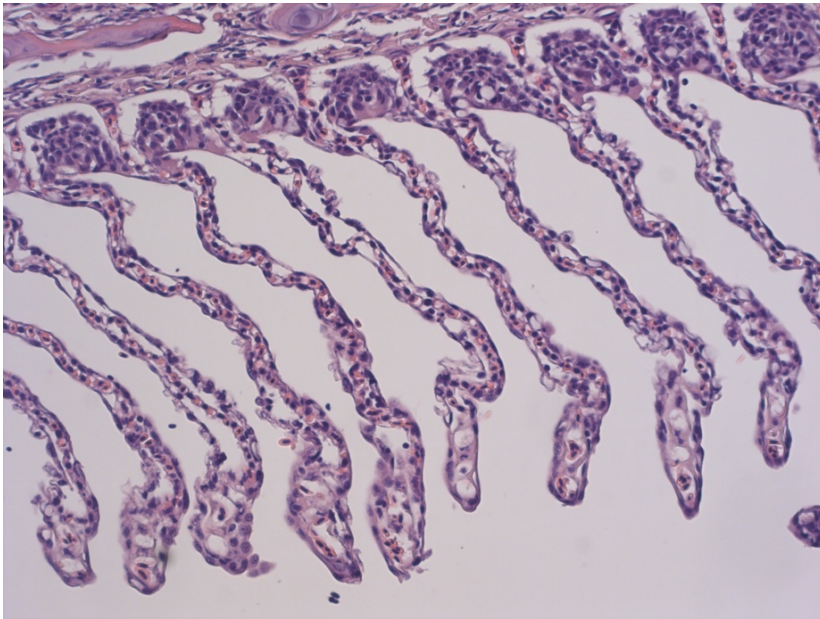




*Lifting*

Nei (0): Ikke ødem i rommet mellom de to lagene av lamellært epitel.

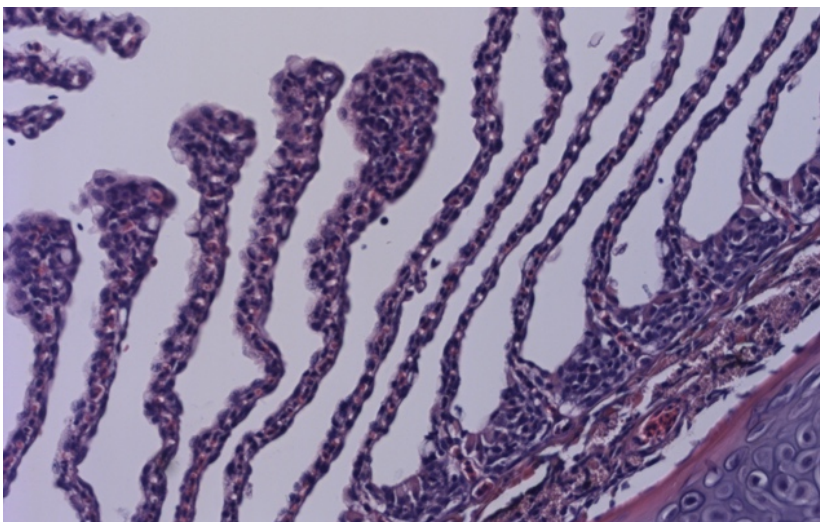
Ja (1): Interstitielt ødem i rommet mellom de to lagene av lamellært epitel. Flere sekundærlameller er affisert.



*Clubbing*

Nei (0): Normale tupper på sekundærlamellene.

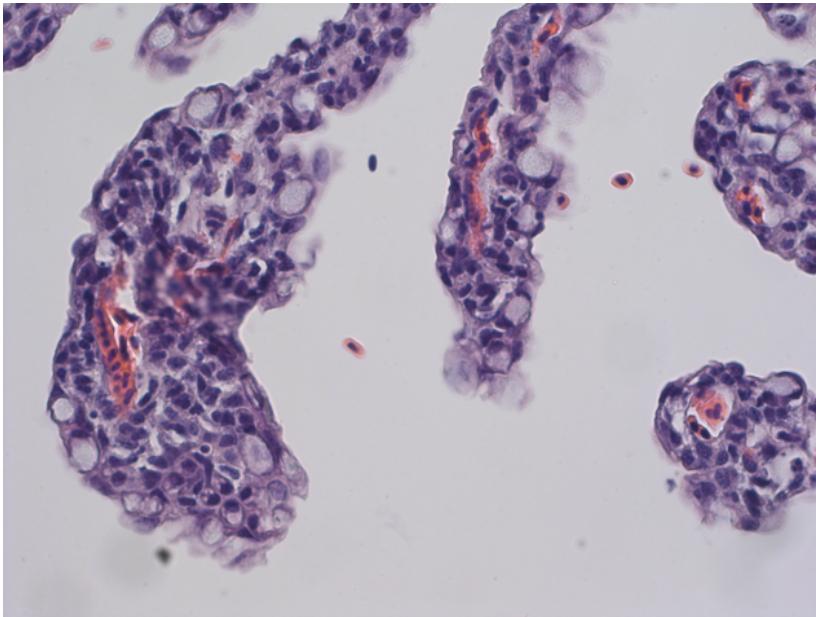
Ja (1): Hypertrofi, hyperplasi og/eller økt antall slimceller i tuppen av sekundærlamellene. Flere sekundærlameller er affisert.



*Betennelsesfokus*

Nei (0): Ikke tilstedeværelse av betennesceller og ødem i sekundærlamellene.

Ja (1): Infiltrasjon av betennesceller og ødem i sekundærlamellene.



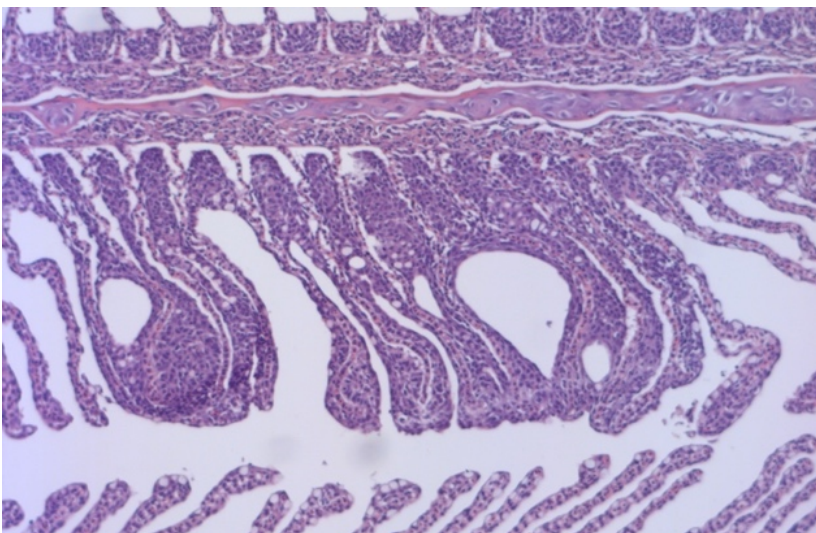
*Fusjon*

0: Ingen fusjonerte sekundærlameller.

1: Fokal fusjon av sekundærlameller (< 5 fusjoner).

2: Multifokal fusjon av sekundærlameller (5-10 fusjoner).

3: Diffus distribusjon av fusjonerte sekundærlameller (> 10 fusjoner).



## Utskrift av databasen

ID	Gruppe	Tid	Fisk	Lengde 0/1	Lengde	Ma, gjelle, blødning	Ma, gjelle, nekrose	Korte gjellelokk	Makro, ryggfinne	Makro, brystfinne	Makro, øye	Makro, hud (0/1)	Makro, hud, grad
1	0	0	1	1	69	1	0	1	0	1	0	0	0
2	0	0	2	0	64	0	0	1	1	1	0	0	0
3	0	0	3	0	61	0	0	0	2	1	0	0	0
4	0	0	4	1	71	0	1	1	0	1	0	0	0
5	0	0	5	0	65	0	0	1	1	0	0	0	0
6	0	0	6	1	72	0	0	1	1	1	0	0	0
7	0	0	7	0	60	0	0	0	1	1	0	0	0
8	0	0	8	1	67	0	1	1	1	1	0	0	0
9	0	0	9	1	67	0	0	0	1	1	0	0	0
10	0	0	10	0	61	0	0	0	1	1	0	0	0
11	0	0	11	0	62	0	0	0	1	1	0	0	0
12	0	0	12	1	68	0	0	1	1	1	0	0	0
13	0	0	13	0	62	0	0	1	1	1	0	0	0
14	0	0	14	0	57	0	0	0	1	1	0	0	0
15	0	0	15	0	58	0	0	0	1	1	0	0	0
16	0	0	16	1	72	0	0	1	2	1	0	0	0
17	0	0	17	1	72	0	0	0	1	1	1	0	0
18	0	0	18	1	75	0	0	1	1	1	0	0	0
19	0	0	19	0	56	0	0	0	1	1	0	0	0
20	0	0	20	0	65	0	0	0	1	1	0	0	0
21	1	1	1	0	53	0	0	1	1	1	0	1	2
22	1	1	2	0	63	0	0	1	1	1	0	1	2
23	1	1	3	0	63	0	0	1	1	1	0	1	1
24	1	1	4	0	54	0	0	0	2	1	0	0	0
25	1	1	5	0	50	1	1	1	1	0	1	0	0
26	1	1	6	0	62	0	0	1	2	1	1	0	0
27	1	1	7	0	54	1	0	1	1	1	0	1	1
28	1	1	8	0	54	1	1	1	0	1	0	1	1
29	1	1	9	0	63	1	0	1	1	1	1	1	2
30	1	1	10	0	65	1	0	0	1	1	0	1	2
31	1	1	11	1	69	0	0	1	1	1	1	1	2
32	1	1	12	1	66	1	0	1	1	1	1	1	1
33	1	1	13	1	70	1	0	1	1	1	0	1	2
34	1	1	14	0	65	1	0	1	1	1	0	0	0
35	1	1	15	1	68	1	0	1	1	1	1	1	2
36	1	1	16	0	56	0	0	0	2	1	1	0	0
37	1	1	17	1	70	1	0	1	1	1	1	1	3
38	1	1	18	1	67	1	0	1	2	1	1	1	2
39	1	1	19	0	62	1	0	1	2	1	0	0	0
40	1	1	20	0	59	0	0	0	2	1	1	0	0

41	2	24	1	0	63	0	1	1	1	1	1	0	1	1
42	2	24	2	0	57	1	0	1	1	1	1	0	1	1
43	2	24	3	1	75	1	1	1	1	1	1	0	1	1
44	2	24	4	0	65	0	1	1	1	1	1	0	1	3
45	2	24	5	0	48	0	0	0	0	1	1	0	1	2
46	2	24	6	0	58	0	0	0	0	2	1	1	0	0
47	2	24	7	0	64	0	0	1	1	1	1	0	1	1
48	2	24	8	1	71	0	0	1	1	1	1	0	1	2
49	2	24	9	0	53	0	0	0	0	1	1	1	1	1
50	2	24	10	0	48	0	1	1	2	1	1	0	1	2
51	2	24	11	1	68	0	0	1	2	1	1	0	1	1
52	2	24	12	1	74	0	0	1	2	1	1	0	1	2
53	2	24	13	1	70	0	1	1	1	1	1	0	1	2
54	2	24	14	1	66	1	1	1	1	1	1	1	1	1
55	2	24	15	0	62	0	0	1	1	1	1	0	1	3
56	2	24	16	0	64	0	0	1	2	1	1	0	1	1
57	2	24	17	1	70	1	0	1	1	1	1	0	1	1
58	2	24	18	1	72	1	0	1	1	1	1	1	1	1
59	2	24	19	1	66	0	1	1	1	1	1	0	1	3
60	2	24	20	1	71	0	1	1	1	1	1	0	1	3
61	3	48	1	0	53	0	0	0	0	1	1	0	1	1
62	3	48	2	0	64	1	1	1	1	1	1	0	1	2
63	3	48	3	1	66	0	0	1	1	1	1	0	1	3
64	3	48	4	1	70	0	0	1	1	1	1	0	1	1
65	3	48	5	1	69	1	1	1	1	1	1	1	1	2
66	3	48	6	1	71	0	1	0	1	1	1	0	0	0
67	3	48	7	1	71	0	0	1	1	2	1	0	1	2
68	3	48	8	1	68	0	0	1	0	1	1	0	1	2
69	3	48	9	0	54	0	1	0	2	1	1	0	0	0
70	3	48	10	0	58	0	0	1	1	1	1	0	1	1
71	3	48	11	0	59	0	0	1	1	1	0	0	0	0
72	3	48	12	0	59	0	0	1	1	1	1	0	1	1
73	3	48	13	1	81	0	0	1	1	1	1	0	1	2
74	3	48	14	1	71	1	0	1	1	1	1	0	1	1
75	3	48	15	1	72	0	0	1	1	1	1	0	1	2
76	3	48	16	1	72	1	1	1	1	1	1	0	1	1
77	3	48	17	0	62	0	0	1	1	1	1	0	0	0
78	3	48	18	1	69	0	0	1	2	1	1	0	1	1
79	3	48	19	1	70	0	0	1	1	1	1	0	1	2
80	3	48	20	0	57	0	0	0	0	2	1	0	1	1

81	4	408	1	1	68	1	1	1	1	1	0	0	0
82	4	408	2	0	65	0	0	0	2	1	0	1	1
83	4	408	3	1	79	1	1	1	1	1	0	0	0
84	4	408	4	1	77	1	0	1	1	1	0	0	0
85	4	408	5	1	71	0	0	1	2	1	0	1	1
86	4	408	6	1	72	0	1	1	1	1	0	1	1
87	4	408	7	1	68	0	1	1	1	1	0	1	1
88	4	408	8	1	66	0	1	1	2	0	0	0	0
89	4	408	9	1	71	0	0	1	1	1	0	1	1
90	4	408	10	1	71	0	0	1	2	1	0	1	1
91	4	408	11	1	67	0	0	1	1	1	0	1	1
92	4	408	12	1	70	0	0	1	1	1	0	1	1
93	4	408	13	1	76	0	0	1	1	1	0	0	0
94	4	408	14	1	66	0	1	1	2	0	0	1	1
95	4	408	15	1	71	0	1	1	2	1	0	0	0
96	4	408	16	1	75	0	0	0	2	1	0	1	1
97	4	408	17	1	77	0	0	0	2	1	0	0	0
98	4	408	18	0	58	0	0	0	1	1	0	1	1
99	4	408	19	0	65	0	0	0	1	1	0	1	1
100	4	408	20	1	69	1	1	1	1	1	1	1	1

ID	Gruppe	Mi, hud, blødning	Mi, hud, økt blodfylde	Mi, hud, inflammasjon	Mi, hud, epidermis	Mi, øye, erosjon	Mi, øye, vakuolisering
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	1	0
3	0	0	0	0	1	0	0
4	0	0	0	0	0	0	1
5	0	1	0	0	0		
6	0	0	0	0	0	1	0
7	0	0	0	0	0	1	0
8	0	0	0	0	0		
9	0					1	0
10	0	0	0	0	0		
11	0	0	0	0	0		
12	0	0	0	0	1	0	0
13	0	0	0	0	1	1	0
14	0	0	0	0	1	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0		
17	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	1	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0
21	1	0	0	1	1	1	0
22	1	1	0	1	1		
23	1	1	0	1	1	1	0
24	1	0	0	1	1		
25	1	0	0	0	1		
26	1	0	0	0	1		
27	1	0	0	0	1	1	0
28	1	0	0	0	1		
29	1	0	1	1	0		
30	1	1	1	1	0		
31	1	1	1	1	0	1	0
32	1	0	0	0	0	1	1
33	1	1	1	1	0	0	0
34	1	1	1	1	1	0	1
35	1						
36	1	1	1	1	0		
37	1	1	1	1	1	0	0
38	1	0	0	0	1	0	1
39	1	0	0	0	0	0	0
40	1	0	0	0	0		



41	2	0	1	1	0	1	0
42	2	0	0	0	0	0	1
43	2	1	0	1	0	1	1
44	2	1	1	1	1		
45	2	0	0	1	0	0	0
46	2	0	0	1	1	1	0
47	2	1	1	0	1	0	0
48	2	1	1	1	1	0	1
49	2	0	1	1	1	1	1
50	2	0	0	1	1	0	0
51	2	1	0	1	1	0	1
52	2	0	1	1	0		
53	2	0	1	1	1	0	1
54	2	0	0	1	1	1	1
55	2	0	1	1	1	1	1
56	2	0	1	1	0		
57	2	0	0	1	1	1	1
58	2	0	1	1	1	1	0
59	2	1	1	1	1	0	0
60	2	1	1	1	1	1	1
61	3	0	1	0	0		
62	3	1	1	1	1	0	1
63	3	1	1	1	1	0	1
64	3	1	1	1	1	0	1
65	3	1	1	1	0	0	0
66	3	0	0	0	0	0	0
67	3	0	1	1	1	0	1
68	3	1	1	1	1	0	1
69	3	0	0	0	0	0	1
70	3	0	0	0	1	0	1
71	3	0	0	0	0	0	1
72	3	0	0	1	1	0	1
73	3	1	1	1	0	0	1
74	3	0	0	1	0	1	1
75	3	1	1	1	0	0	1
76	3	1	0	1	1	0	1
77	3	0	0	1	0	0	1
78	3	0	1	1	0	0	1
79	3	0	1	1	1	0	1
80	3	0	0	0	1		

81	4	0	0	0	0		
82	4	0	0	1	0	1	1
83	4	0	0	1	1	0	1
84	4	0	0	0	0	0	1
85	4	0	1	1	0	1	1
86	4	0	1	1	1	1	0
87	4	0	1	1	1	1	0
88	4	0	0	1	0	1	0
89	4	1	1	1	1	1	1
90	4	1	1	1	0	1	1
91	4	0	0	1	0	1	0
92	4	1	1	1	0	1	1
93	4	0	0	0	1	1	0
94	4	0	1	1	1		
95	4	0	1	1	1		
96	4	0	1	1	1	1	0
97	4	0	0	0	1	0	1
98	4	0	0	1	1	0	1
99	4	0	0	1	0	1	0
100	4	0	1	1	1	1	1

ID	Gruppe	Fusjon 0/1	Fusjon, grad	Clubbing	Betennelsesfokus	Lifting	Akutt	Akutt, antall	Subakutt	Subakutt, antall	Kronisk	Kronisk, antal
1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
2	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	2
3	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	1	1	0	1	4	1	1	0	0
5	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	2
6	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
7	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
8	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
9	0	1	1	1	1	0	1	2	0	0	1	1
10	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
12	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
13	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
17	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	2
18	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	5
19	0	0	0	1	1	0	1	6	0	0	0	0
20	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	4
21	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
22	1	0	0	1	1	0	1	8	1	1	0	0
23	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
24	1	1	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0
25	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
26	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
27	1	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
28	1	0	0	1	1	0	1	3	0	0	0	0
29	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0
30	1	0	0	1	1	1	1	62	0	0	0	0
31	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
32	1	1	1	0	1	0	1	2	0	0	0	0
33	1	0	0	1	1	0	1	8	1	4	1	4
34	1	0	0	1	1	1	1	53	1	14	1	3
35	1											
36	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
37	1											
38	1	0	0	1	1	0	1	23	0	0	0	0
39	1	0	0	1	1	1	1	14	0	0	1	1
40	1											

41	2	1	2	1	1	1	1	6	1	1	0	0
42	2	0	0	1	1	0	1	14	0	0	0	0
43	2	0	0	1	1	0	1	3	0	0	1	1
44	2	1	2	1	1	1	1	27	1	13	1	8
45	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
46	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
47	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
48	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	0
49	2	1	1	1	1	0	1	11	0	0	0	0
50	2	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
51	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
52	2	0	0	1	1	1	1	4	1	2	0	0
53	2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1
54	2	0	0	1	1	0	1	16	1	8	0	0
55	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
57	2	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	2
58	2	0	0	1	1	0	1	3	0	0	0	0
59	2	1	2	1	1	0	1	8	1	3	1	14
60	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
61	3	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0
62	3	1	1	1	1	1	1	3	1	6	0	0
63	3	1	1	1	1	0	1	33	1	8	1	1
64	3	1	1	1	1	0	1	2	1	1	0	0
65	3	0	0	1	1	1	1	52	1	13	1	2
66	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
67	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
68	3	0	0	1	1	0	1	4	1	3	0	0
69	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
70	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
71	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
72	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
73	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
74	3	1	1	1	1	0	1	37	1	34	0	0
75	3	0	0	1	1	1	1	4	1	2	1	1
76	3	1	3	1	1	0	0	0	1	2	1	59
77	3	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	2
78	3	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
79	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
80	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0

81	4	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
82	4	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
83	4	1	2	1	1	0	1	6	1	5	1	7
84	4	1	1	1	1	0	1	3	1	5	1	12
85	4	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1
86	4	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
87	4	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
88	4	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	3
89	4	1	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0
90	4	1	1	1	1	0	0	0	1	3	1	1
91	4	1	1	1	1	0	1	3	0	0	1	1
92	4	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
93	4	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1
94	4	0	0	1	1	0	1	2	1	2	0	0
95	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
96	4	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
97	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	9
98	4	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
99	4	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
100	4	1	2	1	1	0	0	0	0	0	1	26

## Medforfattererklæring

## Medforfattererklæring

Som medforfattere for følgende oppgave:

*Temporale makroskopiske og histopatologiske forandringer etter termisk avlusing hos atlantisk laks (Salmo salar)*

Skrevet av:

*Lillian Marie Jørgensen  
Ingrid Harneshaug Rød*

Bekrefter vi at følgende student:

*Ingrid Harneshaug Rød*

har bidratt i arbeidet med over nevnte oppgave som angitt i tabellen under:

Vancouver-kriterier*		Er dette kriteriet oppfylt for denne studenten? (Ja eller Nei)	Denne studentens bidrag i denne delen av oppgaven er (omtrentlig % andel)
1 (a, b eller c) og 2 (a eller b) og 3 må være oppfylt for å kvalifisere til forfatterskap for en vitenskapelig artikkel			
1a	Vesentlig bidrag til ide og planlegging av oppgaven	Ja	50
1b	Vesentlig bidrag til å framskaffe de data oppgaven bygger på	Ja	50
1c	Vesentlig bidrag i analyse og tolkning av data	Ja	50
2a	Vesentlig bidrag i skriveprosessen	Ja	50
2b	Kritisk evaluering av innholdet i oppgaven	Ja	50
3	Gjennomlesing og godkjenning av den endelig versjon av oppgaven	Ja	50

Merknader:

Dato, navn, signatur og mobiltelefon til alle forfatterne:

Dato:	Navn:	Signatur:	Mob:
25/4-19	LILLIAN M. JØRGENSEN	<i>Lillian Jørgensen</i>	482 47 923
— " —	INGRID H. RØD	<i>Ingrid H. Rød</i>	450 65 093

\*Medforfattererklæringen er laget med utgangspunkt i *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (<http://www.icmje.org/index.html> )

## Medforfattererklæring

Som medforfattere for følgende oppgave:

*Temporale makroskopiske og histopatologiske forandringer etter termisk avlusing hos atlantisk laks (Salmo salar)*

Skrevet av:

*Lillian Marie Jørgensen  
Ingrid Harneshaug Rød*

Bekrefter vi at følgende student:

*Lillian Marie Jørgensen*

har bidratt i arbeidet med over nevnte oppgave som angitt i tabellen under:

Vancouver-kriterier*		Er dette kriteriet oppfylt for denne studenten? (Ja eller Nei)	Denne studentens bidrag i denne delen av oppgaven er (omtrentlig % andel)
1 (a, b eller c) og 2 (a eller b) og 3 må være oppfylt for å kvalifisere til forfatterskap for en vitenskapelig artikkel			
1a	Vesentlig bidrag til ide og planlegging av oppgaven	Ja	50
1b	Vesentlig bidrag til å framskaffe de data oppgaven bygger på	Ja	50
1c	Vesentlig bidrag i analyse og tolkning av data	Ja	50
2a	Vesentlig bidrag i skriveprosessen	Ja	50
2b	Kritisk evaluering av innholdet i oppgaven	Ja	50
3	Gjennomlesing og godkjenning av den endelig versjon av oppgaven	Ja	50

Merknader:

Dato, navn, signatur og mobiltelefon til alle forfatterne:

Dato:	Navn:	Signatur:	Mob:
25/4-19	LILLIAN M. JØRGENSEN	<i>Lillian Jørgensen</i>	482 47 923
— " —	INGRID H. RØD	<i>Ingrid H. Rød</i>	450 65 093

\*Medforfattererklæringen er laget med utgangspunkt i *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (<http://www.icmje.org/index.html> )



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)