

Effekt på dyrevelferd av gjentatt termisk behandling med ulike Δt

Lars H. Stien, Tore Seternes (UiT), Samantha Bui, Jonatan Nilsson, Angelico Madaro, Deepti Manjari Patel, Monika F. Brinchman, Martin H. Iversen

Resultater fra arbeidspakke 2 FHF-prosjekt:

Objektiv dokumentasjon og beste praksis for å forbedre termisk avlusing (**TermVel**)

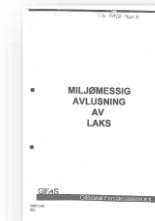


HAVFORSKNINGSINSTITUTTET



Bakgrunn

- Brunsvik 1997. Miljømessig avlusing av lus (30°C, 30s).
 - Gjorde ikke forsøk på temperaturer over 30 °C fordi de oppnådde full avlusingseffekt og siden fisken tydelig ble stresset av behandlingen
- Erikson et al. 2012. Atlantic salmon exposed to lukewarm freshwater
 - Voldsom fluktrespons i 35 °C
 - Redusert ved sedasjon (Aqui-S)
 - Mer skjelltap i termisk behandlet, ellers generell økning i skader alle grupper pga. håndtering
- Grøntvedt mfl. 2015. Termisk avlusing av laksefisk – dokumentasjon av fiskevelferd og effekt
 - Betydelig reduksjon i bevegelige lus
 - Fysiske skader som snutesår, skjelltap og finneskader, men gradvis forbedring
 - Men på en av lokalitetene utviklet det seg øyeskader over tid
- Roth, 2016. Avlusing av laksefisk med Optilice: Effekt på avlusing og fiskevelferd.
 - Betydelig reduksjon i bevegelige lus.
 - Temperaturer opp mot 33 °C i 21-30 s påfører ikke fisken skade, hverken på skinn, øye eller gjeller.
 - Men fysiske skader fra håndtering (under kontinuerlig forbedring), lav dødelighet
 - Observerte klar fluktrespons
- Mangor-Jensen mfl 2017. Varmebehandling av laks i forbindelse med avlusing
 - Eksponering av laks i størrelsen 2,5-3 kg for sjøvann opptil 34 °C i maksimalt 30 sekunder forårsaket ikke akutte ytre skader eller utvikling av skader innenfor 14 dager.



Bakgrunn

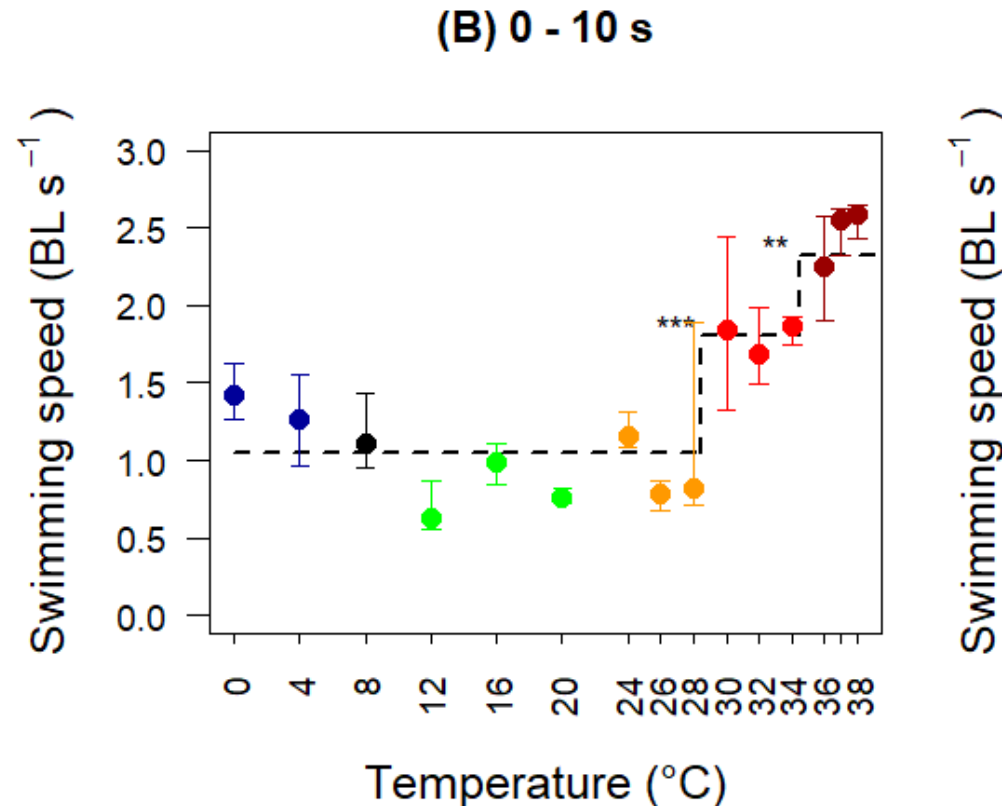
- Nordgren 2017. Brennende varmt for fisken. Morgenbladet, oktober 2017
 - Avlusingen som millioner av laks utsette for, kan være smertefull
- Nordgren mfl. 2017. Rutinemessig avlusning kan være smertefullt. Intrafish, oktober 2017.
 - Kan være smertefullt
 - Vi trenger dokumentasjon på at dyrevelferden blir ivaretatt
- Hjeltnes mfl. 2018. Fiskehelse rapporten 2017
 - Fiskehelsepersonell rapporterte høyest frekvens av akutt dødelighet fra termisk avlusning
- Poppe mfl. 2018. Termisk behandling av laks. Norsk veterinærtidsskrift
 - Fra innsendte prøver: Skader på gjelle, skinn, nesehule, tymus, hjerne
 - Påpekte at
 - Usikkert om de observerte skadene skyldes den termiske komponenten
 - Effekt av gjentatt behandling er dårlig dokumentert
 - Laksens smerteopplevelse ved termisk avlusning er ikke dokumentert
 - Dokumentasjonen av metoden er ikke tilstrekkelig for å kunne si at dyrevelferden er ivaretatt

→ **Bestilling til HI og VI fra Mattilsynet**



Studie på smerteatferd

- Nilsson et al., 2019. Sudden exposure to warm water causes instant behavioural responses indicative of nociception or pain in Atlantic salmon
 - Postsmolt Laks, ca. 230 g, ble utsatt til temperature fra 0 til 38 °C
 - Tydelig økt fluktrespons rundt 28 °C
 - Ytterligere økning mellom 34 og 36 °C

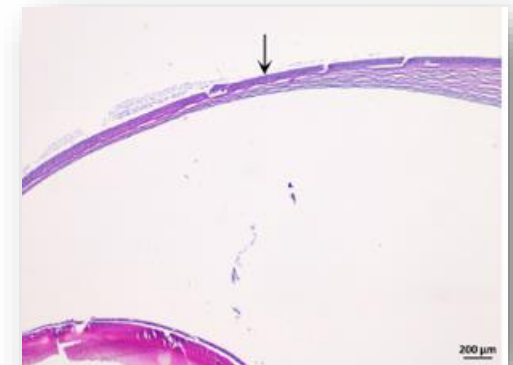


Studie på smerteatferd

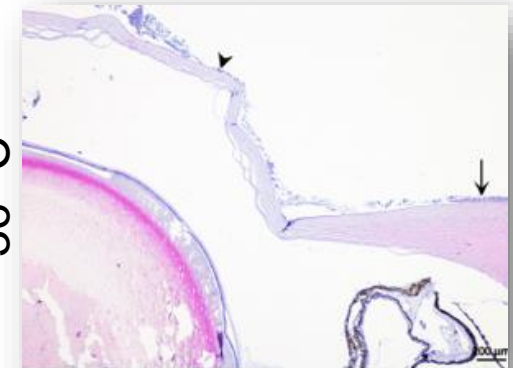
- Gismervik et al., 2019. Thermal injuries in Atlantic salmon in a pilot laboratory trial.
 - Samme forsøk som Nilson et al., 2019.
 - **NB:** Lengre tid enn vanlig i felt og høyere temperatur (72-140 sek. 34-38 °C).
- Kontroll (A og B):
 - Noe gjelleinflammasjon
 - Normal hornhinne
- Høy temperatur 36 °C:
 - Blødning i hjerne
 - Gjelleblødninger, blod- og væskeoppsamlinger, nekrose
 - Tydelig skadet hornhinne, nesten fullstendig tap av epitelceller



Kontroll



36 °C



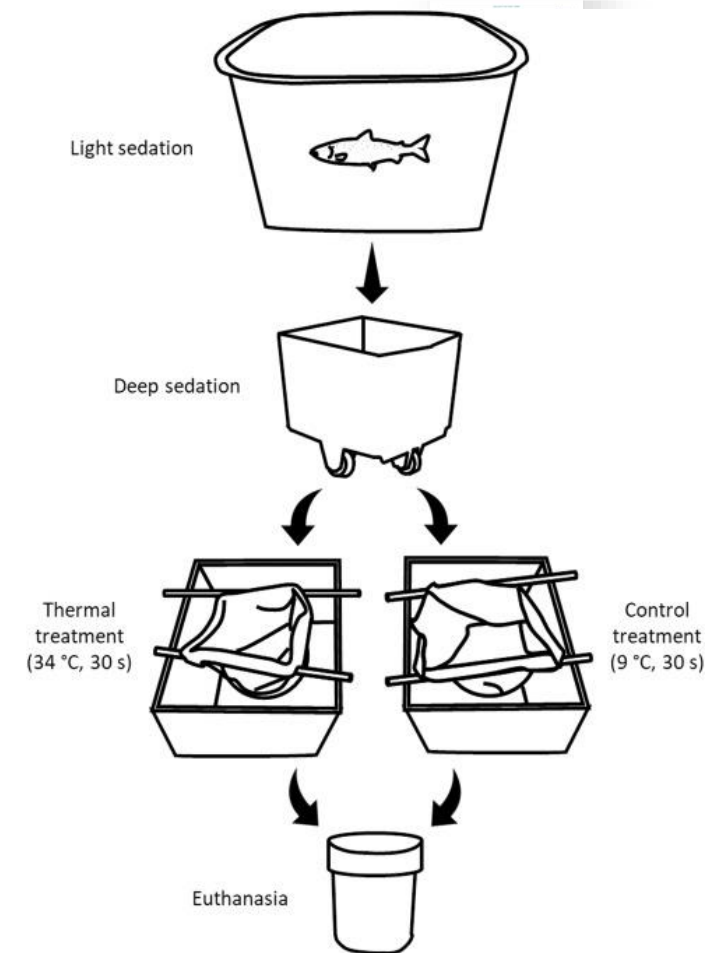
Smerte og varmtvann

- Ashley et al., 2006: Regnbueørret har smertereseptorer i hornhinnen
- Ashley et al., 2007: Smertereseptorer i skinnet til regnbueørret begynne å fyre
 - rundt 29 °C (polymodale)
 - rundt 33 °C (mekanotermiske)
- Gismervik et al., 2019 og Nilsson et al., 2019

 **Understøtter at laks opplever smerte ved eksponering til varmt vann.**

Studie på akutte skader (30 sek, 34°C)

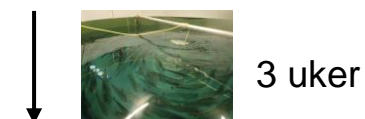
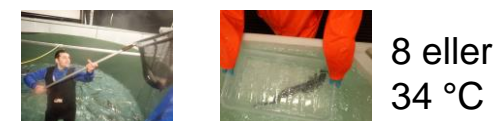
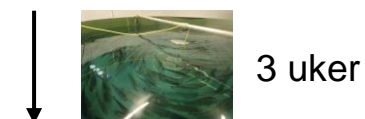
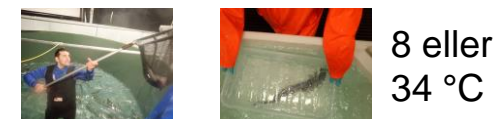
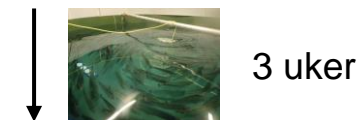
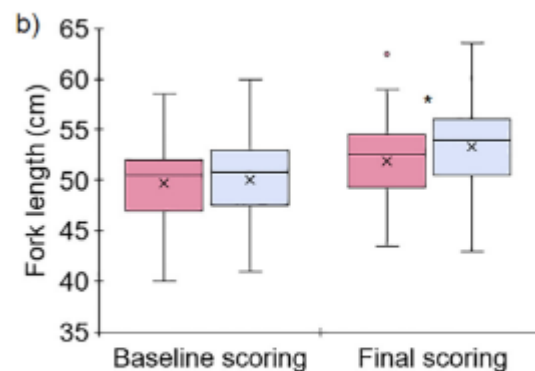
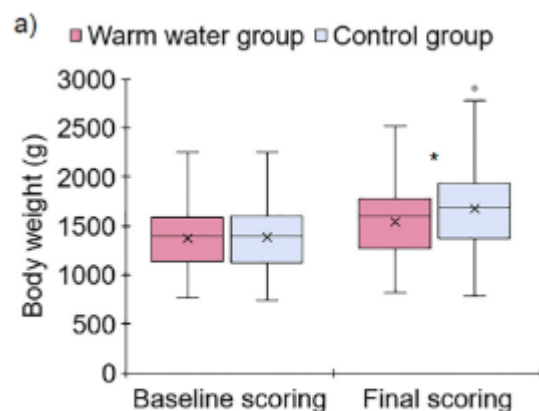
- Moltumyr et al., 2021. Does the thermal component of warm water treatment inflict acute lesions on Atlantic salmon (*Salmo salar*)?
 - 60 laks (1117 ± 250 g)
 - Sedering (først grad 1 så 3, Aqui-S)
 - 40 ble termisk behandlet (34°C, 30s)
 - 20 ble behandlet på kontroll temperatur (9 °C, 30s)
- Fisken våknet opp og hadde tydelig atferdsrespons til tross for sedering.
- Undersøkte skinn, finner, øyne, nesehule, gane, gjeller, tymus, pseudobrank, hjerne, hjerte, lever, nyrer, blind sekker, bukspyttkjertel, milt m.m.
- Fant skader både hos kontroll og termisk behandlet fisk. Den termisk behandlede fisken hadde signifikant mer finneskader, sannsynligvis pga. atferdsresponsen.



Studie på langtids effekter (30 sek, 34°C)

- Moltumyr et al., 2022. Long-term welfare effects of repeated warm water treatments on Atlantic salmon (*Salmo salar*)

- Laks, ca 1.5 kg.
- Behandlet 2 ganger med 3 ukers mellomrom, ingen sedering
- Samplet 3 uker etter siste behandling.
- Tydelig atferdsrespons
- Redusert vekst
- Signifikant mer finne- og snuteskader i varmtvannsgruppe vs. kontroll
- Signifikant mer øyeskader i varmtvannsgruppe vs. kontroll



Absolutt temperatur vs. Δt

- I alle de refererte forsøkene er utgangstemperaturen 8-9 °C, $\rightarrow 34$, $\Delta t \sim 25-26$ °C.
- Tiltaksveileder kontroll med lakselus og skottelus 2020:

Tabell 14: Termiske metoder

| Metode | Optilicer | Thermolicer |
|-----------------------------|---|---|
| Justerbare effektparametere | <p>- Temperatur. Dokumentert behandlingstemperatur er i området 28-34 °C, med en ΔT fra 20 til 22,5 °C i forhold til sjøtemperatur.</p> <p>- Holdetid. Fisken drives gjennom badet ved hjelp av skovler. Dokumentert holdetid er i området 28-30 sekunder.</p> | <p>- Temperatur. Dokumentert behandlingstemperatur er i området 28-34 °C, med en ΔT fra 20 til 22,5 °C i forhold til sjøtemperatur.</p> <p>- Holdetid. Ikke mulig å justere. Fisken bruker som regel 25-30 sekunder gjennom behandlingseenheten.</p> |

- Er resultatene de samme ved en høyere utgangstemperatur?

Forsøk AP2: Effekt av ulike temperaturer og gjentatte termiske behandlinger på fiskevelferd

FHF-prosjekt: Objektiv dokumentasjon og beste praksis for å forbedre termisk avlusing (TermVel)

Forsøksoppsett – Matre – lav Δt

Kar



Fem kar med **14 °C** vann

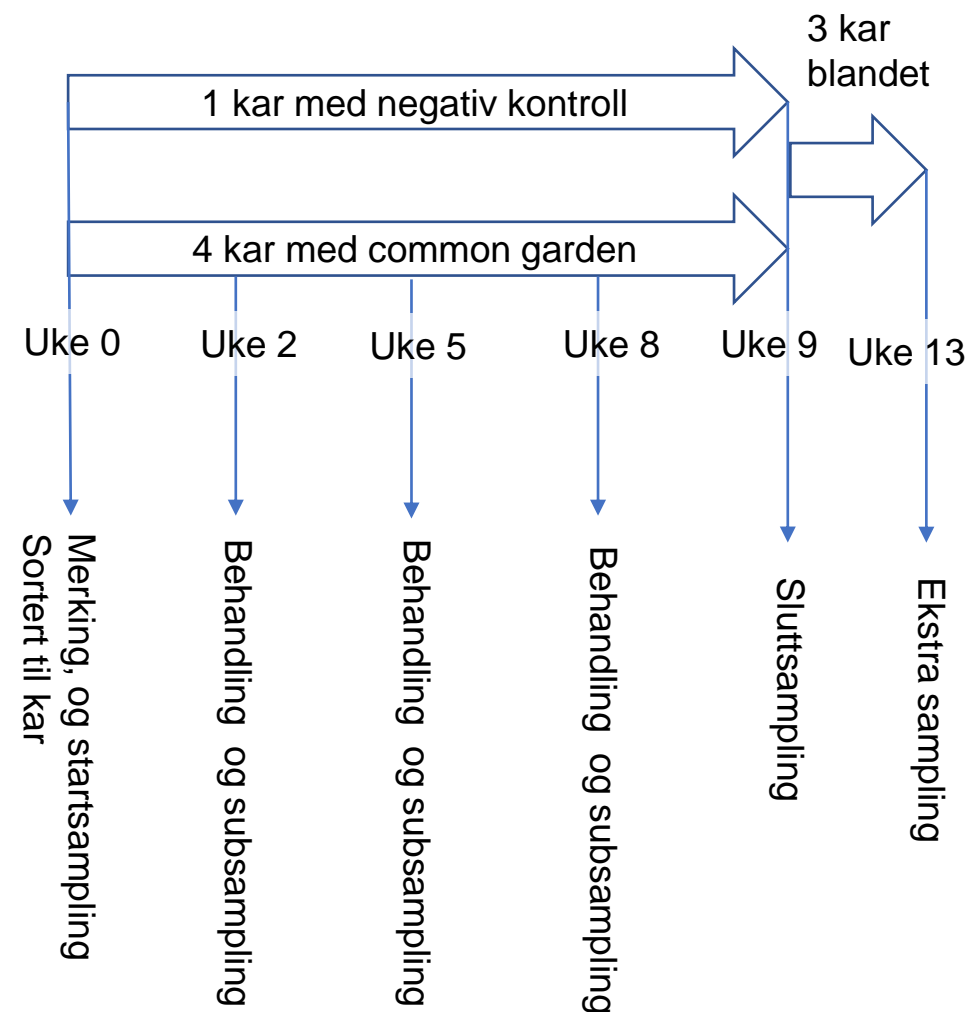
- 120 i fisk i hver, ca. 2 kg.
- 1 kar som negativ kontroll (uforstyrret)
- 4 kar med fisk fra de 4 behandlingsgruppene («common garden»)

PIT- og floydmerket

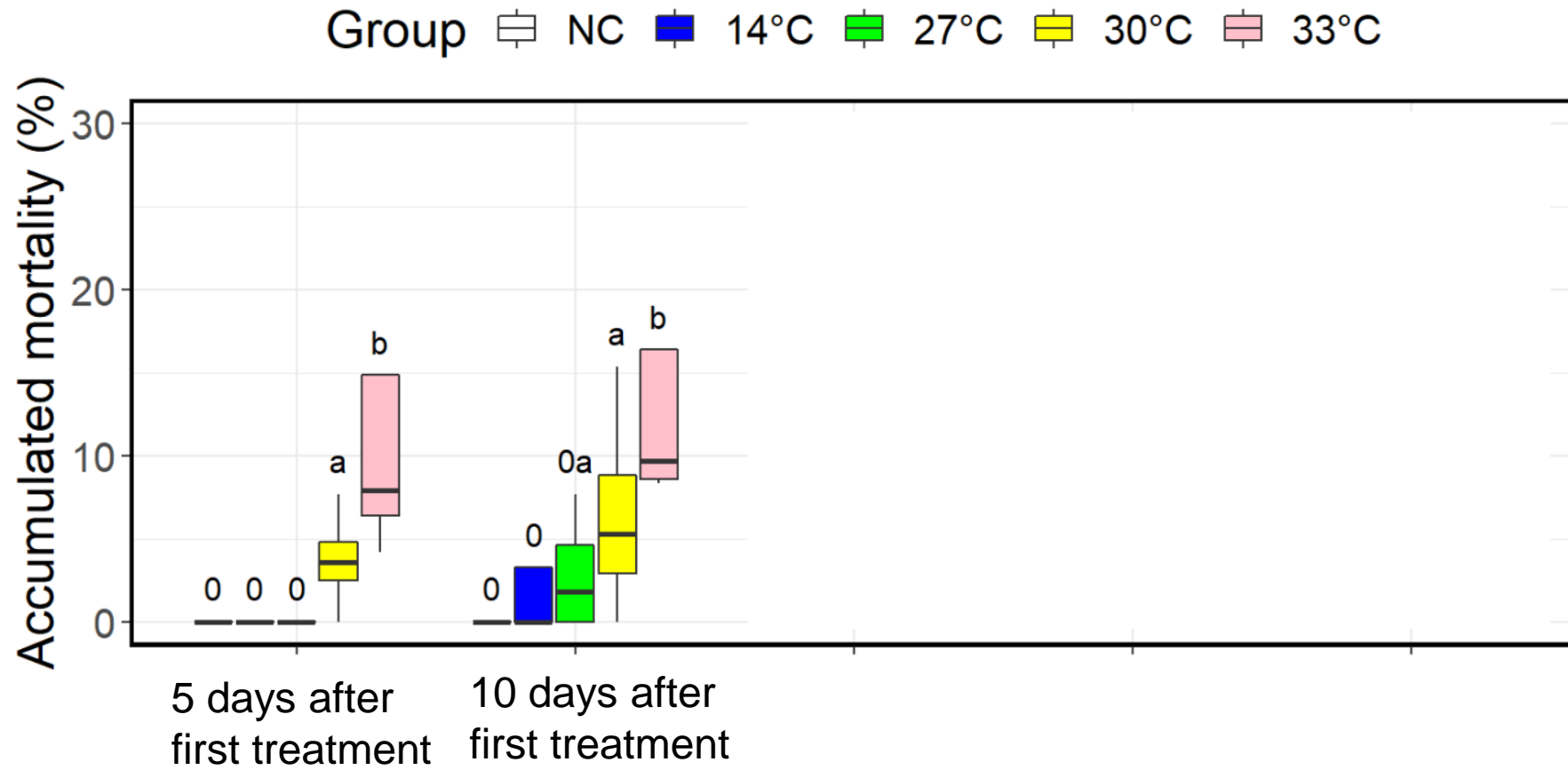


- 33 °C, $\Delta t = 19$ °C
- 30 °C, $\Delta t = 16$ °C
- 27 °C, $\Delta t = 13$ °C
- 14 °C, $\Delta t = 0$ °C
- Ingen behandling
(negative kontroll)

Planlagt tidslinje



Dødelighet



Forsøksoppsett – Matre – lav Δt

Kar



Fem kar med 14 °C vann

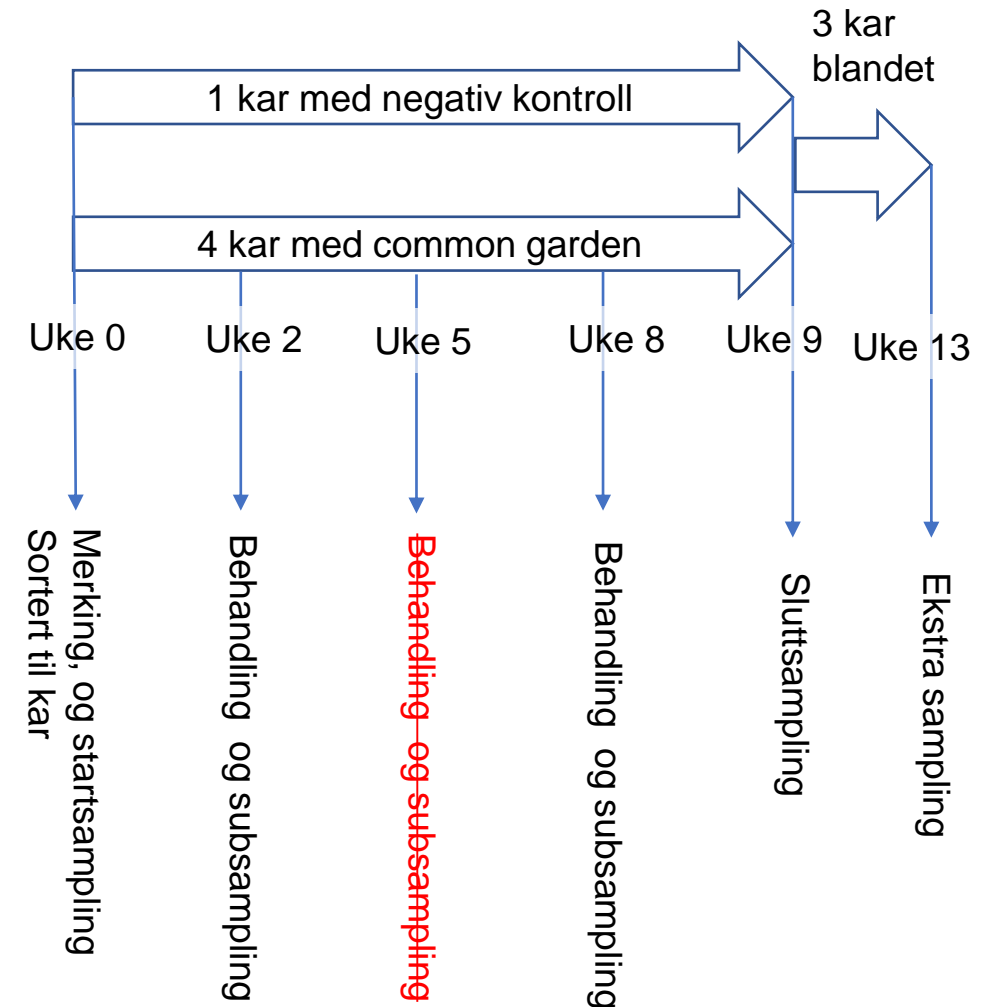
- 120 i fisk i hver, ca. 2 kg.
- 1 kar som negativ kontroll (uforstyrret)
- 4 kar med fisk fra de 4 behandlingsgruppene («common garden»)

PIT- og floydmerket

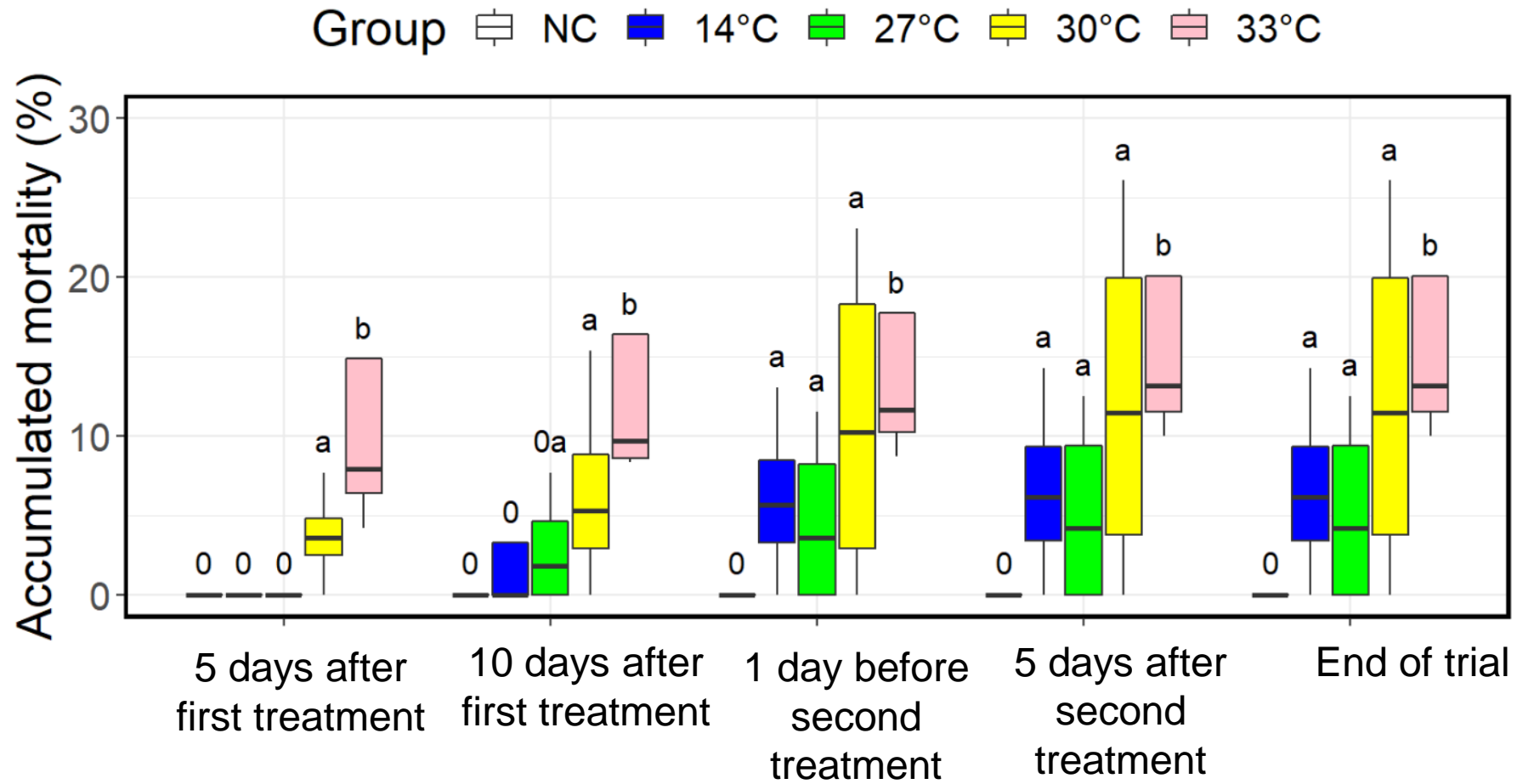


- 33 °C, $\Delta t = 19$ °C
- 30 °C, $\Delta t = 16$ °C
- 27 °C, $\Delta t = 13$ °C
- 14 °C, $\Delta t = 0$ °C
- Ingen behandling
(negative kontroll)

Planlagt tidslinje



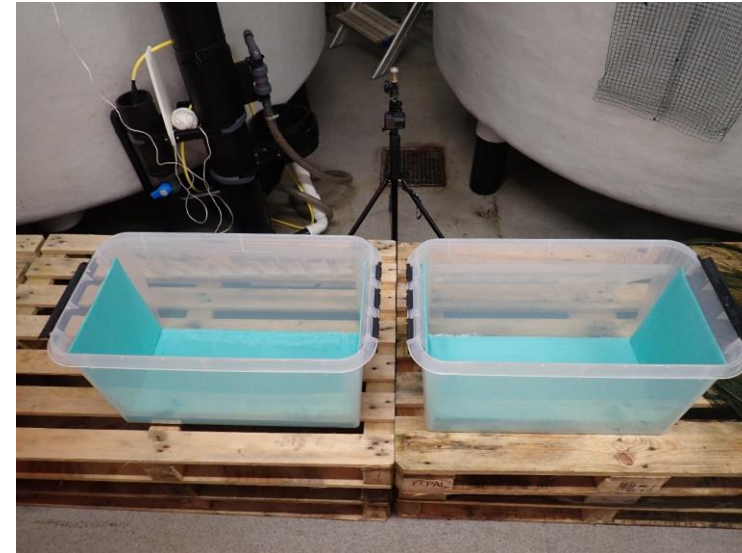
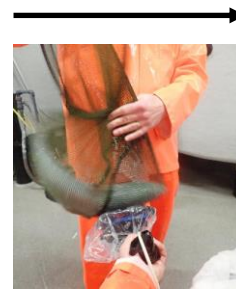
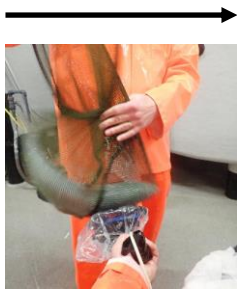
Dødelighet



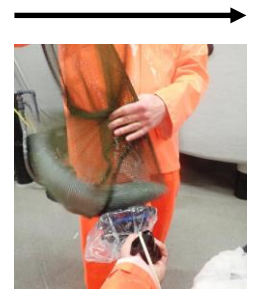
Behandling

■ 33 °C, ■ 30 °C, ■ 27 °C eller ■ 14 °C

Fra kar



Retur til kar



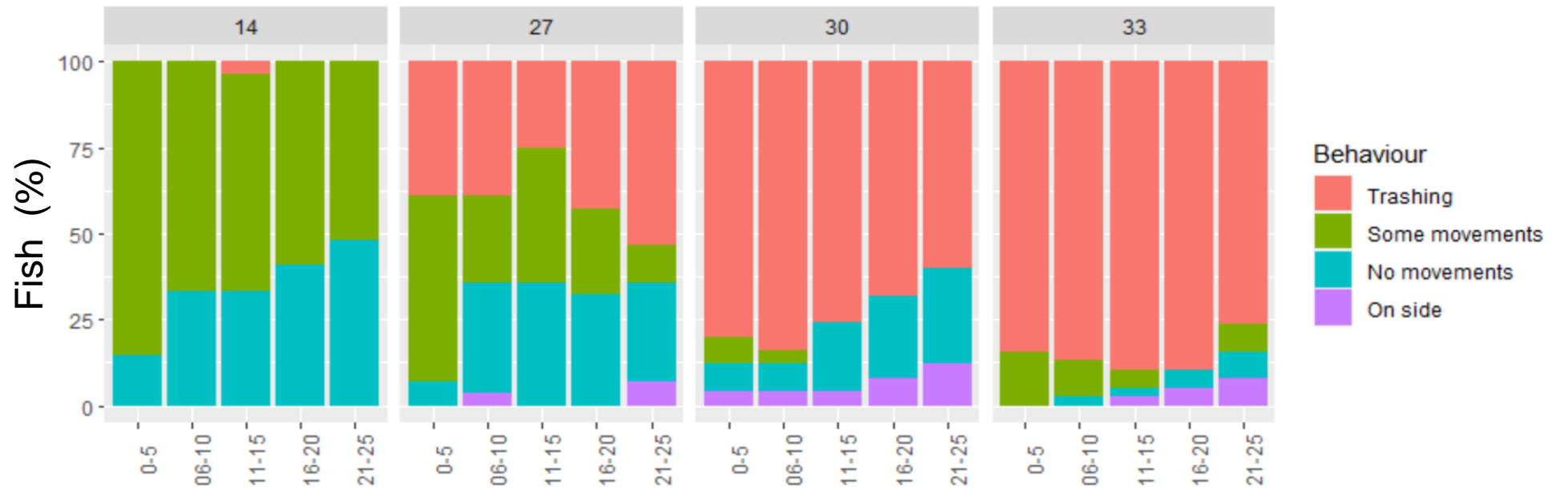
Fordelt i CPX-kar basert på floyd/pit-merke.

Kontinuerlig nytt vann, og sjekk av oksygenforhold.

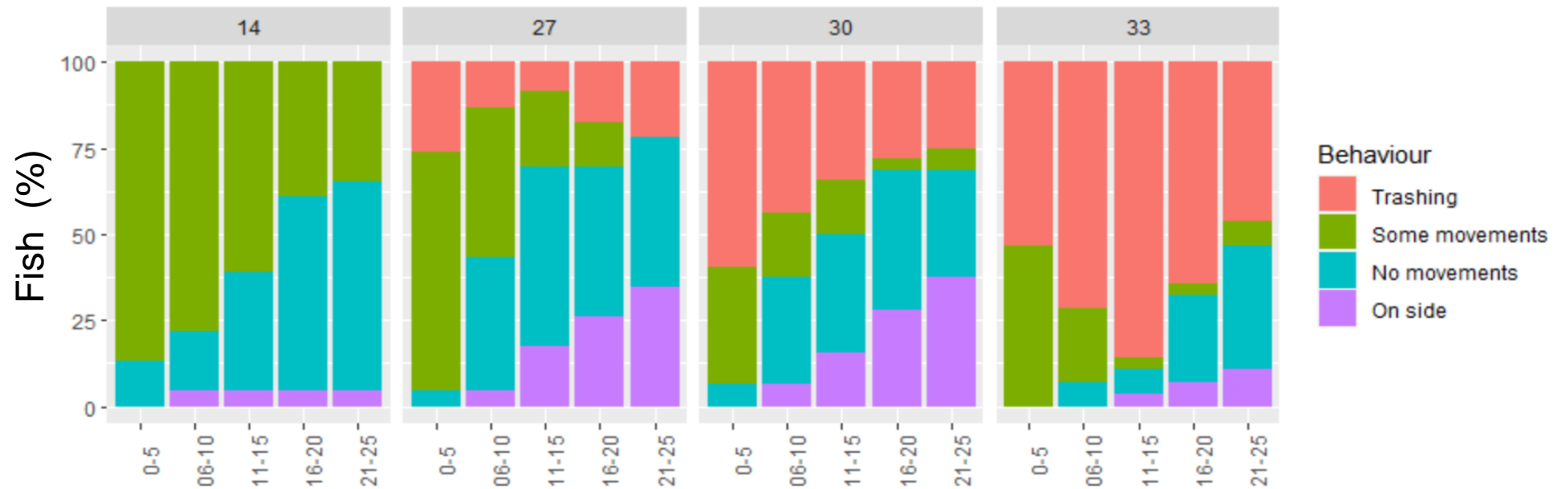
- Behandlingskammer
- 30 sekunder
- Nytt vann for hver fjerde fisk

Atferd

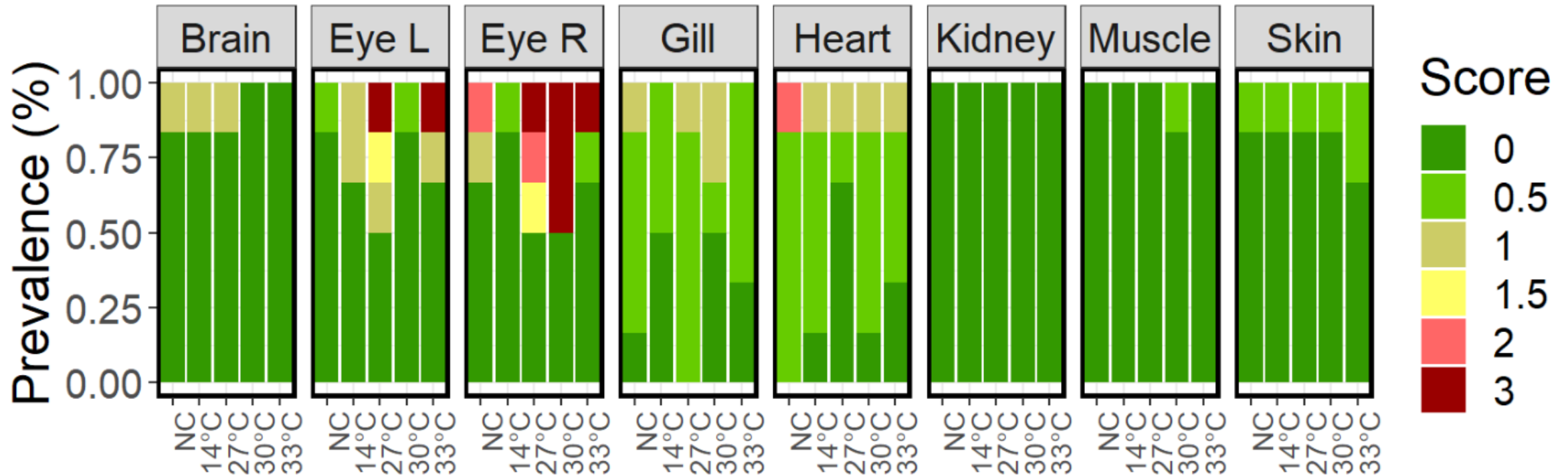
Første behandling



Andre behandling



Histologi – 1 uke etter siste behandling



Signifikant mer øyeskader i histologiprøvene til varmtvannsbehandlet (27-33 °C) i forhold til kontroller (NC og 14 °C).

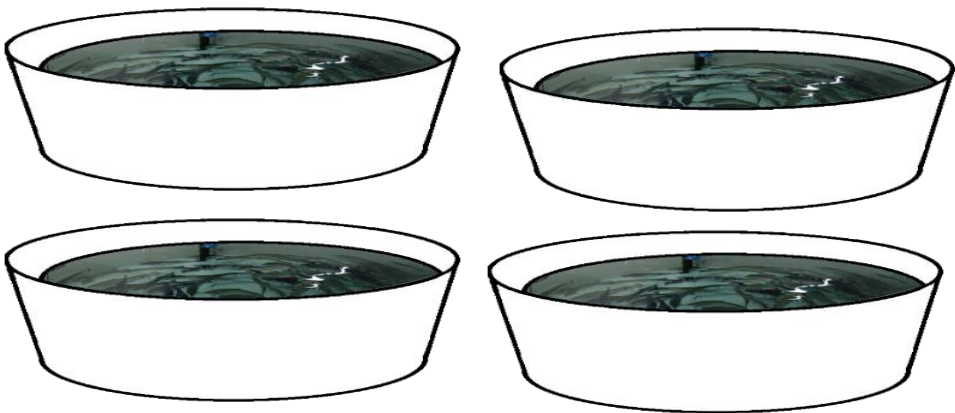
Resultat – Matre – lav Δt

- Tydelig atferdsrespons til ≥ 27 °C også hos laks over 2 kg og med lav Δt (13-19 °C)
- Stigende atferdsrespons med temperatur
- Øynene var mer utsatt for skade ved høy temperatur
- Signifikant økning i dødelighet med økt temperatur etter første behandling
- Ingen dødelighet etter andre behandling

- Klarte ikke å få bekreftet at det var noe klinikk eller spesifikt patogen tilstede, men resultatene tyder på at fisk med redusert helse /stresstilstand tåler varmtvann dårligere enn fisk som har fått tid til å restituere seg.

Forsøksoppsett – Bodø – høy Δt

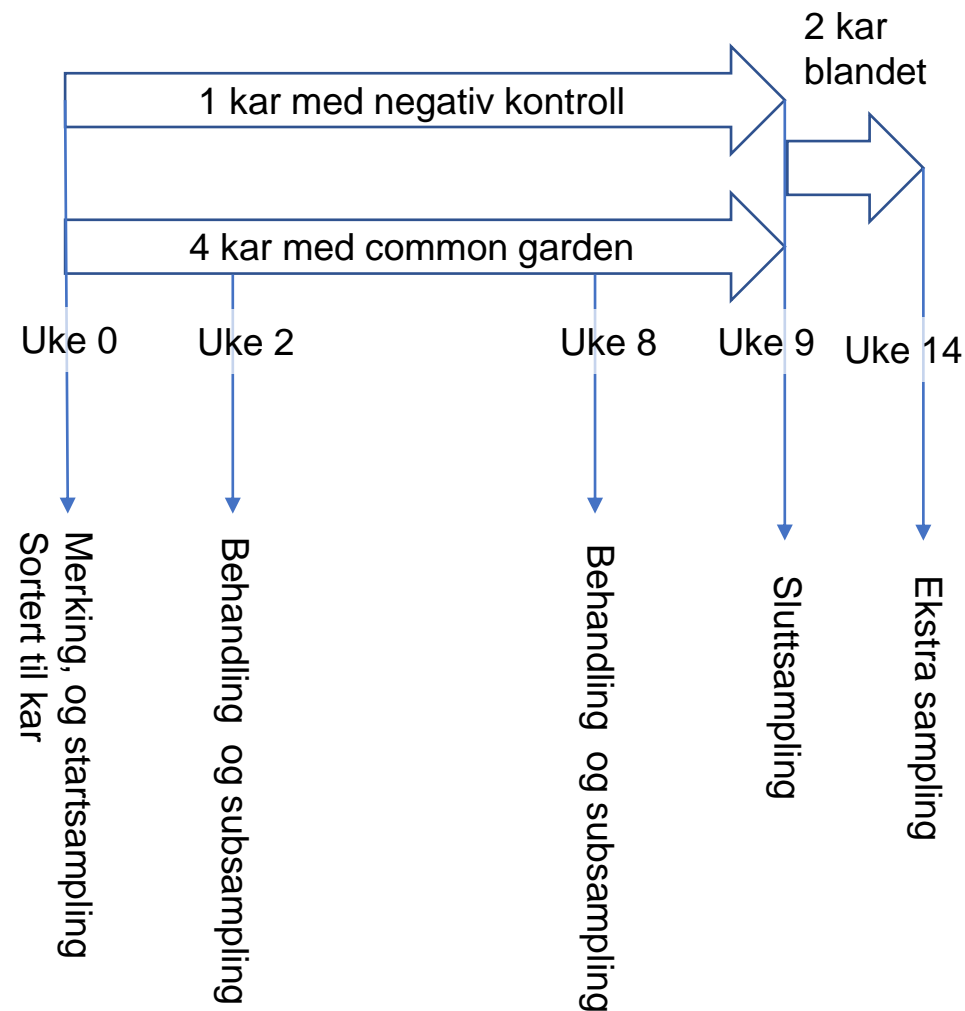
Kar



PIT- og floydmerket



Planlagt tidslinje



Fire kar med **8 °C** vann.

- 100 i fisk i hver, ca. 1.8 kg.
- 1 kar som negativ kontroll (uforstyrret)
- 3 kar med fisk fra de 4 behandlingsgruppene («common garden»)

- 33 °C, $\Delta t = 19$ °C
- 30 °C, $\Delta t = 16$ °C
- 27 °C, $\Delta t = 13$ °C
- 14 °C, $\Delta t = 0$ °C
- Ingen behandling (negative kontroll)

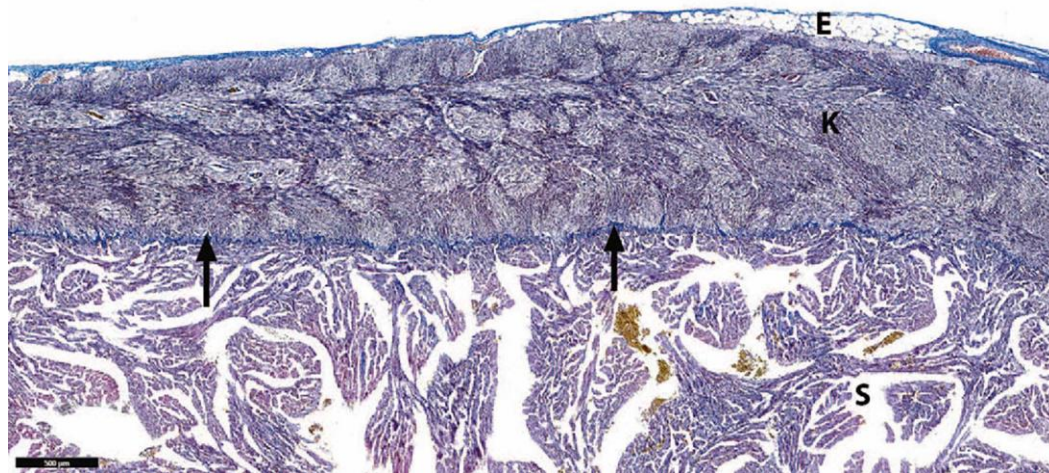
Resultat – Bodø – høy Δt

- Tydelig atferdsrespons til ≥ 27 °C, og økende med temperatur
- Signifikant økning i primære stressresponser (kortisol) i forhold til temperatur
- Ingen effekt av behandlingstemperatur på dødelighet
- Øynene var mer utsatt for skade ved høy temperatur

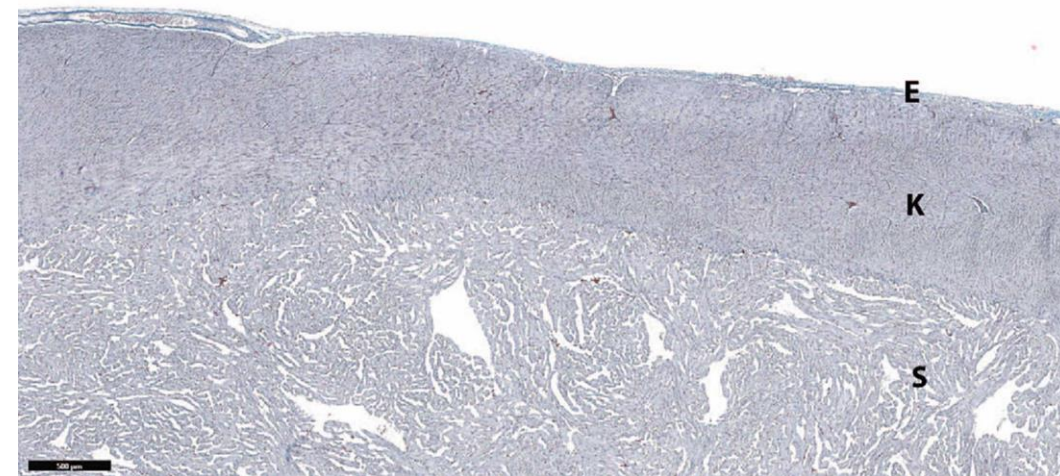
Tilleggsspørsmål

Poppe mfl. 2021. Alvorlige hjertesker på oppdrettslaks etter termisk og mekanisk behandling mot lakselus. Norsk Veterinærtidsskrift 3, 2021.

Poppe et al. 2021. Novel myocardial pathology in farmed salmonids. Journal of Fish Diseases.

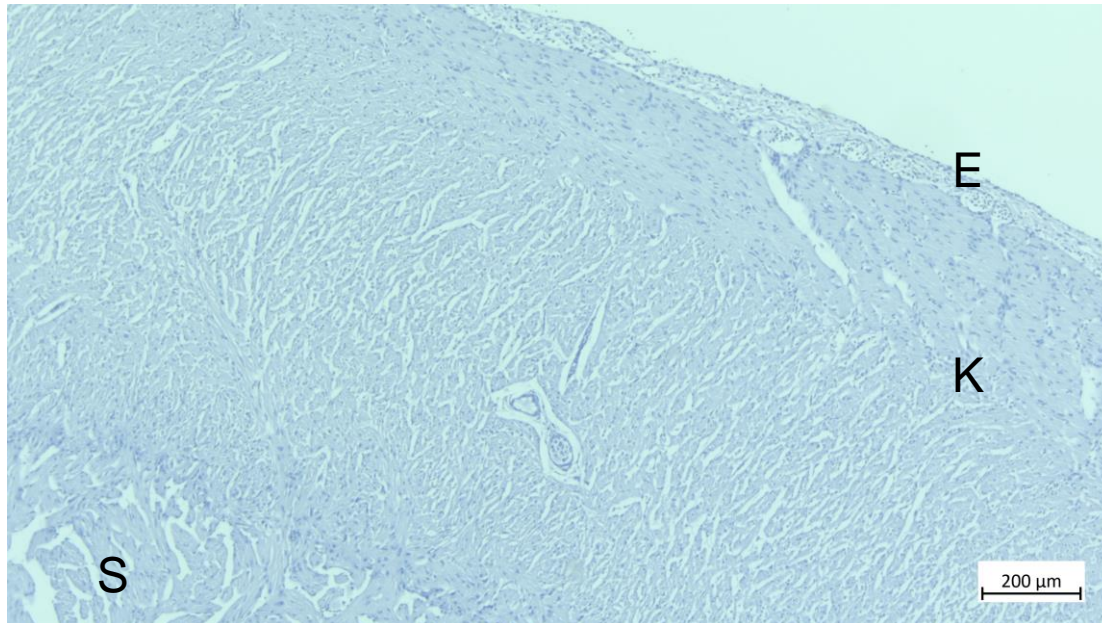


Behandlet oppdrettslaks. Bemerk skjoldet stratum compactum



Stamlaks fra Sandvikselva

Histologi for å se etter skjoldet stratum kompaktum



Histologi av hjerte fra Bodø-forsøk

E = Epikard

K = Stratum kompaktum

S= Stratum spongiosum

Vi har analysert histologi av samtlige grupper (11-12 fra hver gruppe) 5 uker etter siste eksponering

Det var ingen funn av skjoldet stratum kompaktum i noen av snittene.

Heller ikke andre tegn til at behandlingen har hatt noen negative effekt på hjerte for noen av temperaturene.

Konklusjoner – så langt

- Også stor laks reagerer med fluktrespons på varmt vann
- Økt absolutt t gir økt atferd -og stressrespons
- Δt synes mindre viktig
- Varmtvann synes å gjøre øynene mer sårbare for skade
- Ikke bevis for at hjertet eller andre vev blir skadet av varmtvann alene
- Økt temperatur gir økt risiko for dødelighet hos fisk med redusert helse- / stresstilstand

- Men fant ikke noe «smoking gun» for hvorfor noen fisk dør
- Fortsatt en del prøver som er under analyse

Trenger mer kunnskap

- Hva er beste måten å redusere atferdsresponsen
- Er skade av øynene et problem i de kommersielle systemene?
- Finne klare indikatorer for når en fisk er «frisk nok» til å tåle prosessen
 - Nødvendig å få klarhet i hva laksen faktisk dør av
 - Mer kunnskap om fisken fysiologiske respons til varmtvann
- Med mer...

- Vi er ikke i mål – for tidlig å slutte å forske på termisk avlusing

- Takk for meg -