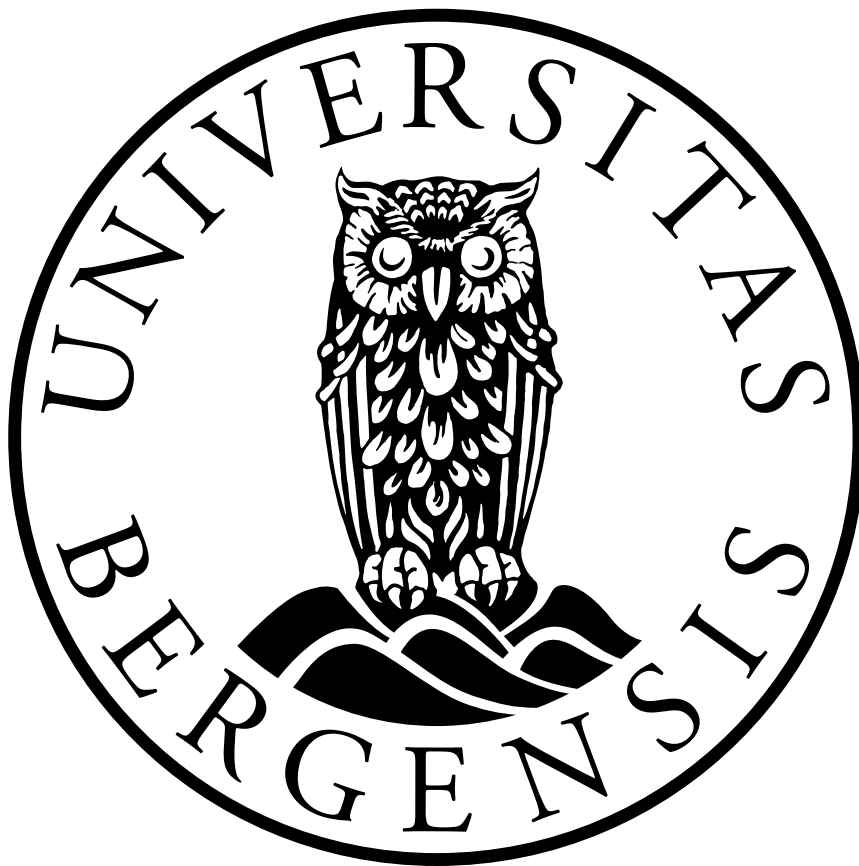


Kunstig intelligens (KI) -
En pilotstudie i overvåkning av velferd, sykdom og dødelighet
hos Atlantisk laks (*Salmo salar* L.)

Master i Fiskehelse
Anna Osland Kjærgård



Institutt for biovitenskap
Universitetet i Bergen, Norge
Juni 2022

© Anna Osland Kjærgård

2022

Kunstig intelligens (KI) - En pilotstudie i overvåkning av velferd, sykdom og dødelighet hos Atlantisk laks (Salmo salar L.)

Universitetet i Bergen, 2022

Forord

Arbeidet med denne masteroppgaven har vært en del av innovasjonsprosjektet GreatView ved Veterinærinstituttet i Bergen.

Jeg ønsker å takke mine veiledere Paul Steinar Valle, Hanne Katrine Nilsen, Anita Rønneseth og Aditya Gupta for å ha veiledet meg gjennom oppgaven. Paul, takk for at du tok meg med i prosjektet, og for alle gode samtaler og innspill om oppgaven. Jeg setter spesielt pris på at du tok meg med på så mange spennende møter. Hanne, takk for hjelp og veiledning i diagnostikken og i skriveprosessen. Jeg setter pris på at døren til kontoret ditt alltid var åpen, og at du har kommet med mange gode råd og innspill. Anita, takk for gode råd og veiledning gjennom masterprosessen. Jeg setter pris på at døren til kontoret ditt alltid var åpen. Aditya, takk for at du veiledet meg gjennom kodingen av maskinlæringsalgoritmen.

Jeg ønsker også å takke alle ingeniører som har hjulpet meg på laboratoriet på Veterinærinstituttet i Bergen. Takk for at dere veiledet meg gjennom metodene, og at dere alltid tok dere tid til å svare på spørsmål. Jeg ønsker å takke alle ansatte på Veterinærinstituttet som jeg har fått muligheten til å diskutere oppgaven med. En spesiell takk til Anne Berit Olsen for at du var med og se på vevssnittene mine i mikroskop og for at du tok deg tid til å svare på spørsmål.

Jeg ønsker å takke alle ansatte på oppdrettsanlegg, og alle andre jeg har møtt i forbindelse med masteroppgaven. Tusen takk for at jeg fikk lov til å komme og ta prøver på anleggene. Tusen takk for alle innspill og hjelp i forbindelse med oppgaven.

Til slutt ønsker jeg å takke mine medstudenter på fiskehelsestudiet. Studenttilværelsen hadde ikke vært den samme uten dere. Jeg ønsker å takke familie, venner og kjæreste for støtte og hyggelige stunder gjennom studenttilværelsen.

Bergen, mai 2022

Anna Osland Kjærgård

Sammendrag

Dødeligheten i norsk akvakultur er stabilt høy, og i 2021 døde 15,5 % av sjøsatt Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) i norske merder. Høy dødelighet utfordrer akvakulturnæringas evne til bærekraftig vekst, da det kan gi redusert fiskevelferd, svekket ressursutnyttelse og økte produksjonskostnader. Fiskedødelighet er et velferdsproblem som indikerer at produksjonen av Atlantisk laks ikke er optimal. For å kunne sette inn målrettede tiltak for å forhindre dødelighet er det nødvendig å vite årsaken til at fisken dør. I dag finnes det ingen offentlig statistikk på de vanligste årsakene til at oppdrettslaks dør, men mange oppdrettere gjennomfører daglig dødfiskkategorisering i forbindelse med lovpålagt telling av dødfisk. Gjennom innovasjonsprosjektet GreatView ønsker bedriften CreateView å utvikle en bildeskanner som kan effektivisere telle- og karakteriseringsprosessen av dødfisk ved bruk av maskinlæring (ML) og kunstig intelligens (KI).

Formålet med denne pilotstudien var å undersøke potensialet til å benytte KI til å overvåke velferd, sykdom og dødelighet hos Atlantisk laks. I feltstudien ble individbaserte velferdsindikatorer skåret på dødfisk. Det ble samlet inn historikk fra felt og prøvemateriale fra tilfeldig utvalgte dødfisk til sykdomsdiagnostikk. Diagnostikken inkluderte histopatologiske undersøkelser av vev fra hjerte, muskel og pankreas, undersøkelse av bakterieutstryk fra nyre, pseudobrank og sår i MALDI-TOF og qPCR undersøkelser av nyrevev for *Pasteurella* sp. Historikk fra felt og diagnostikk ble benyttet til å kategorisere årsaker til dødelighet. I felt ble det tatt utvendige bilder av dødfisk. Velferdsindikatoren «Skjelltap» og diagnosen «Pasteurellose» ble markert på bildene, og de markerte bildene ble benyttet til å trene opp, og teste en objektgjenkjenningss algoritme ved bruk av ML og KI.

I oppgaven ble det erfart at det er utfordrende å kategorisere dødfisk i årsaker til dødelighet, og at ML og KI har større potensiale til å gjenkjenne velferdsindikatorer enn dødsårsaker. Velferdsindikatorerne som gjenkjennes av bildeskanneren kan kobles sammen med annen informasjon om fisken for å kategorisere den i dødsårsaker. En bildeskanner som gjenkjenner velferdsindikatorer på dødfisk og kobler dem sammen med andre funn fra felt har potensiale til å bidra til å redusere dødeligheten gjennom tidlig varsling om velferdsutfordringer.

Abstract

The mortality in Norwegian aquaculture is stably high, in 2021 15,5 % of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norwegian sea cages died. High mortality challenges the ability for sustainable growth in the aquaculture industry, as it can lead to reduced fish welfare and resource utilisation and increased production costs. Fish mortality is a welfare problem which indicates that the production of Atlantic salmon is not optimal. To be able to implement targeted measurements to prevent mortality, it is necessary to know the cause of death. There are no official statistics on what the most common causes of death for Atlantic salmon in Norway are, but many fish farmers carry out daily categorization of dead fish in connection to the mandatory count of dead fish. Through the innovation project GreatView, the company CreateView wants to develop an image scanner that can make the counting and characterization process of dead fish more effective with the utilisation of machine learning (ML) and artificial intelligence (AI).

The purpose of this pilot study was to investigate the potential to utilise AI to monitor welfare, disease, and mortality in Atlantic salmon. In this field study individual welfare indicators were scored on dead fish. Field history and sample material from random selected dead fish was collected for disease diagnostics. The diagnostics included histopathology with tissue from heart, muscle and pancreas, bacterial smears from kidney, pseudobranch and wounds in MALDI-TOF, and qPCR investigations on tissue from kidney for *Pasteurella* sp. The history from field and the diagnostics was used to categorize causes of death for the fish. There were taken pictures of the outside of the fish. The welfare indicator “Shale loss” and the diagnose “Pasteurellosis” was marked on the pictures. The marked pictures were utilized to train and test an object detection algorithm with the use of ML and AI.

In this study it was experienced that it is challenging to categorize dead fish in causes of death, and that ML and AI has greater potential to recognize welfare indicators than causes of death. The welfare indicators recognized in the image scanner can be connected to other information from the fish to categorize the fish in causes of death. An image scanner which recognizes welfare indicators on dead fish and connect them with other findings from field has the potential to contribute to reduce mortality though early warning.

Innholdsfortegnelse

1. Innledning.....	9
1. 1. «GreatView! – Utsikt til mer enn du ser»	9
1. 2. Maskinlæring (ML) og Kunstig intelligens (KI).....	10
1. 3. Dødelighet hos Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i> L.) i norsk akvakultur	10
1. 4. Dødelighet og bærekraftig vekst	11
1. 5. Dødelighet som velferdsindikator	12
1. 6. Kategorisering av årsak til dødelighet.....	14
1. 7. Årsaker til dødelighet i norsk akvakultur.....	16
A - Infeksjonssykdommer	17
A 01 Virusindusert sykdom.....	17
A 01.140 - Pankreassykdom (uspesifisert).....	17
A 01.160 - Hjerte og skjelettmuskelbetennelse (HSMB)	18
A 01.170 - Hjertesprekk (CMS)	18
A 02 Bakterieindusert sykdom	19
A 02.150 - Snute og hodesår (<i>Tenacibaculum</i>).....	19
A 02.160 – Vintersår grunnet <i>Moritella viscosa</i>	19
A 02.260 – <i>Pasteurellose</i>	20
A 03 Parasittindusert sykdom.....	20
A 03.180 – <i>Lakselus</i> (<i>L. Salmonis</i>)	20
A 05 Amøbeindusert sykdom.....	21
A 05.110 – <i>Amøbegjellesykdom</i>	21
C- Skader (traume).....	21
C 00 Skade uspesifisert/ ukjent årsak	21
F - Ukjent årsak.....	22
F 00.100 – Ukjent dødsårsak.....	22
1. 8. Hva skal man gjøre med dødfisk?	22
1. 9. Formål med oppgaven	22
2. Material og metode.....	24
2. 1. Prøveuttak.....	24
2. 1. 1. Utvendig karakterisering av velferdsindikatorer	25
2. 1. 2. Obduksjon av fisk	26
2. 2. Blod.....	27
2. 2. 1. Blodprøver	27
2. 2. 2. Blodutstryk.....	27
2. 2. 3. May-Grünwald Giemsa-farging	27
2. 2. 4. Leishman-Giemsa farging.....	28
2. 2. 5. Differensialtelling av erytrocytter og leukocyter	28
2. 2. 6. Hematokrit-test.....	28
2. 3. Histopatologi	29
2. 3. 1. Prøveuttak til histopatologiske analyser.....	29
2. 3. 2. Tilpassing av vevsprøver i kassetter.....	29
2. 3. 3. Fremføring	30
2. 3. 4. Innstøping	30
2. 3. 5. Snitting.....	31
2. 3. 6. Hematoksylin-eosin (HE)-farging.....	31
2. 3. 7. Mikroskopi.....	31
2. 3. 8. Gradering av histopatologiske funn i hjertet	32

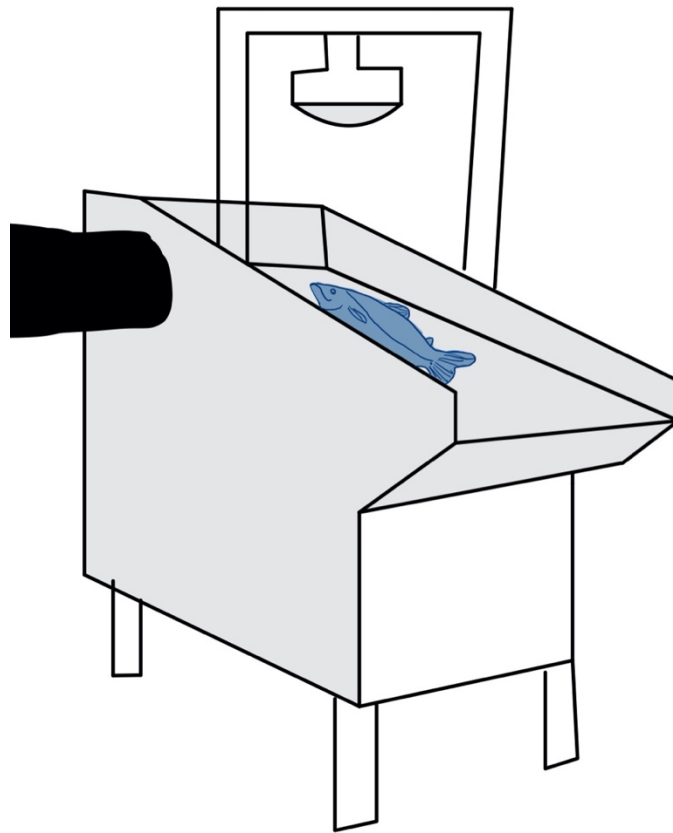
2. 4. Bakterier	32
2. 4. 1. Bakteriestryk	32
2. 4. 2. Dyrking og vurdering av bakterievekst	33
2. 4. 3. Identifikasjon av bakterier med MALDI biotyper (MALDI-TOF)	34
2. 4. 4. Fasekontrast av <i>Aeromonas</i> sp. i mikroskop	35
2. 4. 5. Bakteriefrysing.....	35
2. 4. 6. Dyrking av fryste bakterieisolater	35
2. 4. 7. O129 Diskfølsomhetstest	36
2. 4. 8. Oksidasetest	36
2. 4. 9. Katalasetest	36
2. 4. 10. Gram-Farging av bakteriestryk	37
2. 5. Polymerase chain reaction (PCR)	37
2. 5. 1. Prøveuttak til PCR-undersøkelser fra nyre.....	37
2. 5. 2. Isolering av nukleinsyrer fra vev.....	38
2. 5. 3. Prøveuttak og filtrering av vann til PCR-undersøkelser.....	38
2. 5. 4. DNA ekstraksjon fra Nitrocellulosefilter	39
2. 5. 5. Nano-drop måling av DNA	39
2. 5. 6. Kvantitativ polymerase chain reaction (qPCR) påvisning av <i>Pasteurella</i> sp.	40
2. 6. Kategorisering av årsak til dødelighet.....	41
2. 7. Bildeanalyser ved hjelp av ML og KI.....	41
2. 7. 1. Utvendig og innvendig fotografering av dødfisk	41
2. 7. 2. Organisering av bilder tatt i felt	42
2. 7. 3. Markering på bilder i LableMe	42
2. 7. 4. Trening og testing av algoritme i Detectron2.....	43
3. Resultater.....	44
3.1. Årsak til dødelighet.....	44
3. 1. 1. Funn og innsamling av historikk fra felt	44
Anlegg A, merd 2 og 3	44
Merd 2	44
Merd 3	46
Anlegg B, merd 4	47
Anlegg C, merd 1	49
3. 1. 2. Sykdomsdiagnostikk og skåring av individbaserte velferdsindikatorer	49
Oppsummering av bakteriefunn	49
Anlegg A	50
Merd 2	50
Merd 3	57
Anlegg B, merd 4	61
Anlegg C, merd 1	64
3. 1. 3. Kategorisering av dødsårsaker	66
3.2. Potensialet til å bruke ML og KI til å kategorisere dødfisk.....	67
4. Diskusjon.....	70
4. 1. Bruk av velferdsindikatorer på dødfisk.....	70
4. 2. Diagnostikk av dødfisk.....	72
4. 3. Årsak til dødelighet hos de prøvetatte fiskene.....	73
4. 4. Potensialet til dødfiskkategorisering	75
4. 5. Gjenkjenning av velferdsindikatoren «Skjelltap» og dødfiskkategorien «Pasteurellose» ved hjelp av ML og KI.....	76
4. 6. Bruk av dødfiskkamera til å kategorisere dødfisk.....	77

4. 7. <i>Fremtidens havbruk</i>	79
5. Referanser.....	81

1. Innledning

1.1. «GreatView! – Utsikt til mer enn du ser»

GreatView er et innovasjonsprosjekt eid av bedriften CreateView, som er finansiert av Norges forskningsråd. Målet med prosjektet er å utvikle en bildeskanner som kan effektivisere telle- og kategoriseringsprosessen av dødfisk (CreateView AS, 2019). Gjennom prosjektet har det blitt utviklet en bildeskanner, «CView LiftUp», som tar bilder av dødfisk. Bildeskanneren fungerer slik at dødfisken renner over en silekasse hvor det er montert et kamera som automatisk tar bilde av all fisken som renner forbi (Figur 1) (Createview AS, u. å.-b; LiftUP, u. å.).



Figur 1: Fisk i silekasse med dødfiskanner: Kameraet henger over silekassen og tar bilde av fisken som renner forbi (Tegning Anna Osland Kjærgård)

Bildene fra CView LiftUp samles i en database og analyseres ved hjelp av kunstig intelligens (KI) og maskinlæring (ML). Createview ønsker at bildeanalysene skal knyttes til data fra tidligere diagnostikk, produksjonsparametere, miljøregistreringer og bilder fra merd, og at alle dataene skal samles i en større database som kan benyttes til å overvåke og analysere fiskevelferds- og sykdomssituasjonen. CreateView ønsker også at dataene skal være tilgjengelige i en online overvåkningsplattform som oppdretter har tilgang til (LiftUP, u. å.-a). Den overordnede ideen med prosjektet er å utvikle et dataassistert system, basert på analyser

av dødfisk, som kan forutse uheldig sykdomsutvikling og velferdsutvikling før situasjonen er kommet for langt. Et slikt system kan potensielt automatisere kravet om telling av dødfisk og fungere som beslutningsstøtte til å sette inn tidlige tiltak mot problemer.

1. 2. Maskinlæring (ML) og Kunstig intelligens (KI)

Kunstig intelligens bruker algoritmer til å løse kompliserte oppgaver. Algoritmer er oppskrifter som gir instruksjoner for hvordan en datamaskin skal løse oppgavene (Teknologirådet, 2018). Instruksjonene kan være fullstendig menneskeskapt, eller de kan være en blanding av menneskeskapt og maskinskapt. Når en datamaskin lager noen av instruksjonene selv kalles det maskinlæring. Maskiner kan lære på flere ulike måter, en måte er gjennom veiledet læring. Da lærer algoritmen instruksjonene ved å bli trent opp av et datasett med tidligere erfaringer. Maskinlæring kan brukes til å predikere informasjon, den mest benyttede teknikken er gjennom klassifisering. Klassifisering brukes til å kategorisere observasjoner. En annen teknikk er forutseende analyser. Teknikken bruker historiske data til å si noe om risikoen for at noe kan skje i fremtiden.

1. 3. Dødelighet hos Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) i norsk akvakultur

Den prosentvise årlige dødeligheten i norsk akvakultur er stabilt høy, og de siste fem årene har mellom 16,1 % og 14,7 % av sjøsatt Atlantisk laks dødd i merdene (Sommerset *et al.*, 2022). I produksjonsåret 2021 ble 54,0 millioner Atlantisk laks rapportert som dødfisk (Fiskeridirektoratet, 2022b). Dette tilsvarer 15,5 % av laksen, og er høyere enn i 2020 da 14,8 % av laksen i merdene døde. Den prosentvise dødeligheten fra 2021 er noe lavere enn rekordåret 2019 da 16,1 % av den sjøsatte laksen ble rapportert som dødfisk (Sommerset *et al.*, 2022). Tallene fra 2021 og 2019 er ikke direkte sammenlignbare, i 2019 kunne noe av den høye dødeligheten forklares med en algeoppblomstring i Nordland og Troms som tok livet av 8 millioner laks (Fiskeridirektoratet, 2020a), det finnes ingen lignende enkelthendelse i 2021 som kan forklare noe av den høye dødeligheten. Den gjennomsnittlige månedlige dødeligheten har ligget stabilt rundt 1 % siden 2005 (Grefsrud *et al.*, 2021). Frem til 2012 var det store variasjoner mellom månedene, og dødeligheten kunne svinge mellom 0,5-2 %. Etter 2012 har de månedlige variasjonene blitt mindre, og dødeligheten har ligget jevnt i overkant av 1 %. Dette viser at det er store problemer med dødelighet gjennom hele produksjonsåret. Det er store geografiske forskjeller i dødeligheten mellom de ulike produksjonsområdene (PO) (Sommerset *et al.*, 2022). Tradisjonelt finnes den høyeste dødeligheten på Vestlandet (Grefsrud *et al.*, 2021), noe

som gjenspeiles de siste fem årene (Veterinærinstituttet, 2022), utenom året 2019, da PO9 (Vestfjorden + Vesterålen) og PO10 (Andfjorden til Senja) ble utsatt for den dødelige algeoppblomstringen. I 2021 var det PO4 (Fra Sotra til Stadt) som hadde den høyeste dødeligheten. I dette området var dødeligheten 22,5 %, noe som er en nedgang i dødelighet fra foregående år da 27,2 % av laksen i merdene døde. Selv om det er stabilt høy dødelighet i norsk akvakultur, er det store variasjoner i dødeligheten på ulike lokaliteter, og noen produsenter klarer å gjennomføre produksjonssykluser med betraktelig lavere dødelighet enn gjennomsnittet (Veterinærinstituttet, 2022).

1. 4. Dødelighet og bærekraftig vekst

Havbruk er viktig for å sikre et bærekraftig globalt matsystem (Nærings- og fiskeridepartementet, 2021). Bærekraftig utvikling handler om å imøtekomme dagens behov uten å ødelegge mulighetene for kommende generasjoner, og det er samspillet mellom tre dimensjoner som må tas hensyn til i vurderingen om noe er bærekraftig: «*Økonomi, sosiale forhold og miljø og klima*» (Brundtland, 1987). I mars 2015 kom Nærings- og fiskeridepartementet ut med en stortingsmelding som omhandlet «*Forutsigbar og miljømessig bærekraftig vekst i lakse- og ørrettoppdrett*» (Meld. St. 16 (2014-2015), 2015). Målet med meldingen var å drøfte hvordan Norge kan øke verdiskapningen i oppdrettsnæringen på en forutsigbar og bærekraftig måte. I stortingsmeldingen blir det konkludert med at vekst i akvakulturnæringen vil være økonomisk og sosialt bærekraftig fordi det vil bidra til økt verdiskapning, økt sysselsetting og økt velferd for samfunnet. Departementet la til grunn at kun miljømessig bærekraft skal vektlegges når videre vekst i næringen skal vurderes. Stortingsmeldingen er en del av forarbeidene til Trafikklyssystemet som i dag er førende for kapasitetsjustering i oppdrettsnæringen. Trafikklyssystemet er regulert i Produksjonsområdeforskriften (Produksjonsområdeforskriften, 2017), hvor forskriftens § 3 definerer 13 geografisk avgrensede områder som produksjonsområder. Hovedregelen for fastsettelse av produksjonskapasitet i produksjonsområdene følger av forskriftens § 8 første ledd «*Produksjonsområder for akvakultur reguleres i samsvar med områdets miljømessige bærekraft*». Av andre ledd følger det at «*Påvirkningen av lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) på vill laksefisk er miljøindikator. Departementet vurderer om miljøpåvirkningen i et produksjonsområde er akseptabel, moderat eller uakseptabel*». Fra forskriften kommer det frem at Lakselus er den eneste miljøindikatoren som skal tas hensyn til i bestemmelser om bærekraftig kapasitetsjustering.

I stortingsmeldingen «*Forutsigbar og miljømessig bærekraftig vekst i lakse- og ørretoppdrett*» påpeker departementet at det ikke er mulig med bærekraftig vekst uten tilstrekkelig kontroll over fiskehelsesituasjonen, og at god fiskevelferd er et mål for etisk forsvarlig produksjon (Meld. St. 16 (2014-2015), 2015). Tillatelsessystemet for produksjon av fisk har få krav til helse og velferd (Nærings- og fiskeridepartementet, 2021), det kan tillates vekst selv om den fiskevelferdsmessige situasjonen ikke er etisk forsvarlig. Sykdommer i akvakultur er et fiskevelferdsproblem som fører til økt fôrforbruk gjennom redusert vekst og økt dødelighet (Ziegler *et al.*, 2021). Høy dødelighet fører til dårlig fôrutnyttelse da man har produsert fôr til, og fôret opp flere fisk enn det som når frem til slakt (Winter *et al.*, 2020). Fôr står for 85 % av drivhusgassutslippene under produksjon av laks før slakting (Ziegler *et al.*, 2021), og fôrkostnader er den største utgiftsposten for oppdrettere (Iversen *et al.*, 2019). Dødelighet i akvakulturnæringa utfordrer derfor næringas evne til bærekraftig vekst da den påvirker alle de tre dimensjonene. Høy dødelighet betyr redusert fiskehelse, svekket ressursutnyttelse og økte produksjonskostnader.

1. 5. Dødelighet som velferdsindikator

Ifølge verdensorganisasjonen for dyrehelse (OIE) er dyrevelferd definert som «Den fysiske og mentale tilstanden til et dyr i forhold til de forholdene det lever og dør i» (OIE, 2021b). Dette gjelder også når man snakker om fiskevelferd. Fiskevelferd er sammensatt og komplekst, og det er mange forhold som påvirker den fysiske og mentale tilstanden til fisk (St.meld. nr. 12 (2002-2003), 2003). I 1965 ble begrepet «*Dyrevelferd*» utredet av den engelske Brambellkommisjonen (Mattilsynet, 2016). Kommisjonen kom frem til at den ideelle dyrevelferd besto av fem friheter:

1. Frihet fra sult, tørste og feilernæring
2. Frihet fra fysisk ubehag
3. Frihet fra smerte, sykdom og skade
4. Frihet til å utøve normal atferd
5. Frihet fra frykt og stress

De fem frihetene er internasjonalt anerkjent, og fungerer som retningslinjer innen dyrevelferdsarbeid (OIE, 2021b). Frihetene har blant annet vært sentrale i utviklingen av norsk

lovverk på dyrevelferd (Ot.prp. nr. 15 (2008-2009), 2009). I Norge er regelverket rundt fiskevelferd i hovedsak underlagt to lover og en forskrift (Salmon Group AS, 2020; Akvakulturdriftforskriften, 2008; Dyrevelferdsloven, 2009; Matloven-matl, 2003). Dyrevelferdsloven har som formål «å fremme god dyrevelferd og respekt for dyr» (Dyrevelferdsloven, 2009). Lovens § 3 siter at «Dyr har egenverdi uavhengig av den nytteverdien de måtte ha for mennesker», og «Dyr skal behandles godt og beskyttes mot fare og unødige påkjenninger og belastninger». Akvakulturdriftforskriften har som formål «å fremme god helse hos akvakulturdyr og ivareta god velferd hos fisk» (Akvakulturdriftforskriften, 2008). Forskriftens § 5 siter at «Driften skal være helsemessig og fiskevelferdsmessig forsvarlig». Matloven har som formål «å fremme god plante- og dyrehelse» (Matloven-matl, 2003). Lovens § 19 siter at «Enhver skal utvise nødvendig aktsomhet, slik at det ikke oppstår fare for utvikling eller spredning av smittsom dyresykdom». Lovverket er utviklet for å sikre god fiskevelferd og for å beskytte fiskens biologiske funksjon, helse, normale utvikling og fiskens egenopplevelse av livssituasjonen. Oppdrettere og andre som arbeider med fisk er underlagt lovverket og har ansvar for at regelverket blir fulgt opp. En fisk er ikke i stand til å uttale seg om sin egen velferd, det er derfor oppdrettere sitt ansvar å sikre fiskens livskvalitet.

Mange oppdrettere av laksefisk bruker ulike velferdsindikatorer for å dokumentere velferdssituasjonen. Indikatorene kan være miljøbaserte eller dyrebaserte (Sommerset *et al.*, 2021). De miljøbaserte indikatorene baserer seg på målinger av miljøet rundt fisken. Dette kan være faktorer som påvirker vannkvalitet, oppdrettssystem eller oppdrettspraksis (Noble *et al.*, 2018). De dyrebaserte indikatorene baserer seg på målinger av selve fisken. Målingene kan være på gruppenivå eller på individnivå. Kunnskap om hvilke indikatorer som er hensiktsmessig å bruke har ikke alltid vært lett tilgjengelig. I 2018 ble håndboken «Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd» utgitt (Noble *et al.*, 2018). Håndboka fungerer som en verktøykasse for oppdrettere med oppdatert kunnskap om hvilke indikatorer som gir et best grunnlag for å vurdere fiskevelferdssituasjonen. Håndboka foreslår bruk av et skåringssystem fra 0-3 for dyrebaserte velferdsindikatorer på individnivå. Dette arbeidet har blitt videreutviklet i prosjektet Laksvel (Nilsson *et al.*, 2022) De individbaserte velferdsindikatorene er synlige ytre tegn som skåres fra 0-3. Der 0 er en avviksfri fisk og 3 er en fisk med alvorlig skade eller avvik.

Den mest brukte velferdsindikatoren i oppdrett er dødfiskrater. Høy dødelighet indikerer at det er dårlig fiskevelferd i merden og at produksjonen ikke er optimal (Sommerset *et al.*, 2021). I Laksvel prosjektet er det også utarbeidet et skåringssystem for månedlig, ukentlig og daglig dødelighet (Tabell 1) (Nilsson *et al.*, 2022).

Tabell 1: Laksvels skåring av dødelighet (0-3): Månedlige, ukentlige og døgn skårer for dødelighet (Nilsson *et al.*, 2022).

Skår	Måned	Uke	Døgn
0	0,0 - 0,3 %	0,0 – 0,7 ‰	0,0 – 0,1 ‰
1	0,3 – 0,7 %	0,7 – 1,7 ‰	0,1 – 0,25 ‰
2	0,7 – 2,0 %	1,7 – 4,9 ‰	0,25 – 0,7 ‰
3	> 2 %	> 4,9 ‰	> 0,07 ‰

Å benytte dødfisk som velferdsindikator har flere fordeler for oppdrettere. Blant annet er registrering av dødfisk del av den daglige driften til oppdrettere, fordi de er pålagt å registrere dødelighet (Akvakulturdriftforskriften, 2008). Dødelighet er en enkel indikator på populasjonsnivå, fordi oppdretterne får et bilde på hvordan populasjonen i merden forandrer seg. Har man økt dødelighet over lengre perioder kan det indikere et vedvarende problem i merden, og har man plutselig økt dødelighet kan det indikere et plutselig problem i merden (Noble *et al.*, 2018). Dødelighet som velferdsindikator har også svakheter. Det er for sent å bedre velferden til de individene som bidrar til dødelighetsstatistikken. Lav dødelighet er ikke ensbetydende med god fiskevelferd, da det kan være faktorer som reduserer fiskevelferden uten å øke dødeligheten (Noble *et al.*, 2018). Hvor stor dødeligheten er, sier ingenting om hva som er det underliggende velferdsproblemet. Uten opplysninger om hva som har forårsaket dødelighet, vet man ikke årsaken til den nedsatte fiskevelferden eller hvordan man kan unngå gjentakelse. Det er derfor viktig å fastslå, og å kategorisere dødsårsaker, slik at man kan sette inn målrettede tiltak for å redusere dødeligheten.

1. 6. Kategorisering av årsak til dødelighet

Akvakulturdriftforskriften pålegger oppdrettere å registrere tap av laksefisk under produksjonsperioden i sjø til Fiskeridirektoratet (Akvakulturdriftforskriften, 2008). Tapskategoriene er grovt delt inn i dødfisk, utkast, rømming og «annet» (Fiskeridirektoratet, 2021). Dødfisk inkluderer død fisk som er tatt opp av merdene, utkast inkluderer fisk som blir kastet bort på slakteriet, rømming inkluderer fisk som har rømt fra merdene, mens «annet» inkluderer fisk som blir tatt av predatorer, stjålet eller som har forsvunnet av andre årsaker (Fiskeridirektoratet, 2020b). Når fisken har dødd av «annet» skal oppdretter oppgi årsak til

tapet, men det er ingen krav til å oppgi årsaken til at fisken dør. Det finnes derfor ingen nasjonal oversikt over dødfiskårsaker.

For å få oversikt over sannsynlige dødsårsaker på anleggene sine, gjennomfører mange oppdrettere daglig dødfiskkategorisering (Sommerset *et al.*, 2021). Dette er en metode hvor oppdrettere registrerer ulike dødsårsaker, og tallfester hvor mange fisk som har dødd i de ulike kategoriene (Aunsmo *et al.*, 2021). Det er stor variasjon mellom hvordan ulike selskaper registrerer dødfisk, noen selskap har opptil 50 ulike kategorier, mens andre kun har 20 (Aunsmo *et al.*, 2020). Kategoriene er ofte ikke hierarkisk organisert, men har en flat struktur som mangler en logisk oppbygging. Eksempelvis kan kategoriene være en blanding av diagnoser som HSMB (Hjerte- skjelettmuskel betennelse), risikofaktorer som lusebehandling og kliniske tegn som avmagring.

Fiskehelsepersonell som arbeider for fiskevelferd i oppdrettsnæringen, mener det er viktig for ansatte i næringen å bruke tid på dødfiskkategorisering (Sommerset *et al.*, 2021). De mener at det trengs bedre kursing av ansatte, og at det burde vært tettere oppfølging på dødfisken av fiskehelsepersonell. Mange mener også at det burde komme en nasjonal standard for dødfiskkategorisering. Dette er noe «The Seafood Innovation Cluster AS» allerede arbeider med å utarbeide innenfor prosjektet «AquaCloud 2.0» (Aunsmo *et al.*, 2021). Ved hjelp fra NMBU (Norges miljø- og biovitenskapelige universitet) har de utarbeidet et forslag til et registreringssystem for klassifisering av taps – og dødsårsaker. Det har blitt laget en kodeliste og en veileder for systemet. Tanken bak et felles system er at alle oppdrettsanlegg skal registrere dødfisk likt etter standardiserte koder, slik kan dataene brukes til å optimalisere produksjonen. Kodelisten som er foreslått av NMBU er hierarkisk organisert på tre nivåer (NMBU Veterinærhøgskolen Ås, u. å.). I nivå 1 organiseres dødsårsaker i seks store hovedgrupper.

- A – Infeksjonssykdommer
- B – Miljøforhold
- C – Skader (Traume)
- D – Fysiologiske årsaker
- E – Andre årsaker
- F – Ukjent årsak.

I hver av hovedgruppene er det undergrupper på nivå 2 og 3. Dette er undergrupper som sier mer om hva som faktisk har forårsaket fiskens død. For hvert nivå blir dødsårsaken mer spesifisert. I nivå 2 spesifiseres det for eksempel om det er en bakterieinfeksjon, og i nivå 3 hvilken bakterieinfeksjon som har forårsaket døden.

Systemet NMBU har foreslått har potensial til å gi oppdrettere bedre grunnlag for å ta ut hensiktsmessige statistikker om velferden til fisken, noe som kan brukes til å ta kunnskapsbaserte produksjonsvalg. Et slik system vil kunne gagne oppdrettere, forskere og forvaltningsmyndigheter (Sommerset *et al.*, 2020). Samles alle data fra oppdrettere i Norge, vil det være mulig å benytte dataene til å systematisk arbeide for en bedre fiskevelferd.

1. 7. Årsaker til dødelighet i norsk akvakultur

Det finnes som nevnt ingen offentlig statistikk på de vanligste årsakene til at oppdrettslaks dør. Man er avhengig av informasjon fra personell som arbeider i oppdrettsnæringen for å få oversikt over hvilke problemer som forårsaker størst dødelighet. I 2014 publiserte Mattilsynet rapporten «Tap av laksefisk i sjø». Rapporten hadde blant annet som formål å karakterisere hovedårsakene til tap i norsk lakseoppdrett (Bleie og Skrudland, 2014). Et spørreskjema ble sendt ut til oppdrettere som skulle krysse av antatt årsak til tap i sjøfasen. Kategoriene var: «settefiskkvalitet, mekanisk påvirkning, infeksjonssykdommer, miljørelatert dødelighet, diverse og slakting», alle kategoriene hadde underkategorier. Rapporten viste at det var store regionale ulikheter bak årsaker til at fisken døde. Det var også store variasjoner i hvor stor dødeligheten var i ulike grupper og ved ulike lokaliteter. Både innenfor samme eierskap, og innenfor samme geografiske områder, var det et mindretall av fiskegruppene som trakk det gjennomsnittlige tapet opp.

Hvert år sender Veterinærinstituttet ut en spørreundersøkelse til fiskehelsepersonell og inspektører i Mattilsynet for å få bedre innsikt i velferdssituasjonen (Sommerset *et al.*, 2021; Sommerset *et al.*, 2022). Formålet med spørreundersøkelsen er å innhente informasjon om hva de som arbeider med fiskevelferd i felt mener er de største velferdsmessige utfordringene. Respondentene av undersøkelsen skal blant annet svare på hva de mener er de fem største problemene som gir dødelighet i matfiskanlegg. Resultatene av undersøkelsen i Fiskehelse rapporten 2021 viser at respondentene mener at de 10 største problemene som gir dødelighet på Vestlandet (i PO1-5) er:

1. Infeksjon med *Piscine myokarditt virus (PMCV)* (CMS, Hjertesprekk)
2. Kompleks/ multifaktoriell gjellesykdom
2. Infeksjon med *Pasteurella* sp. (pasteurellose)
3. Mekanisk skade relatert til avlusning
4. Infeksjon med *Moritella viscosa* (klassiske vintersår)
5. Infeksjon med *Paramoeba perurans* (AGD, Amøbegjellesykdom)
6. Infeksjon med *Tenacibaculum* sp. (ikke-klassisk vintersår)
6. Infeksjon med *Piscine orthoreovirus (PRV)* (Hjerte og skjelettmuskelbetennelse)
7. Infeksjon med *Salmonoid alfavirus (SAV)* (PD, pankreassykdom)
7. Beiteskader / infestasjon med *Lepeotheirus salmonis* (Lakselus)

Selv om resultatene fra fiskehelseundersøkelsen viser at disse 10 problemene er de største i PO1-5, er situasjonen annerledes nasjonalt og i andre produksjonsområder. Det er geografiske ulikheter i hva som er de største problemene. Nedenfor organiseres de vanligste dødsårsakene på Vestlandet (PO 1-5) etter: «Kodeliste taps- og dødsårsaker i akvakultur» (NMBU Veterinærhøgskolen Ås, u. å.), samtidig som det gis en kort beskrivelse av dødsårsakene.

A - Infeksjonssykdommer

A 01 Virusindusert sykdom

A 01.140 - Pankreassykdom (uspesifisert)

Pankreassykdom (PD) er sykdom forårsaket av *Salmonoid alfavirus (SAV)* (Hodneland *et al.*, 2005). Det har blitt rapportert to subtyper av viruset i Norge, SAV 2 og SAV 3. SAV 3 finnes endemisk på Vestlandet med sporadiske utbrudd i Nord-Norge. SAV 2 finnes i Møre og Romsdal og Trøndelag. PD er en nasjonal listet sykdom som har meldeplikt til Mattilsynet (Dyrehelseforskriften, 2022). Sykdommen har også meldeplikt til OIE (OIE, 2021a). For å hindre spredning av PD har det blitt etablert en PD sone som strekker seg fra Jæren i sør til Skjemta i nord (Forskrift om tiltak for å forebygge, begrense og bekjempe PD hos akvakulturdyr, 2017). Sør og nord for sonen er overvåkningssoner med spesielt strenge tiltak ved påvisning. Det finnes vaksiner for å forebygge mot sykdommen. Viruset kan smitte fra fisk til fisk i samme fjordsystem, eller gjennom båter og utstyr. Typiske tegn på PD er at fisken stopper å spise og står og sturer mot notveggen (Taksdal *et al.*, 2007). Etter lengre sykdomsperioder kan fisken bli veldig avmagret. Sykdommen kan diagnostiseres ved hjelp av

histopatologi og påvisning av virus ved hjelp av rtPCR og dyrking av virus (Veterinærinstituttet, u. å.-e). I histopatologiske undersøkelser kan man se tap av eksokrin pankreasvev, man kan også se betennelsesreaksjoner, degenerasjon og nekrose i hjertemuskulatur og skjelettmuskulatur.

A 01.160 - Hjerte og skjelettmuskelbetennelse (HSMB)

Hjerte og skjelettmuskelbetennelse (HSMB) er sykdom i laks som er forårsaket av viruset *Piscine orthoreovirus* (PRV-1) (Palacios *et al.*, 2010). Viruset er svært utbredt i oppdrettslaks, men ikke alle funn av viruset er assosiert med sykdomsutbrudd. I mange tilfeller oppstår sykdomsutbrudd i forbindelse med stresset eller svekket fisk, for eksempel i forbindelse med ikke-medikamentelle avlusninger (Sommerset *et al.*, 2022). Det er registrert utbrudd av HSMB i hele Norge, men hyppigheten er høyest i Nord-Norge. Viruset smitter gjennom vannkontakt. Fisk som er syk med HSMB har ingen spesielle ytre sykdomstegn. Innvendig kan man finne sirkulasjonsforstyrrelser i form av stuvning i lever, ascites og blekt hjerte og blodkoagel (Kongtorp, Taksdal og Lyngøy, 2004). Sykdommen diagnostiseres ved hjelp av histopatologi og PCR undersøkelser (Veterinærinstituttet, u. å.-a). I histopatologiske undersøkelser kan man finne betennescelleinfiltrasjoner i hjertet og i skjelettmuskulatur. Det finnes ingen behandlinger eller kommersielle vaksiner mot HSMB, profylaktiske tiltak som reduserer stress og håndtering er viktig for å forebygge sykdomsutbrudd.

A 01.170 - Hjertesprekk (CMS)

Hjertesprekk, også kjent som Kardiomyopatisyndrom (CMS) er en sykdom forårsaket av viruset *Piscine myocarditis virus* (PMCV) (Haugland *et al.*, 2011). Viruset er utbredt i oppdrettslaks og det er registrert utbrudd av sykdommen i hele Norge. Hyppigheten er høyest på Vestlandet. I mange tilfeller oppstår sykdomsutbrudd i forbindelse med stress forårsaket av ikke-medikamentelle avlusninger (Sommerset *et al.*, 2022). Viruset smitter gjennom vannkontakt. Fisk som er syk med CMS har ingen spesielle ytre sykdomstegn, men det er ofte stor fin fisk som dør. Innvendig kan man finne fibrinlag på lever, ascites, forstørret atrium og hjertetamponade (Ferguson, Poppe og Speare, 1990). Det er ofte for i tarm. Sykdommen kan diagnostiseres ved histopatologi og PCR (Veterinærinstituttet, u. å.-b). I histopatologiske undersøkelser kan man finne betennescelleinfiltrasjoner i spongios hjertemuskulatur (Fritsvold *et al.*, 2021). Det finnes ingen behandlinger eller vaksiner mot sykdommen. Profylaktiske tiltak som reduserer stress og håndtering er viktig for å forebygge sykdomsutbrudd.

A 02 Bakterieindusert sykdom

A 02.150 - Snute og hodesår (Tenacibaculum)

Tenacibaculose også kaldt atypiske vintersår er sykdom forårsaket av *Tenacibaculum* arter (Olsen *et al.*, 2017). Sykdommen har blitt rapportert hos oppdrettslaks langs hele norskekysten, og flere respondenter av spørreundersøkelsen i Fiskehelse rapporten mener sykdommen er et økende problem i norsk oppdrett (Sommerset *et al.*, 2021). Det er artene *T. dicentrarchi* og *T. finnmarkense* som er mest forbundet med utbrudd i Norge (Habib *et al.*, 2014; Småge *et al.*, 2015; Spilsberg *et al.*, 2022). *Tenacibaculum* spp. finnes naturlig til stede i det marine miljø. Bakteriene er opportunistiske og infiserer ofte fisk med svekket hudbarriere, for eksempel som følge av mekaniske skader (Veterinærinstituttet, u. å.-f). I mange utbrudd finnes det flere ulike genetiske varianter og det antas dermed at smitte fra sjø til fisk er mer vanlig enn mellom fisk (Sommerset *et al.*, 2021). For å unngå infeksjon med *Tenacibaculum* spp. er det viktig å opprettholde en god hudhelse, blant annet ved å minimere risikoen for skader som følge av håndtering (Veterinærinstituttet, u. å.-f). Det er også anbefalt å fjerne fisk med synlige sår. Vanlige kliniske tegn på Tenacibaculose er sår rundt kjevepartiet og hale- og finneerosjoner. Sykdommen kan enkelt diagnostiseres i felt ved bruk av våtpreparat, hvor man kan se store mengder lange bevegelige stavbakterier (Småge, 2018). På laboratoriet diagnostiseres sykdommen ved hjelp av bakteriologi. *Tenacibaculum* sp. vokser på marineagar i 15 °C. Koloniene er runde med glatte kanter og har gul pigmentering (Olsen *et al.*, 2011). *Tenacibaculum* sp. er gram-negative bevegelige stav-bakterier, som i biokjemiske undersøkelser tester oksidase-positivt (+), og svakt katalase-positivt (+) (Olsen *et al.*, 2011). Det er mulig å benytte MALDI-TOF til å identifisere bakteriene.

A 02.160 – Vintersår grunnet Moritella viscosa

Klassiske vintersår er sykdom forårsaket av bakterien *Moritella viscosa*. Sykdommen har blitt rapportert hos oppdrettslaks langs hele norskekysten, og kan smitte fra fisk til fisk gjennom vann (Veterinærinstituttet, u. å.-c). Det er mulig å vaksinere fisk mot infeksjon (Karlsen *et al.*, 2017). Det anbefalt å fjerne fisk med sår, og å unngå håndtering som fører til hudskader (Veterinærinstituttet, u. å.-c). Vanlige kliniske tegn på klassiske vintersår er kroppssår langs siden på fisken, ofte etterfulgt av septikemi (Lunder *et al.*, 1995). Sykdommen diagnostiseres ofte i felt på bakgrunn av kliniske tegn, men dyrking og identifikasjon av bakterien må til for sikker diagnose.

A 02.260 – Pasteurellose

Pasteurellose er sykdom forårsaket av bakterier i slekten *Pasteurella*. Hos norsk laks har det blitt rapportert sporadiske utbrudd av pasteurellose siden 1989, men siden 2018 har forekomsten økt betraktelig (Sommerset *et al.*, 2021). De fleste utbruddene av sykdommen har vært på Vestlandet (PO2-PO5), og det er en ikke offisielt navngitt *Pasteurella* art som står bak de fleste utbruddene. Smitteveier og reservoar er ikke kartlagt, men det er mistanker om at sykdommen kan smitte via behandlingsbåter (Legård og Strøm, 2019). Det finnes ingen bekjempelsesstrategier for Pasteurellose, men profylaktiske tiltak som god hygiene er viktig for å forebygge utbrudd (Sommerset *et al.*, 2021). Vanlige kliniske tegn på Pasteurellose er kraftige infeksjoner i øyet med eksoftalmi og blødning, og fokale hvite nekroser i gjellene og pseudobrank (Valheim *et al.*, 2000). Det er også vanlig å finne blodige byller i skjelett- og hjertemuskelatur, og betennelser i indre organer og ved brystfinnebasis (Sommerset *et al.*, 2021). Sykdommen kan diagnostiseres ved hjelp av bakteriologi, histopatologi og PCR undersøkelser. Bakterien identifiseres ved hjelp av morfologi, MALDI-TOF eller 16S rRNA sekvensering (Legård og Strøm, 2019). *Pasteurella* sp. vokser på blodagar med salt og på blodagar uten salt i 15-22 °C. Koloniene er små og runde med grålig farge, først fremstår de ikke-hemolytiske, men etter en uke kan en se en alfa-hemolytisk sone (Valheim *et al.*, 2000). *Pasteurella* sp. er Gram-Negative, ubevegelige, rette staver. Biokjemiske egenskaper ved bakteriearten er at de er oksidase-positive (+) og katalase-negative (-) (Valheim *et al.*, 2000). De er også sensitive mot det vibriostatisk stoffet O/129. I histopatologi kan man se bakterieansamlinger i utsatte organ og man kan se tromber i hjertet (Legård og Strøm, 2019).

A 03 Parasittindusert sykdom

A 03.180 – Lakselus (L. Salmonis)

Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) er krepsdyr som er ektoparasitter på laksefisk i saltvann (Veterinærinstituttet, u. å.-d). Parasitten har 8 utviklingsstadier. 3 av stadiene, Naupilus -1,-2 og kopepoditt, er frittlevende og kan transporteres langt med havstrømmene. Det er kopepodittene som først finner verten og parasitterer den. De 5 neste stadiene til lusa er fastsittende. De to første stadiene heter Chalimus -1 og -2, de henger fast i lusa med et frontalfilament. De neste stadiene kalles Preadult -1, -2 og voksen lus. Disse stadiene er bevegelige på lusa og det er de som gjør skade på fisken i form av beiteskader. Hvis det er mange parasitter på en fisk, kan de forårsake store sår. Voksen lus parer seg på fisk og hunlusa produserer eggstrenger fulle med egg som klekkes som Naupilus i vannmassene. Infeksjon med lakselus er en nasjonal meldepliktig sykdom (Dyrehelseforskriften, 2022). Hver uke skal antall

voksne hunlus rapporteres til Mattilsynet. Antallet lus kan ikke overskride visse grenseverdier, og man er nødt til å gjennomføre tiltak for å sikre at dette ikke skjer. Tiltakene kan for eksempel være mekaniske lusebehandlinger.

A 05 Amøbeindusert sykdom

A 05. 110 – Amøbegjellesykdom

Amøbegjellesykdom (AGD) er forårsaket av amøben *Peramoeba perurans* (Young *et al.*, 2007). Amøben har parasittiske- og frittlevende stadier. De frittlevende stadiene kan finnes fritt i vannmassene, i sedimenter og på nøter (Tan, Nowak og Hodson, 2002). Amøben kan spres til naboanlegg, eller langt gjennom vannmassene. Fisk med AGD fremstår sløv, står høyt i merden og pustefrekvensen til fisken øker. På gjellene finnes det synlige hvite flekker med amøber. Det er ingen profylaktiske tiltak som hindrer AGD, men det er nyttig å oppdage amøbene tidlig for å begrense konsekvensene av sykdommen. Dette gjøres ved gjelleskåring, direkte mikroskopi av slim fra gjeller, PCR-undersøkelser og ved funn av amøber i histopatologiske undersøkelser av gjellene.

C- Skader (traume)

C 00 Skade uspesifisert/ ukjent årsak

Mekaniske skader relatert til avlusning er en uspesifisert dødsårsak og sier lite om hva som er årsaken til at fisken har dødd. Skaden kan være forårsaket av ikke-medikamentelle behandlinger eller i løpet av legemiddelbehandlinger (NMBU Veterinærhøgskolen Ås, u. å.). For å vite årsaken til at fisken har dødd, må man vite årsaken bak den mekaniske skaden og hvilken avlusningsmetode som er benyttet. Antall lusebehandlinger har økt betraktelig siden 2012, og behandlinger har blitt en del av rutinearbeidet i norsk akvakultur (Sommerset *et al.*, 2022). Avlusning fører til redusert fiskevelferd i form av stress, ytre skader og svekket fisk. Respondenter fra Fiskehelsesrapporten 2021 har rapportert økt forekomst av sår, og utbrudd av flere sykdommer innen to uker etter medikamentfri behandling. Sykdommene inkluderer blant annet CMS, HSMB og pasteurellose. Det er rapportert økt dødelighet forårsaket av sykdommene etter lusebehandling (Sommerset *et al.*, 2022).

F - Ukjent årsak

F 00.100 – Ukjent dødsårsak

Gjellesykdom er en uspesifisert dødsårsak og sier lite om hva som er årsaken til at fisken har dødd. Sykdommen kan være forårsaket av en infeksjonssykdom, av dårlige miljøforhold, av fysiologiske årsaker eller som følge av et traume (Nylund *et al.*, 2011). Det er ofte sammensatte årsaker til at gjellesykdom oppstår og derfor vanskelig å definere årsak (Sommerset *et al.*, 2021).

1. 8. Hva skal man gjøre med dødfisk?

Som man kan se av akvakulturstatistikken til Fiskeridirektoratet er det veldig høy dødelighet i norsk akvakultur (Fiskeridirektoratet, 2022b). Høy dødelighet er problematisk, det fører til lavere bærekraft og mindre etisk forsvarlig produksjon med tanke på fiskevelferd. For å minske antall dødfisk er det viktig å ha oversikt over dødfisksituasjonen. Både antallet som dør og hvorfor fisken dør. I dag gjennomfører ansatte på oppdrettsanlegg manuell telling og karakterisering av dødfisk. Manuell telling og kategorisering er tidkrevende, og det krever at de ansatte har kompetanse om hvordan det skal gjøres. Det er store potensialer i å effektivisere telle- og karakteriseringsprosessen. Dette er noe innovasjonsprosjektet Greatview ønsker å gjøre dette ved bruk av ML og KI.

1. 9. Formål med oppgaven

I min oppgave har jeg skåret individbaserte velferdsindikatorer på fisk, kategorisert årsak til dødelighet hos fisk, og sett på potensialet til å benytte maskinlæring og kunstig intelligens til å effektivisere karakteriseringsprosessen.

- Jeg har reist ut til oppdrettsanlegg for å samle inn informasjon fra felt, og prøvemateriale fra tilfeldig utvalgte dødfisk, som har blitt brukt til sykdomsdiagnostikk.
- Jeg har skåret individbaserte velferdsindikatorer på prøvetatt dødfisk.
- Jeg har på bakgrunn av informasjon fra felt og sykdomsdiagnostikk kategorisert årsak til dødelighet for prøvetatt dødfisk.
- Jeg har brukt ML og KI til å se på muligheten til å gjenkjenne velferdsindikatoren «Skjelltap» og diagnosen «Pasteurellose» på bilder tatt i felt.

Målet med oppgaven var å undersøke potensialet til å benytte KI til å overvåke velferd, sykdom og dødelighet hos Atlantisk laks (*Salmo salar* L.).

2. Material og metode

2.1. Prøveuttak

Dette er en feltstudie som har fulgt tre anlegg i produksjonsområde 4 (PO4) (Figur 2) (Fiskeridirektoratet, 2022a).



Figur 2: Fiskeridirektoratet (2022) Kart Fiskeridirektoratet: Produksjonsområder Tilgjengelig fra: https://portal.fiskeridir.no/arcgis/rest/directories/arcgisoutput/Geoprocessing/ExportWebMapHost_GPSTerver/_ags_1776b2fe-8e37-11ec-a5f6-005056b813f7.jpg (Hentet: 15.02.2022): Grønn farge = «Tilbud om kapasitetsøkning (akseptabel miljøpåvirkning)», Gul farge = «Opprettholdelse av eksisterende produksjonskapasitet (moderat miljøpåvirkning)», Rød farge = «Nedbygging av produksjonskapasitet (uakseptabel miljøpåvirkning)» (Produksjonsområdeforskriften, 2017).

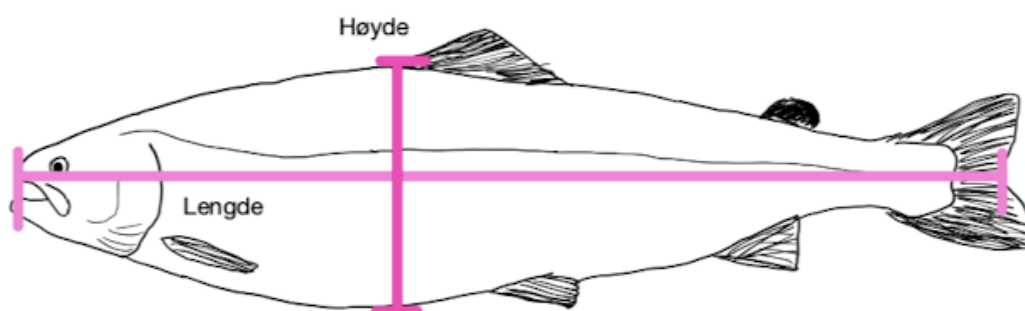
Det ble benyttet dødfisk som kom opp i LiftUP systemer som var tatt bilde av med CView LiftUp (CreateView AS, u. å.-a). I uttak 1, 2 og 6 ble det benyttet levende fisk som var innfanget med bruk av kastenot, håvet opp og avlivet med en overdose av Finquel vet. (MSD Animal Health). Informasjon om fiskens ankomst til anleggene, sykdomshistorikk, behandlingshistorikk og dødelighet i de aktuelle merdene ble innhentet gjennom muntlig kommunikasjon med ansatte på anleggene. Tabell 2 viser tidspunkt for prøveuttak ved de ulike lokalitetene (A, B og C) og antall prøver tatt til de ulike analysene.

Tabell 2: Oversikt over uttak og antall prøver tatt i felt: Organ i organpakker inkluderer pseudobrank, gjelle, hjerte, lever, milt, pylorus med pankreas, nyre, muskel og hjerne. Agar benyttet for bakterieutstryk er marineagar, Blodagar med 2 % NaCl, og blodagar uten salt.

Uttak	Dato: 2021	Anlegg	Merd	Antall fisk	Status	Organ- pakker, formalin	Nyre- vev, RNA- later	Bakterie- utstryk Nyre	Bakterie- utstryk, Pseudo- brank	Bakterie- utstryk Sår	Vann- prøver
1	16.09.	C	1	3	Avlivet	3	3	3	1	0	0
2	29.09.	C	1	6	Avlivet	6	6	6	0	0	0
3	07.10.	A	2	4	Død	4	4	4	2	1	0
3	07.10.	A	3	5	Død	5	5	5	2	1	0
4	08.10.	B	4	9	Død	9	9	9	0	1	0
5	21.10.	A	2	3	Død	3	3	3	1	3	0
5	21.10.	A	3	5	Død	5	4	5	1	2	0
6	02.11.	B	4	3	A. / D.	3	3	3	0	0	2
7	30.11.	A	2	5	Død	5	5	5	0	2	0
7	30.11.	A	3	5	Død	5	4	5	0	5	0
Total				48		48	46	48	7	15	2

2. 1. 1. Utvendig karakterisering av velferdsindikatorer

Ved hvert prøveuttak ble det tatt ut inntil 9 fisk fra dødfisksystemet for prøvetaking (Tabell 2). En fisk ble undersøkt om gangen. Fiskens vekt og lengde ble registrert. Fiskens lengde var målt fra tuppen av snuten til det ytterste punktet midt på halefinnen (Figur 3).



Figur 3: Lengde og høydemål på fisken: Lengde målt fra tuppen av snute til ytterste punkt midt på halefinnen, høyde målt fra buken til punkt foran ryggfinne

Fiskene i uttak 1, 2 og 4 ble plassert i et målebrett, mens fiskene i uttak 3, 5, 6 og 7 ble målt med en meterstokk. Fiskens høyde ble målt med en meterstokk, rett opp fra buken til punktet der ryggfinner starter (Figur 3). Evaluering av velferdsindikatorer ble utført og skåret fra 0-3 etter Laksvells skåringskjema for individbaserte velferdsindikatorer (Tabell 3) (Nilsson *et al.*, 2022)

Tabell 3: Laksvells skåringskjema for individbaserte velferdsindikatorer: Skåringsnivået går fra 0-3. 0 = Ingen skade eller avvik, 1 = Mindre skade eller avvik, 2 = Tydelig skade eller avvik, 3 = Alvorlig skade eller avvik (Nilsson *et al.*, 2022)

Skår	1	2	3
Førsteintrykk	Minimale til milde avvik.	Tydelige avvik.	Ekstreme avvik.
Ryggradsdeformiteter	Antydning eller mistanke om deformitet.	Tydelig deformitet.	Ekstrem deformitet.
Avmagring	Litt mager (slank).	Avmagret (tynn).	Svært avmagret («taperfisk»).
Kjønnsmodning	Begynnende tegn som forlengelse av kjever og krokdannelse. Fortsatt blank farge.	Mørkere, men fortsatt hovedsakelig sølvfarget. Tydelig forlengelse av kjevene på hanner.	Full gytedrakt med brunaktig farge. Bakkroppen kraftigere enn på umoden laks.
Skjelltap	Noe skjelltap, enkelte små felt med skjelltap, eller mange enkeltskjell (spraglet).	Moderat skjelltap, større felt på fisken med tydelig skjelltap.	Stort skjelltap, store områder av fisken med tydelige skjelltap.
Hudblødning	Enkelte røde prikker eller mindre og svake felt.	Tydelig røde felt (<10 % av kroppen).	Store røde felt (>10 % av kroppen).
Kroppssår	Lite eller helet sår (ikke arr). Ikke ned til muskel (intakt underhud).	Flere små skår 1-sår eller ett mindre og åpent sår.	Alvorlige større åpne sår som viser gjennom til muskel eller bukhule.
Snutesår	Tegn til snutesår.	Tydelig snutesår.	Ekstrem skade på snute.
Kjevedeformiteter	Tegn til deformitet.	Tydelig deformitet.	Ekstrem deformitet.
Øyeblikking	Blakking utenfor og / eller opp til 10 % av linseåpningen.	10-50 % av linseåpningen er blakket.	> 50 % av linseåpningen er blakket.
Øyeskade	En liten blødning.	Tydelig blødning eller annen skade.	Stor skade, antatt blindt øye.
Gjellelokk	Litt forkortet gjellelokk, en kan skimte gjellene.	Tydelig forkortet. Gjellevev godt synlig.	Kraftig forkortet. Mye av gjellevevet er synlig.
Gjellestatus	Tegn til forandringer.	Utalte forandringer.	Svært store forandringer.
Finnestatus	Litt skader.	Tydelige skader.	Ekstreme skader.

2. 1. 2. Obduksjon av fisk

Ved hvert prøveuttak ble fisk obdusert for innvendig fotografering, og for bakterielt, histopatologisk og PCR-prøveuttak (Tabell 2). Fisken ble lagt på et bord med venstre side opp og hodet mot venstre. Operkulum ble fjernet ved å klippe dorsalt på operkulum og frem anteriort

mot snuten slik at hele første gjellebue ble synliggjort. Etter at operkulum var fjernet ble det åpnet inn til bukhulen ved å lage et lite innsnitt bak brystfinnen, videre ble det klippet posterioert til gattet og dorsalt opp mot fremre del av nyra. Det ble laget et diagonalt kutt i muskel mellom de to endene, rett nedenfor sidelinja, slik at det var mulig å fjerne buksida. For å åpne opp foran perikardialt hulrom ble det klippet opp mellom gjellebuene og bukhulen. Huden foran hjertet ble deretter klippet bort. Innvendige organer ble undersøkt og avvik ble notert ned.

2. 2. Blod

2. 2. 1. Blodprøver

Ved uttak 2 ble levende fisk fanget i kastenot og avlivet med en overdose Finquel vet. (MSD Animal Health). Blodprøvene ble tatt fra kaudalvenen (*Vena caudalis*). Kaudalvenepunktering ble gjennomført ved at en 0,8*25 mm lang vacutainer kanyle (BD) ble festet på en vacutainer-engangsholder (BD) og stukket inn i blodåren mellom fettfinnen og analfinnen, rett under sidelinjen. Et vacutainerør tilsatt heparin (BD) ble festet til kanylen slik at blodet ble trukket ut og fylte opp røret. Etter uttak ble røret snudd 8-10 ganger for å blande heparin inn i blodet. Blodprøvene var oppbevart kjølig frem til videre analyser.

2. 2. 2. Blodutstryk

Fra blodprøvene ble det laget blodutstryk. Et superfrost objektglass (Assistent) ble lagt flatt og en liten dråpe blod ble dryppet nær den ene enden på objektglasset. Et annet objektglass ble plassert med en vinkel på omtrent 30° over dråpen og glidd langs superfrost objektglasset mot dråpen slik at dråpen ble spredt ut langs kanten på objektglasset. Blodet ble spredt på objektglasset ved å skyve objektglasset over i en forsiktig, men stødig bevegelse. Utstryket ble lufttørket i romtemperatur.

2. 2. 3. May-Grünwald Giemsa-farging

For å morfologisk differensiere og differensialtelle blodceller ble det benyttet May-Grünwald Giemsa-farging av et blodutstryk. Utstryket ble plassert i en objektglassholder og fiksert med metanol (Merck) i 15 minutter. Etter fiksering ble utstryket plassert på en rist og det ble brukt en plastpipette til å tilsette filtrert May-Grünwald Giemsa løsning (RAL Diagnostics) som fikk virke i 15 minutter. For at utstryket ikke skulle tørke ut ble det fylt på med May-Grünwald Giemsa løsning underveis. Etter 15 minutter ble overflødig farge fjernet ved å dunke enden av objektglasset mot tørkepapir. En plastpipette ble brukt til å pipettere over 1:10 fortynnet Giemsa

løsning (Merck) som fikk virke i 30 minutter. Blodutstryket ble deretter skylt i vann i 30 sekunder, før det fikk lufttørke.

2. 2. 4. Leishman-Giemsa farging

For å morfologisk differensiere og differensialtelle blodceller ble det utført Leishman-Giemsa farging av blodutstrykene. Utstrykene ble plassert i en objektglassholder og fiksert med metanol (Merck) i 5 minutter. Etter fiksering ble utstrykene plassert på en rist og Leishman løsning (0,15 % Leishman Eosin Metylenblau (Merck) i metanol) ble tilsatt til utstrykene var dekket. Blodutstrykene ble inkubert i 3 min før Giemsa Fosfatbuffer (7 % Giemsa (Merck) i Fosfatbuffer) ble tilsatt utstrykene mens Leishman løsningen fortsatt var på. Utstrykene var inkubert med blandingen av Leishman og Giemsa Fosfatbuffer i 3 minutter. En pipette ble brukt til å skylle utstrykene med Fosfatbuffer (0,89 % natriumsforfat monobasisk og 1,12 % natriumdibasisk i destillert vann) med pH 6 til overflødig farge var fjernet. Når overflødig farge var fjernet ble utstrykene lagt i objektglassholderen og plassert i en beholder med kaldt rennende vann i omtrent 3 minutter for å vaskes. Blodutstrykene ble lagt til tork, før de ble plassert i et mørkt kjøleskap over natten. Neste dag ble 1 dråpe Mounting medium (Merck) dryppet på blodutstrykene og det ble montert på dekkglass.

2. 2. 5. Differensialtelling av erytrocytter og leukocyter

Det ble foretatt en manuell differensialtelling av erytrocytter og leukocyter på de fargede blodutstrykene. Et blodutstryk ble lagt under et mikroskop (Leica) og undersøkt raskt med 10x objektiv (100x totalforstørrelse) for å få et bilde av utstryket. En dråpe immersjonsolje ble dryppet på utstryket og det ble benyttet 100x objektiv (1000x totalforstørrelse) under tellingen. Et synsfelt med synlige celler ble funnet og alle cellene i feltet ble talt og det ble notert om de var erytrocytter eller leukocyter. Da alle cellene i et felt var talt ble synsfeltet flyttet litt til høyre og cellene her ble talt på samme måte. På første utstryk ble 20 felt talt, men antallet ble nedskalert til 10 felt på grunn av tidsbruk. Forholdet mellom erytrocytter og leukocyter i blodutstryket ble regnet ut som gjennomsnittet av forholdet på alle de talte synsfeltene.

2. 2. 6. Hematokrit-test

For å se hvor stor volumandel av blodet som var røde blodceller ble det utført en hematokrit-test. Kapillærrør (Brand ®) ble fylt opp med antikoagulant-behandlet (heparinisert) blod, og enden på røret ble forseglest med kitt. For hver blodprøve ble det fylt to paralleller. Rørene ble

sentrifugert i en Jouan A13 hematokrit-sentrifuge i 5 minutter ved 11709 x g. Etter sentrifugering var det et klart plasmalag øverst i kapillærrørene, et gråhvitt lag med hvite blodlegemer i midten av rørene og et rødt lag med røde blodlegemer nederst i rørene. Prosentandelen røde blodceller ble registrert ved å justere kapillærrøret til en hematokritleser. Middelerdien av de to parallellene ble regnet ut.

2. 3. Histopatologi

2. 3. 1. Prøveuttak til histopatologiske analyser

Ved hvert prøveuttak ble det tatt ut organprøver til histopatologisk undersøkelse (Tabell 2). Det ble tatt ut prøver fra pseudobrank, gjelle, hjerte, milt, lever, pylorus med pankreas, nyre, muskel og hjerne. For å konservere organene ble de fiksert i 100 cl plastbeger med 80 cl formalin (Chemi-Teknik). Plastbegrene med formalin ble forberedt før prøveuttak. Fyllingen av plastbegrene foregikk i avtrekkskap (Kilab AS) og det ble benyttet nitrillhansker (VWR). Beholderne med formalin ble merket med saksnummer, dato og individnummer for hver fisk. Det ble benyttet en beholder per individ og forholdet mellom vev:formalin oversteg ikke 1:10.

Vevsprøver ble dissekert ut og lagt på formalin (Chemi-Teknik). En skalpell og en pinsett ble brukt for å dissekere ut hele pseudobranken. En saks ble benyttet til å klippe ut en 2-3 cm stor bit fra andre gjellebue. Hjertet ble dissekert ut og delt i to vertikalt slik at vevsbiten besto av en del av ventrikkelen, atriumet og bulbus. Vevsbiter med en størrelse på omtrent 0,4*1*1 cm ble dissekert ut fra fiskens lever, pylorus med pankreasvev rundt og milt. På grunn av at bakterieutstryk på skål og PCR-uttak fra nyren krevde steril teknikk, ble nyren dissekert ut etter at det var gjennomført bakterieutstryk og PCR-uttak. En bit av midtnyren med nyrevegg ble dissekert ut. Muskel med hud ble dissekert ut ved å ta et snitt under ryggfinnen på tvers av sidelinjen. En stor kniv ble brukt til å åpne kraniet slik at hjernen kunne dissekeres hel ut.

2. 3. 2. Tilpassing av vevsprøver i kassetter

Vevsprøvene som ble tatt ut i felt ble fiksert i formalin (Chemi-Teknik) i minst 24 timer før de ble klargjort til fremføring. Kassetter (Sakura) ble merket med nummer på prøveuttak, fisk og organ med en kassettpriater (Sakura IDent). Tabell 4 viser oversikt over hvordan organene ble organisert i kassetter.

Tabell 4: Oversikt over vevsprøver i kassetter: Tabellen viser forkortelse på kassetene og hvilke vevsprøver som lå i hver kassett

GJ	HJ	PSB	PL	NM	H	MU
Gjelle	Hjerte	Pseudobrank	Pankreas + lever	Nyre + milt	Hjerne	Muskel

Arbeidet med å legge de fikserte organene i kassetter foregikk i et avtrekkskap (Kilab AS). Beholderen med fikserte organ og formalin ble helt over en sil, slik at organene ble igjen i silen og formalinen ble samlet opp i en beholder. Organene ble tilpasset størrelsen på kassetene ved hjelp av en skalpell og pinsetter. Organene ble lagt i rett merket kassett som ble lagt på formalin frem til fremføring. Overflødig vev ble samlet opp i en avfallsbeholder.

2.3.3. Fremføring

For å kunne snitte vevet uten å skade vevsstrukturen ble det gjennomført en fremføring i en histokinette (Thermo Scientific Excelsior AS) hvor vevsbitene ble støpet i voks. Prosessen besto av fiksering, dehydrering, klaring og voksimpregnering. Før prosessen kunne begynne ble kassetene (Sakura) med de fikserte vevsprøvene lagt i et reaksjonskammer i histokinetten. Temperaturen for hele prosessen var 60 °C. For å hindre at autolytiske prosesser ødela strukturer i vevet ble vevsbitene fiksert i 4 % formalin (Chemi-Teknik) i 30 minutter. Etter fiksering ble formalinen pumpet ut av reaksjonskammeret. Neste del av prosessen var dehydrering av vevet, hvor vannet i vevsprøvene ble skiftet ut med hydrofobe stoff. Alkohol (VWR chemicals) i økende konsentrasjon fra 70 % etanol til absolutt etanol (100 %) ble etter tur pumpet inn og ut av karet. Dehydreringa besto av 6 steg og hvert steg varte i 1 time. Neste steg var Klaring. Da ble alkoholen i vevet erstattet av klargjøringsmiddelet xylen (VWR chemicals) som er løselig i både voks og i alkohol. Klaringen besto av 3 steg som varte i 1 time hver. Siste steg var voksimpregnering. Da ble xylen erstattet med flytende voks (CellPath Ltd), slik at vevsprøvene ble klare til innstøping. Impregneringen besto av 3 steg, som varte i 1 time og 20 min. Vevsbitene var da klare til innstøping.

2.3.4. Innstøping

Etter impregnering var vevsbitene klare til innstøping. Under prosessen ble parafininnstøpingssenter benyttet (Medite Tes 99). Kassetene med vevsbiter ble flyttet fra reaksjonskammeret i histokinetten (Thermo Scientific Excelsior AS) til en varmeluke i parafininnstøpingssenteret. For å støpe rundt vevet ble kassetene åpnet, en pinsett ble brukt til å flytte vevet fra kassetten til en liten metallskål. Skåla ble fylt med litt voks (CellPath Ltd), før

den ble lagt på et kjøleelement. Her ble vevsbiten presset fast i underlaget med et stempel. Metallskåla ble løftet opp og fylt opp med voks. Lokket på kassetten ble lagt på den fylte metallskåla som ble flyttet til kjøleplata for avkjøling av voksen. Når voksen var tørket, ble voksblokka tatt ut av metallskåla. En kniv ble brukt til å skjære bort overflødig voks rundt kassetten og blokka var klar til snitting.

2. 3. 5. Snitting

For å snitte vevsblokkene ble det benyttet et mikrotom (Thermo scientific Microm HM 355s). For å klargjøre mikrotomet ble det fylt med destillert vann, og en mikrotomkniv ble festet fast. Blokka ble festet i mikrotomet, og vannet ble skudd på slik at det rant nedover sleden. Blokkene med vevsbiter ble trimmet ned ved å snitte 15 μm snitt til hele vevsbiten var synlig i snitteplanet. Vevsbiten ble snittet på 3 μm . *Tunga* på mikrotomet ble ført ned i vannkaret slik at snittet rant ut i karet. Snittet rettet seg ut i vannet. Et objektglass (Assistent) ble brukt til å plukke opp snittet ved å føres loddrett ned i vannet og berøre snittet. Objektglasset med snittet ble merket med prøvenummer, fisk og organ, før det ble lufttørket.

2. 3. 6. Hematoksylin-eosin (HE)-farging

Snittene ble farget med Hematoksylin-eosin farging (HE-farging) for å synliggjøre vev og celler. En Tissue-Tek prisma fargemaskin (Sakura) ble benyttet for fargingen. Fargene som var benyttet var vannbaserte, derfor måtte voksen fjernes fra snittene før farging. Snittene ble dyppet i xylen (VWR chemicals) før de gikk gjennom en alkoholrekke (1*70 % - 1* 80 % - 1* 96 % - 2* 100 %). Snittene ble farget ved å bli dyppet i hematoksylin (Instant hematoxylin kit, Thermo scientific), etterfulgt av eosin (Merck), (fortynnet i destillert vann og 1 % eddiksyre). Etter farging ble snittene dypet i xylen (VWR chemicals). Når snittene var ferdig farget, ble de dekket med Tissue-Tek coverslipping film (Sakura) i en Tissue-Tek film (Sakura).

2. 3. 7. Mikroskopi

Det ble benyttet lysmikroskopi for å undersøke de snittede vevsprøvene. Da det i denne studien ble benyttet dødfisk var mange av de snittede vevsprøvene for autolytiske til å kunne vurderes. Det ble derfor fokusert på å undersøke vevsprøver fra hjerte og fra muskel. For å kunne skille viktige differensialdiagnoser ble også pankreas undersøkt. Snittene ble undersøkt med lysmikroskop (Leica). For å få oversikt over snittet ble det benyttet 10x objektiv (100x totalforstørrelse) til å se over hele snittet. For å få en mer nøyaktig oversikt over snittet ble det

benyttet 20x objektiv (200x totalforstørrelse) til å se over hele snittet. På områder av snittet hvor noe fremsto unormalt ble det benyttet 40x og 63x objektiv (400x og 630x totalforstørrelse) for å kunne se og vurdere bedre. Avvik ble notert ned.

2. 3. 8. Gradering av histopatologiske funn i hjertet

Snitt fra hjertevev som hadde lesjoner forenelig med CMS, ble vurdert og gradert etter tilstedeværelse av infiltrasjon av mononukleære betennelsesceller i spongiøst lag i atrium og i ventrikkel. Lesjonene ble gradert fra 0-4 (Tabell 5) (Fritsvold *et al.*, 2021).

Tabell 5: Histopatologisk gradering av lesjoner i spongiøst lag i hjertet: Lesjonene ble gradert fra 0-4 etter tilstedeværelse av infiltrasjon av mononukleære betennelsesceller i spongiøst lag i atrium og i ventrikkel (Fritsvold *et al.*, 2021)

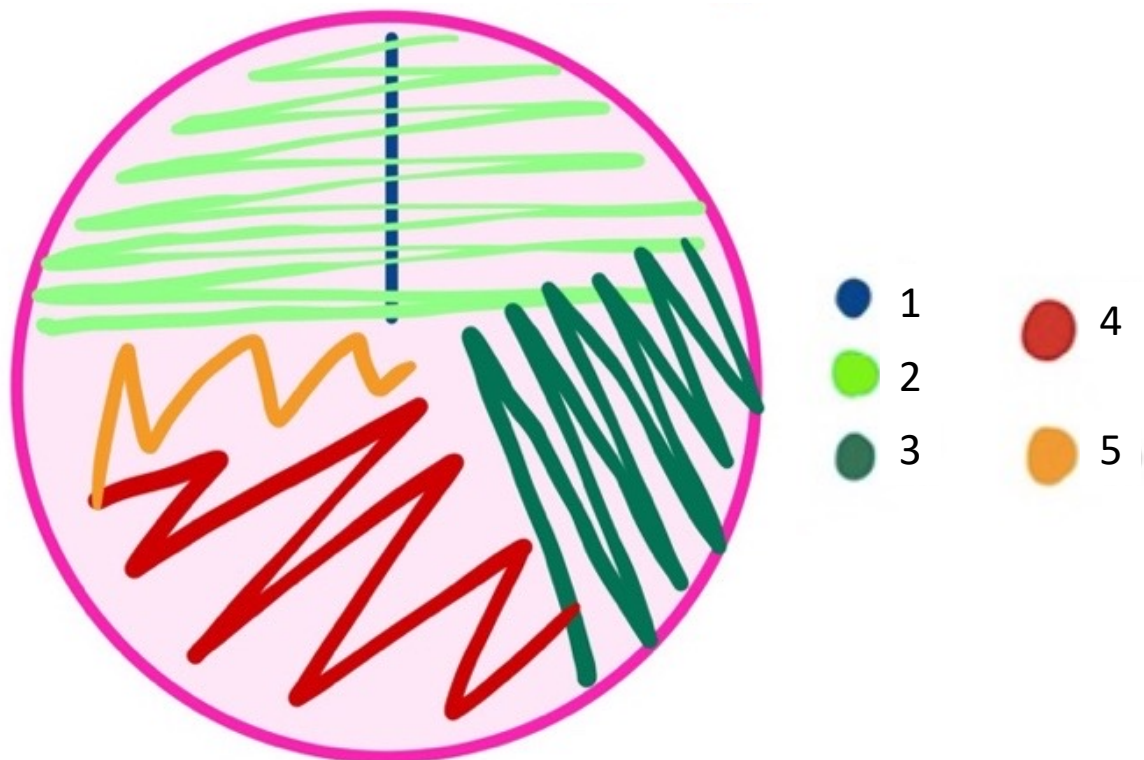
Skår	Beskrivelse
0	Ingen patologiske funn, eller økt antall leukocytter.
1	En eller få fokale lesjoner, økt antall leukocytter.
2	Flere distinkte lesjoner, og litt til moderat økning i antall leukocytter.
3	Multifokale til konfluerende lesjoner, og moderat til uttalt økning i antall leukocytter.
4	Uttalt konfluerende lesjoner som omfatter >75 % av vevet og massiv leukocytinfiltrasjon.

2. 4. Bakterier

2. 4. 1. Bakteriestryk

For å undersøke bakterievekst i dødfiskene, ble det utført bakteriestryk fra nyre på blodagar (CM071) med 2 % NaCl (Merck), blodagar uten NaCl (CM071) og på marineagar (Difco 212185). Hos fisk med sår eller unormal / puss i pseudobrank ble det gjort utstryk fra sår / pseudobrank. Skålene ble merket med saksnummer, dato og individnummer for fisk og det ble benyttet en petriskål av hver agar per individ.

Et sterilt skallpellblad ble benyttet til å ta bakterieprøver fra nyra ved å snitte et hull gjennom bindevevslaget utenfor nyra. En steril plastpodenål ble stukket inn i nyra og rørt rundt. Podenåla ble tatt forsiktig ut av nyra og brukt til å lage et bakteriestryk på hver av agarene. På sår og pseudobrank ble en steril podenål strøket langs kanten og over såret / pseudobranken før den ble brukt til å lage et stryk på hver av de tre agarene. En ny podenål ble tatt ut av pakken og ble forsiktig strøket over overflaten til petriskåla for å spre og fortynne bakteriene over skåla (Figur 4). Prøvene ble lagt i en isoporboks med et kjøleelement frem til inkubering. Agarar med blod med 2 % NaCl og marineagarar ble inkubert ved 15 °C i 7 dager, blodagar uten salt ble inkubert ved 22 °C i 7 dager.



Figur 4: Utstryk på bakterieskål: En podenål ble først strøket frem og tilbake over det første utstryket, før skåla ble snudd og utstryket fortynnet i 5 omganger. For hver gang skåla ble snudd ble utstryket mer fortynnet.

2. 4. 2. Dyrking og vurdering av bakterievekst

For å overvåke vekst av bakterier ble agarene fra felt vurdert hver 2, 4, og 6 dag etter mengde vekst og grad av renkultur. Veksten på bakterieskålene ble vurdert etter Tabell 6, dersom det ikke var noe vekst ble det notert ingen vekst (i.v.). Bakteriekoloniene ble beskrevet med morfologi, farge og om de var hemolytiske eller ikke.

Tabell 6: Vurderingsgrunnlag for vekst på bakterieskåler: Veksten på bakterieskålene ble vurdert fra 1-5 ut fra hvilken grad av renkultur det var og om det var sparsom, moderat eller rikelig vekst.

	Sparsom (S)	Moderat (M)	Rikelig (R)
1. Renkultur	s.1	m.1	r.1
2. Tilnærmet reinkultur	s.2	m.2	r.2
3. Blandingsflora dominert av...	s.3	m.3	r.3
4. Blandingsflora	s.4	m.4	r.4
5. Uspesifikk	s.5	m.5	r.5

Bakteriekolonier som var dominerende, eller lignet *Pasteurella* sp. eller *Tenacibaculum* sp., ble sådd som sekundærutstryk. Agarskåler med sekundærutstryk fikk vekst i renkultur som kunne testes i MALDI-TOF (MALDI Biotyper). Sekundærutstryk ble sådd ut på samme type agar som primærskål. En podenål ble benyttet til å plukke opp en bakteriekultur fra primærskål og det

ble laget et utstryk på sekundærskål. For å spre og fortynne bakteriene over skåla ble podenåla først strøket frem og tilbake over det første utstryket, før skåla ble snudd og utstryket fortynnet (Figur 4). Sekundærskåla ble inkubert i 2 dager. Marineagar og blodagar med NaCl ble inkubert ved 15 °C, blodagar uten NaCl ble inkubert ved 22 °C.

2. 4. 3. Identifikasjon av bakterier med MALDI biotyper (MALDI-TOF)

For å identifisere bakterier ble det benyttet massespektrometri ved hjelp av en Matrix-assisted laser desorptions/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF, MALDI Biotyper Microflex LT; Bruker Daltonics). Under analyser ble det generert et proteinspektrum for bakteriene som kunne sammenlignes med bakterier registrert i etablerte databaser.

De identifiserte bakteriene ble direkte overført fra en bakterieskål med renkultur sekundærutstryk til en stålplate. En tannpirker ble stukket inn i en bakteriekoloni som ble overført og smurt ut på stålplaten. Bakteriene ble smurt jevnt ut over feltet i et tynt lag for å få best mulig resultat. Hver bakteriekultur ble smurt ut over to paralleller på platen. *Escherichia coli* og *Staphylococcus aureus* ble brukt som positiv kontroll, ved hver kjøring av prøver. Prosedyren ble gjentatt for alle bakteriekulturene som skulle identifiseres. Etter at bakteriene var smurt ut på stålplaten fikk de lufttørke i maksimalt 10 minutter før 1 µl HCCA (α -cyano-4-hydroxycinnamicacid) (matrix) ble pipettert over hvert felt. Prøven var klar til analyse når matrixen hadde tørket.

Under MALDI-TOF analysen ble det benyttet to programmer: flexControl og Compass. For å starte en prøve ble programmene flexcontrol og Compass åpnet på en datamaskin som var tilkoblet MALDI-TOF-instrumentet. En ny klassifisering ble registrert i Compass ved å skanne en strekkode på stålplaten. Samtidig som matrixen på stålplaten tørket, ble id for hver prøve registrert for analyse i Compass. Prøvenavn ble registrert for hvert av feltene på stålplaten. Stålplaten med bakterieutstryk ble lagt i MALDI-TOF-maskinen i en sluse med vakuum. For å åpne slusen ble det trykket på en grønn knapp på maskinen merket «in/out». Når slusa i MALDI-TOF maskinen var i vakuum var prøvene klar for å analyseres. Det ble trykket «Start acquisition». Målingene startet automatisk når vakuomet i slusa var lavt nok. Prøvene ble beskyttet av en laser og fragmentene ble separert etter størrelse/ladning. Når målingene var ferdige, kom resultatene opp i Compass. Prøver med en treffverdi (skår-verdi) over 2,00 regnes som gode, pålitelige og sannsynlige identifiseringer. For å fjerne stålplata med prøvene fra

MALDI-TOFen ble det trykket på den grønne knappen. Av hensyn til vakuemet i maskinen ble slusa i MALDI-TOF-instrumentet alltid lukket etter bruk ved å trykke på den grønne knappen.

2. 4. 4. Fasekontrast av *Aeromonas* sp. i mikroskop

Det ble gjennomført fasekontrast i mikroskop (Leica) for å se om *Aeromonas* sp. bakteriekulturer var bevegelige eller ikke. En dråpe saltvann ble dryppet på et objektglass (Assistent), og en podenål ble benyttet til å overføre litt materiale fra ønsket bakteriekultur til saltvannsdråpen. Dråpen med bakterier ble dekket av et dekkglass, som ble tilført en dråpe olje, og undersøkt i mikroskop i fase 4 med 100x objektiv (1000x totalforstørrelse). Bakterienes morfologi og bevegelighet ble notert.

2. 4. 5. Bakteriefrysing

For å kunne lagre bakterieisolater til senere undersøkelser ble de fryst ned med to forskjellige metoder. Den første metoden var gjennom Microbank™. En podenål ble brukt til å plukke opp store mengder bakterier fra en renkultur. Podenåla ble rørt rundt i glasset som inneholdt kuler og væske til bakteriekulturen var borte fra podenåla. Lokket på glasset ble skrudd på, og glasset ble vendt et par ganger opp ned. Lokket ble skudd av og en plastpipette ble benyttet til å pipetere ut væsken fra glasset. Glasset med kuler med bakterier ble fryst ned ved -80 °C. Den andre metoden for frysing av bakterier var gjennom oppbevaringsmedium. En podenål ble brukt til å plukke opp store mengder bakterier fra en renkultur. Podenåla ble deretter rørt rundt i glasset som inneholdt oppbevaringsmedium. Glasset ble fryst ned ved -80 °C.

2. 4. 6. Dyrking av fryste bakterieisolater

For videre analyser av fryste bakterieisolater ble bakterier (Tabell 7) sådd opp på ny fra fryste kuler (Microbank™). En disseksjonåle ble benyttet til å plukke opp en kule fra glasset. Kula ble strøket over en agarskål. Utstryket ble utført som i Figur 4. *Tenacibaculum* sp. isolater ble strøket ut på marineagar og *Pasteurella* sp. ble strøket ut på agar med blod med 2 % NaCl.

Tabell 7: Fryste bakterieisolater sådd opp på ny fra anlegg A: Fryste *Tenacibaculum* sp. ble sådd opp på marineagar, fryste *Pasteurella* sp. ble sådd opp på blod med 2 % NaCl.

Bakterieisolat fra Anlegg A	Agar
<i>Tenacibaculum</i> sp.	Marine
<i>Tenacibaculum</i> sp.	Marine
<i>Pasteurella</i> sp.	Blod med 2 % NaCl
<i>Pasteurella</i> sp.	Blod med 2 % NaCl
<i>Pasteurella</i> sp.	Blod med 2 % NaCl

2. 4. 7. O129 Diskfølsomhetstest

O129 Diskfølsomhetstest ble brukt for å teste om *Pasteurella* sp. var sensitiv til det antimikrobielle vibriostatisk stoffet O129. Fra bakterieisolater med *Pasteurella* sp. (Tabell 7) ble det strøket ut som i Figur 4 på blodagar med 2 % NaCl. En 150 µg O129 disk (Liofilmchem) ble lagt på overflaten av agarskålen der utstryket var tette. Agarskålene ble inkubert i 15 °C i 1 uke før resultatet ble avlest.

2. 4. 8. Oksidasetest

For å undersøke bakterieisolatene i Tabell 7 sitt cytochrom c oksidaseaktivitet ble det utført en oksidasetest. Bakterier med enzymet cytochrom c kan bruke oksygen for energiproduksjon ved at enzymet virker som elektronakseptor i oksidasesystemet. Ved bruk av testplate (BD BBL™ DrySlide™) gir positivt sluttprodukt blå farge og negativt sluttprodukt gir ikke blå farge.

Ved hver undersøkelse ble en podenål benyttet til å plukke opp en bakteriekoloni. Bakteriene ble strøket ut på et av feltene på en testplate. Resultatet ble avlest etter senest 20 sekunder.

2. 4. 9. Katalasetest

For å undersøke bakterieisolatene i Tabell 7 sin evne til å produsere enzymet katalase ble det utført en katalasetest. Katalase er et enzym som spalter hydrogenperoksid (H₂O₂) til vann (H₂O) og oksygen (O₂). Bakterier som er katalase-positive danner luftbobler av O₂ i kontakt med H₂O₂. Katalase-negative bakterier danner ikke luftbobler av O₂ i kontakt med H₂O₂.

Ved hver undersøkelse ble en podenål benyttet til å plukke opp en bakteriekoloni. Bakteriekolonien ble strøket ut på et objektglass (Assistent). En dråpe 3 % H₂O₂ (Merck) ble dryppet over bakteriene på objektglasset. Resultatet ble lest av umiddelbart.

2. 4. 10. Gram-Farging av bakterieutstryk

For å finne ut om bakterieisolatene i Tabell 7 var gram-positive eller gram-negative ble det benyttet gram-farging av bakterieutstryk. Ved å farge bakterieutstryk med en kombinasjon av krystallfiolett og jod, for deretter å tilsette alkohol, vil man se celleveggen evne til å beholde fargen. For å synliggjøre alle bakteriene, blir bakterieutstrykene farget med kontrastfarge. Gram-positive bakterier har peptidoglykan som ytterste lag i celleveggen og vil farges fiolett av krystallfiolett og jod, mens gram-negative bakterier har en ytre lipidmembran som avfarges når det tilsettes alkohol. De gram-negative bakteriene farges rød av kontrastfarge.

Det ble laget mikroskoppreparat av bakterieisolatene i Tabell 7. En dråpe fysiologisk saltvann ble dryppet på hvert objektglass (Assistent). En podenål ble stukket i hver av bakteriekulturene og rørt rundt i dråpen på hvert sitt objektglass. Objektglassene ble liggende i ro frem til de var tørre. Det ble laget en positiv kontroll med *Staphylococcus aureus* og en negativ kontroll med *Escherichia coli*. Da objektglassene var tørre ble de preparert ved å brennes av i en gassbrenner. De preparerte objektglassene ble lagt på en rist der de ble farget med gramfarging-kit (BD BBL). Først ble krystallfiolett pipetert over objektglassene som ble liggende i 1 min før fargen ble skyllet bort med springvann. Deretter ble jod pipetert over objektglassene som ble liggende i 1 min før joden ble skyllet bort med springvann. Etterpå ble avfarger pipetert over objektglassene frem til væsken som rant av var fargeløs, etter av-farging ble preparatene skylt i springvann. Til slutt ble safarin pipetert over objektglassene som ble liggende i 30 sekund før fargen ble skyllet bort med springvann.

2. 5. Polymerase chain reaction (PCR)

2. 5. 1. Prøveuttak til PCR-undersøkelser fra nyre

Det ble tatt ut prøver til PCR fra nyra til fisken. For å stabilisere, beskytte og lagre cellulært DNA ble prøvene lagt i RNAlater (Thermo Fisher Scientific). Eppendorf-rør (Eppendorf AG) ble merket med saksnummer, dato, og individnummer for fisk. Det ble benyttet et eppendorf-rør per individ. Prøvene ble tatt fra nyre ved at en bit på størrelse med et fyrstikkhode ble dissekert ut og lagt i et eppendorf-rør med RNAlater løsning. Prøvene var lagret ved romtemperatur i et døgn før de ble overført til lagring ved -28 °C.

2. 5. 2. Isolering av nukleinsyrer fra vev

Roche High pure PCR template preparation kit ble brukt for å isolere nukleinsyrer og til å vaske og ekstrahere nukleinsyrer fra vev. En 25-50 mg vevsprøve ble kuttet opp, most og lagt i et nukleasefritt 1,5 ml mikrosentrifugerør. En pipette ble brukt til å tilsette 200 μ l Tissue lysis buffer. En pipette ble brukt til å tilsette 40 μ l rekonstituert proteinase K. Løsningen med vevsbitene ble blandet umiddelbart i et vortex-risteapparat (VWR international). Mikrosentrifuge-rørene ble inkubert ved 55 °C til vevet var fullstendig oppløst. Etter at vevet var fullstendig oppløst, ble 200 μ l binding buffer tilsatt til mikrosentrifuge-rørene og blandet i vortex-risteapparatet. Prøvene ble inkubert i et 70 °C vannbad i 10 min. Mikrosentrifuge-rørene ble tatt ut av vannbadet og en pipette ble brukt til å tilsette 100 μ l isopropanol (Antibac AS). Blandingen ble blandet godt. High Pure filterrør ble lagt i oppsamlingsrør, og løsningen i mikrosentrifuge-rørene ble pipettert over øvre bufferreservoar på filterrørene. Hele High pure filterrør-sammensetningen ble satt i en eppendorf microsentrifuge 5415D i 1 min ved 8000 x g.

Etter sentrifugering ble filterrøret fjernet fra oppsamlingsrøret, og lagt i et nytt oppsamlingsrør. Oppsamlingsrøret med overflødig væske ble kastet. 500 μ l Inhibitor Removal buffer ble tilsatt til øvre bufferreservoar i filterrøret. Hele High pure filterrør-sammensetningen ble satt i en eppendorf microsentrifuge 5415D i 1 min ved 8000 x g. Etter sentrifugering ble filterrøret fjernet fra oppsamlingsrøret, og lagt i et nytt oppsamlingsrør. Oppsamlingsrøret med overflødig væske ble kastet. 500 μ l vaskebuffer ble tilsatt til øvre bufferreservoar i filterrøret. Hele High pure filterrør-sammensetningen ble satt i en eppendorf microsentrifuge 5415D i 1 min ved 8000 x g. Prosessen med vaskebuffer ble gjentatt før overflødig væske ble kastet og Hele High pure filterrør-sammensetningen ble sentrifugert i 10 sekund på full hastighet. For å eluere DNA ble filterrøret satt i et rent, og sterilt 1,5 ml mikrosentrifugerør og 200 μ l forvarmet Elution buffer ble tilsatt øvre bufferreservoar i filterrøret. Mikrosentrifugerøret med filterrøret i ble sentrifugert i 1 min ved 8000 x g. Mikrosentrifugerøret med ekstrahert DNA ble lagret i frys ved -28 °C.

2. 5. 3. Prøveuttak og filtrering av vann til PCR-undersøkelser

For å undersøke tilstedeværelsen av *Pasteurella* sp. i vannet rundt fisken ble det i uttak 6 tatt vannprøver fra Anlegg B (Tabell 2). Det ble mottatt renskede vannprøver fra Anlegg A fra Matilde Holmeset (Masterstudent UiB). To åttekantede 500 ml PET flasker (Corning Gosselin SAS) ble fylt med sjøvann ved å dyppe dem ned i vannet rett utenfor merden.

Nalgene analytiske filtertrakter (Sigma-Aldrich) med kapasitet på 250 ml, og filterporer på 0,45 μl ble benyttet til å filtrere vannet og samle opp eventuelle bakterier i vannprøvene. Vannprøvene ble helt over i filtertraktene samtidig som en peristaltisk pumpe (Shenchen V6-3L) pumpet vannet gjennom filtrene (700 ml/min) ned i en bøtte. Da alt vannet var filtrert ble filtrene tatt ut av traktene med pinsett og lagt i 5 ml rør. Rørene ble lagt på frys ved $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ frem til videre analyser.

2. 5. 4. DNA ekstraksjon fra Nitrocellulosefilter

DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) ble brukt for å ekstrahere og vaske DNA fra de filtrerte vannprøvene. Filtrene ble overført til 5 ml rør og en blanding med 720 μl ATL buffer og 80 μl proteinase K ble tilsatt i rørene. Prøvene ble blandet i 15 sekunder i vortex-risteapparat (VWR international) før de ble inkubert med rotasjon (Thermo Scientific) ved $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Termaks) i 24 timer. Etter inkubering ble prøvene blandet på ny i vortex-risteapparat (VWR international). All væsken i røret ble pipettert over i et 5 ml LoBind rør (Eppendorf). AL buffer og iskald EtOH ble tilsatt i rørene med prøvene i et forhold 1:1:1 og blandet i vortex-risteapparat. 660 μl av blandingen ble overført til en DNeasy Mini spinn kolonne med et 2 ml oppsamlingsrør. Blandingene ble sentrifugert i en Eppendorf microsentrifuge 5415D i 1 min ved 8000 x g. Trinnet ble gjentatt til all blandingen var filtrert gjennom DNeasy mini spinn kolonnen. DNeasy mini spinn kolonnen ble først vasket ved at 500 μl AW1 ble tilsatt og sentrifugert i 1 min ved 8000 x g. Deretter ble spinn kolonnen vasket ved at 500 μl AW2 ble tilsatt og sentrifugert i 1 min ved 8000 x g. Etter vask ble spinn kolonnen sentrifugert i 3 min på full hastighet for å tørkes. 100 μl AE buffer ble tilsatt spinn kolonnen og inkubert i 5 min i romtemperatur. Etter inkubering ble kolonnen sentrifugert på 6000 x g i ett minutt.

2. 5. 5. Nano-drop måling av DNA

For å beregne renheten til det ekstraherte DNAet fra nyrevevsprøvene og vannfiltrene, ble det utført Nano-drop. Nano-drop målinger er UV-spektrometri av nukleinsyrer. Et Thermo scientific NANODROP 2000 spectrometer ble brukt for å måle renheten til DNAet. Måling av konsentrasjon ng/ μl av DNA og renheten ble målt på 260/280 bølglengde. Først ble 1,8 μl nukleasefritt vann pipettert over målepidestallen for å lage en blank kontroll. Målepidestallen ble tørket av med tørkepapir og prøvene var klar for måling. Prøve ID ble skrevet inn og 1,8 μl

av første prøve ble pipetert på målepidestallen. Etter at alle prøvene var målt, ble kontrollen målt.

2. 5. 6. Kvantitativ polymerase chain reaction (qPCR) påvisning av *Pasteurella* sp.

For å undersøke tilstedeværelsen av DNA fra *Pasteurella* sp. i de renskede nyreprøvene og vannprøvene ble det benyttet qPCR. Probe og primere benyttet vises i Tabell 8.

Tabell 8: Oversikt over probe og primere til rt-PCR *Pasteurella*. Sp.: Tabellen viser type arvestoff, mengde og sekvens for probe, forward primer og reverse primer.

	Arvestoff	Mengde	Sekvens
Probe	DNA	0,4µm	Fam-ATC TGA TGA AGC TAC ACA ACG TG-3'-BHQ-1
Forward primer	DNA	0,025µm	TCTAATATTGATGATCTTGTGTTG
Reverse primer	DNA	0,025µm	ATTCCTAAATTAGGAAAGATAC

En mastermix ble blandet etter forholdene i Tabell 9. 16 µl mastermix ble fordelt i PCR-rør. 4 µl templat ble tilsatt hver av prøvene som ble sentrifugert for å fjerne luftbobler.

Tabell 9: Oversikt over komponenter i mastermix: Komponentene i mastermixen ble tilsatt i et eppendorfrør og blandet sammen i en vortex-ristemaskin.

Komponent	Opprinnelig konsentrasjon	konsentrasjon i reaksjonsmiks	µl per prøve
Nukleasefritt vann			1,2
Brillig III Ultra-Fast Q-PCR Master mix	2x		10
Patsalm F	10 µM	900 nM	1,8
Patsalm R	10 µM	900 nM	1,8
Patsalm:BHQprobe	5 µM	600 nM	1,2

Prøvene ble satt i Agilent Technologies, Stratagene Mx3005P instrument og software. Programmet ble stilt inn etter Tabell 10 og kjørt. Etter kjøring kom resultatene opp i dataprogrammet (MxPro).

Tabell 10: PCR-program: PCR prøvene for *Pasteurella* sp. ble kjørt etter temperatur og tidshenvisningene i tabellen.

	Temperatur	Tid
Dekontaminering	50 °C	15 min
Aktivering av polymerase og denaturering av templat	95 °C	2 min
PCR: 40 sykluser		
Denaturering	95 °C	5 sek
Utvidelse	57 °C	45 sek

2. 6. Kategorisering av årsak til dødelighet

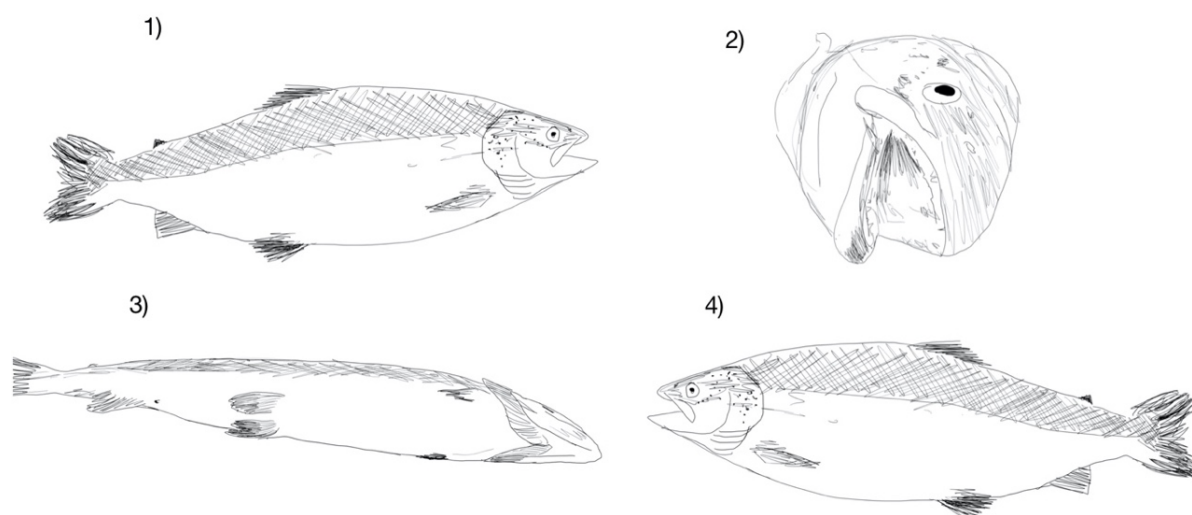
For å systematisere den sannsynlige årsaken til dødelighet hos de prøvetatte fiskene i oppgaven ble «Kodeliste taps- og dødsårsaker i akvakultur» (NMBU Veterinærhøgskolen Ås, u. å.) benyttet til dødfiskkategorisering. Kategoriseringen ble støttet opp av funn i felt og resultater fra diagnostiske undersøkelser.

2. 7. Bildeanalyser ved hjelp av ML og KI

Det ble benyttet bildeanalyser for å se på potensialet til å bruke MI og KI for å kategorisere dødfisk og på hvilket nivå bildeanalyser kan kategorisere. I denne oppgaven ble det undersøkt om MI og KI kunne gjenkjenne fisk med diagnosen «Pasteurellose» og velferdsindikatoren «Skjelltap».

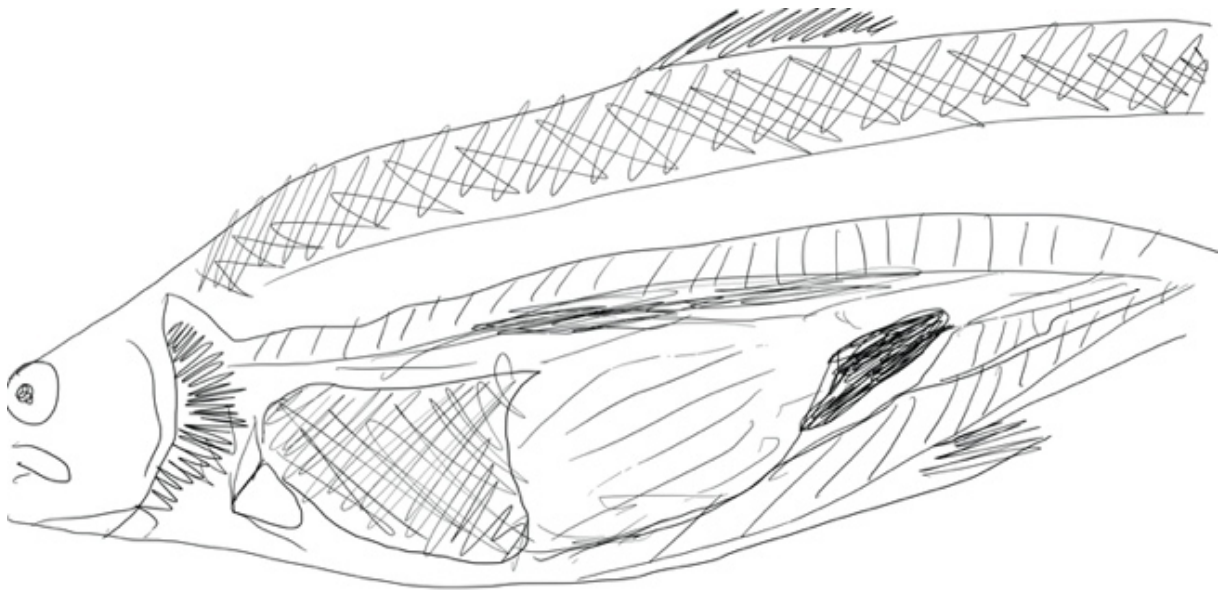
2. 7. 1. Utvendig og innvendig fotografering av dødfisk

Ved hvert prøveuttak ble de prøvetatte fiskene utvendig fotografert. En iPhone 8 ble benyttet for fotografering og digitalisering av bilder. Et brunt dekkpapir ble rullet ut og en fisk av gangen ble plassert på papiret for å fotograferes som vist i Figur 5.



Figur 5: Utvendig fotografering av dødfisk: Fisken ble fotografert fra 1) venstre side, 2) fra snuten, 3) fra gattet og 4) fra høyre side. I uttak 1 og 2 ble fisken plassert på ryggen i en støtte for å fotografere buken. Støtten fisken lå i var laget på Havforskningsinstituttet (Tegning: Anna Osland Kjærgård).

Etter obduksjon ble det tatt oversiktsbilder av hele den venstre siden på fisken med åpen gjellebue, hjertehule og bukthule (Figur 6).



Figur 6: Innvendig fotografering: Oversiktsbilde av venstre side på fisken med åpen gjellebue, hjertehule og bukthule (Tegning Anna Osland Kjærgård).

2. 7. 2. Organisering av bilder tatt i felt

Et bilde fra venstre side, og et bilde fra høyre side fra hver fisk ble valgt ut og lagt i en mappe. Bildene ble delt tilfeldig i to mapper; en «train» mappe med 77 bilder og en «test» mappe med 12 bilder. Av de 12 bildene i «test» mappen var det et bilde fra hver side av 6 ulike fisker. Bildene som ble tatt i felt hadde «HEIC» format, formatet på bildene ble endret til «jpeg».

2. 7. 3. Markering på bilder i LableMe

For å utføre ML trenger man bilder maskinen kan trene på. Bildene som ble tatt i felt og organisert i «train» og «test» mappene ble benyttet til å merke diagnosen «Pasteurellose» og velferdsindikatoren «Skjelltap» på fiskene. Annonterings-verktøyet LabelMe ble benyttet til å merke på bildene. LabelMe skrives i Python og kjører i Anaconda. De fiskene som testet positivt for *Pasteurella* sp. i qPCR ble merket for «Pasteurellose» ved å markere rundt hele fisken. Ved «Skjelltap» på fisken ble det markert rundt skjelltapet. Når en markering ble laget på et bilde ble det opprettet en «json» fil som inneholdt koordinatene til markeringen på bildet.

2. 7. 4. Trening og testing av algoritme i Detectron2

For å teste og trene algoritmen ble programvaresystemet Detectron 2 benyttet. Detectron 2 er et programvaresystem fra Facebook AI som skrives i Python og som kan kjøres i Google colab. Detectron 2 er et system som implementerer objekt-deteksjonsalgoritmer, dette betyr algoritmer som kan gjenkjenne objekter.

I oppgaven ble det benyttet en kode som var tilsendt fra Aditya Gupta postdoktor på UiA. Koden ble tilpasset slik at den passet til datasettet med bilder tatt i felt. Koden benyttet bildene og koordinatene i «train» mappa til å trene opp algoritmen til å gjenkjenne «Pasteurellose» og «Skjelltap». Bildene i «test» mappa ble benyttet til å se på utfallet av algoritmen.

3. Resultater

3.1. Årsak til dødelighet

3.1.1. Funn og innsamling av historikk fra felt

Anlegg A, merd 2 og 3

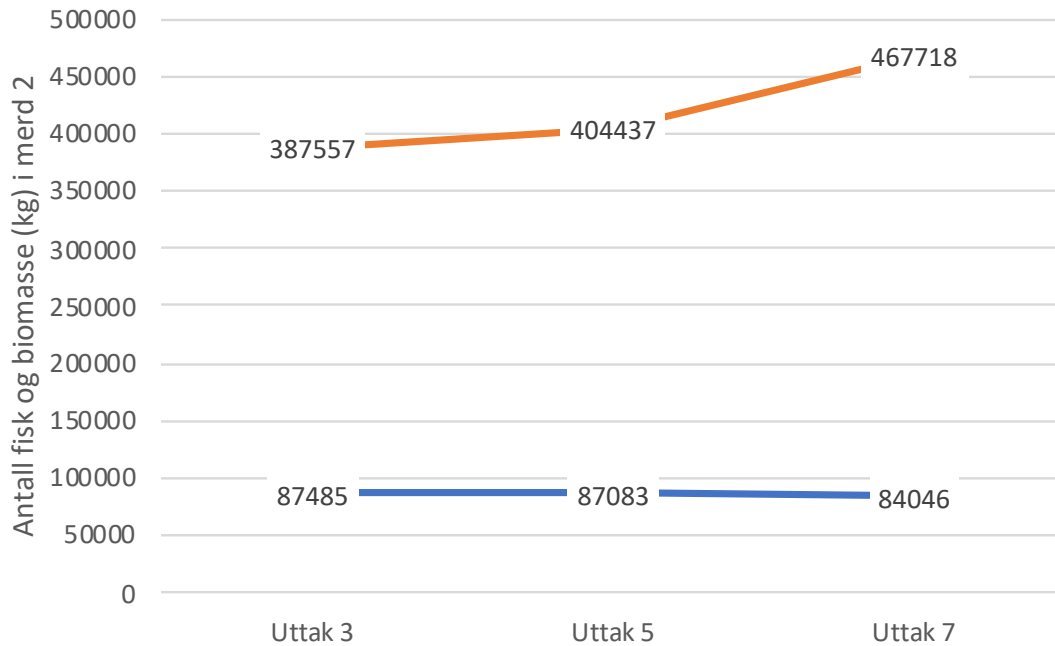
Det ble gjennomført 3 uttak på anlegg A (Tabell 11). Alle de prøvetatte fiskene var dødfisk som kom opp i dødfisksystemet (Tabell 2). Fisken i merd 2 ankom anlegget i oktober 2020. Fisken i merd 3 ankom anlegget i mars 2021. Fiskene i de to merdene hadde ulikt genetisk opphav. Resultater fra tidligere helsekontroller på anlegget viste at fisken tidligere hadde hatt milde tegn til PD. Tegnene inkluderte noe økt dødelighet, dårlig appetitt og slapp fisk. Anlegget fikk påvist PD med ukjent virustype i mai 2021 (BarentsWatch, u. å.). Fisken i de to merdene var gjennom flere mekaniske lusebehandlinger i løpet av produksjonstiden i sjø. Det var mekanisk lusebehandling i merdene 1-3 uker før hvert av prøveuttakene (Tabell 11). På rutinetester utført på anlegget testet 20/20 fisk positivt for PRV1 og 4/20 positivt for PMCV. Vannprøver tatt fra anlegget var positive for *Pasteurella* sp. ved qPCR.

Tabell 11: Oversikt over prøveuttak og avlusninger ved anlegg A: Tabellen viser uker det ble utført prøveuttak av dødfisken i merd 2 og 3, og hvilke uker det ble utført avlusning i merd 2 og 3.

Ukenummer for prøveuttak	Ukenummer for avlusning
Uttak 3: uke 40	Avlusning 1: uke 38
Uttak 5: uke 42	Avlusning 2: uke 41
Uttak 7: uke 48	Avlusning 3: uke 45

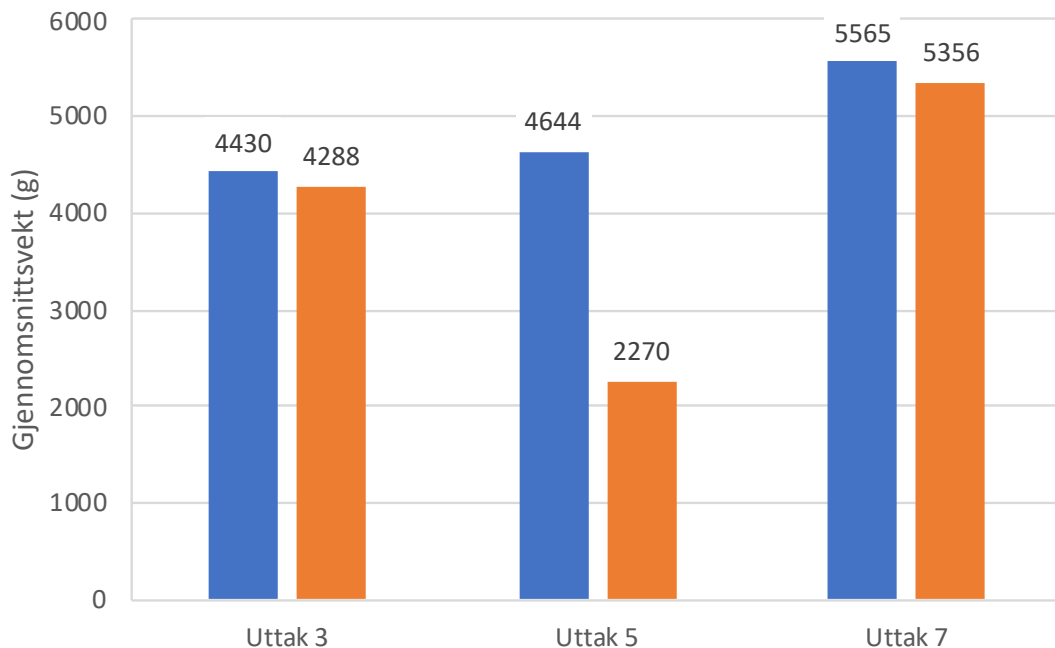
Merd 2

Biomassen i merd 2 økte i uttaksperioden selv om antall fisk gikk ned (Figur 7). Totalt døde 3,9 % av fisken i merden i løpet av uttaksperioden, etter uttak 3. Mellom uttak 3 og 5 døde gjennomsnittlig 2,5 % av fisken i uka, dette tilsvarer en skår (2) i laksvels skåringsskjema. Mellom uttak 5 og 7 døde gjennomsnittlig 6,0 % av fisken i uka, dette tilsvarer en skår (3) i laksvels skåringsskjema.



Figur 7: Antall fisk (blå) og biomasse (kg)(oransje) i merd 2 på anlegg A ved uttak 3, 5 og 7: Y-aksen viser både antall fisk og biomasse (kg) i merd 2.

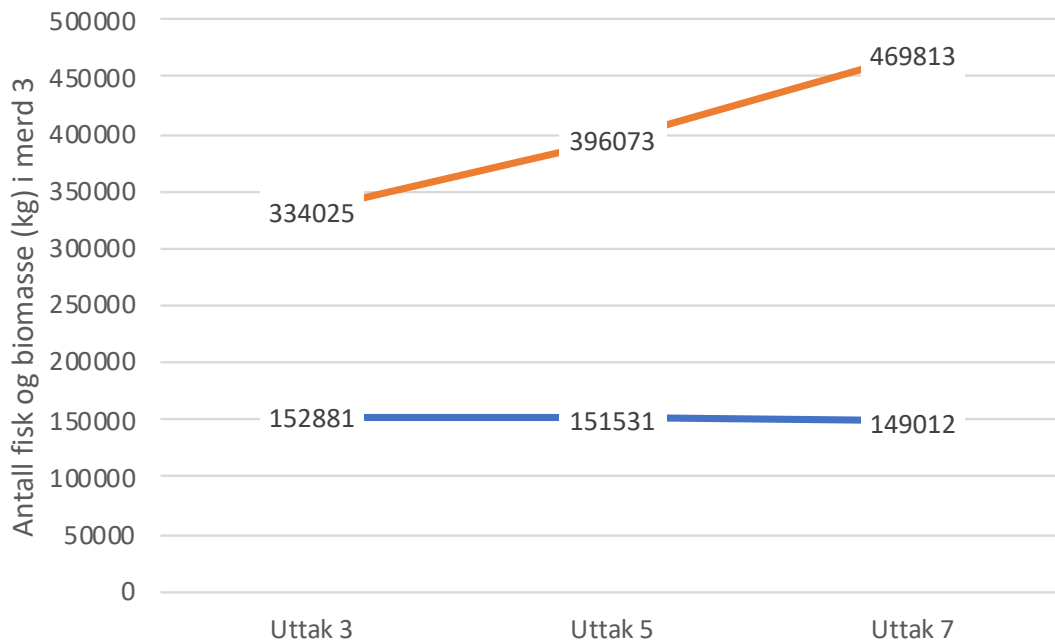
Figur 8 viser gjennomsnittsvekt på fiskene i merd 2 og dødfisken som ble undersøkt fra merd 2. I uttak 3 og 7 var gjennomsnittsvekten til den prøvetatte dødfisken omtrent på størrelse med fisken i merden. Ved uttak 5 var gjennomsnittsvekten til den prøvetatte dødfisken betydelig lavere enn fisken i merden.



Figur 8: Gjennomsnittsvikt (g) for fisk i merd 2 (blå), og for prøvetatt dødfisk fra merd 2 (oransje) på anlegg A ved uttak 3, 5 og 7: Figuren viser gjennomsnittsvikt på fiskene i merd 2, og gjennomsnittsvikt til dødfisken som ble undersøkt i uttaket.

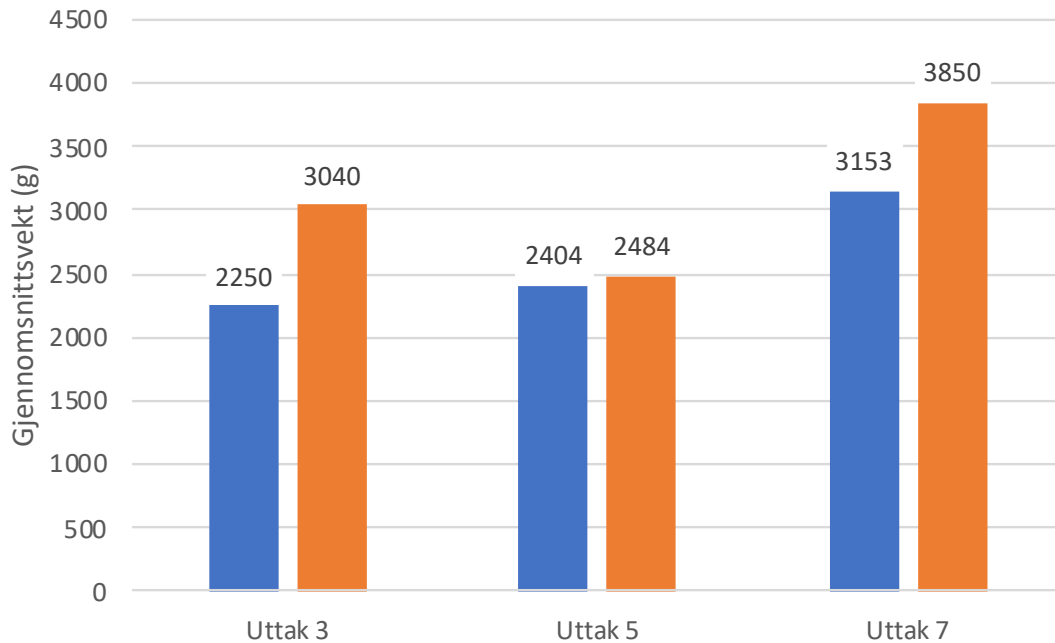
Merd 3

Biomassen i merd 3 økte i uttaksperioden selv om antallet fisk gikk ned (Figur 9). Totalt døde 2,5 % av fisken i merden i løpet av uttaksperioden, etter uttak 3. Mellom uttak 3 og 5 døde gjennomsnittlig 4,5 % av fisken i uka, dette tilsvarer en skår (2) i laksvels skåringsskjema. Mellom uttak 5 og 7 døde gjennomsnittlig 2,8 % av fisken i uka, dette tilsvarer en skår (2) i laksvelsskåringsskjema.



Figur 9: Antall fisk (blå) og biomasse (kg)(oransje) i merd 3 på anlegg A ved uttak 3, 5 og 7: Y-aksen viser både antall fisk og biomasse (kg) i merd 3.

Figur 10 viser gjennomsnittsvekt på fiskene i merd 3 og dødfisken som ble undersøkt. I uttak 3 og 7 var gjennomsnittsvekten til den undersøkte dødfisken betydelig høyere enn fisken i merden. Ved uttak 5 var gjennomsnittsvekten til dødfisken omtrent på størrelse med fisken i merden

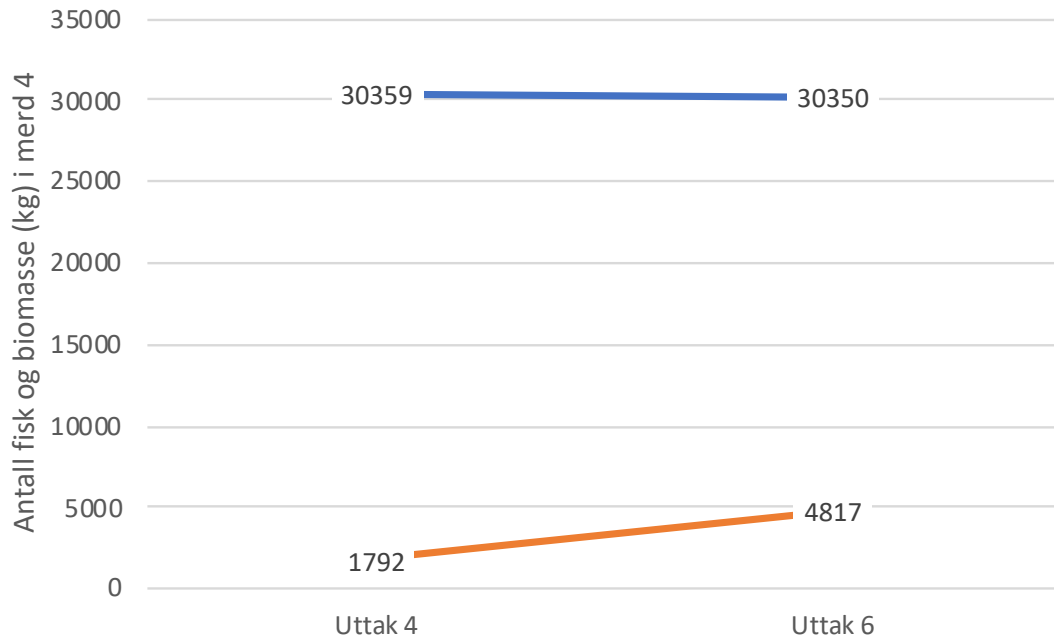


Figur 10: Gjennomsnittsvikt (g) for fisk i merd 3 (blå), og for prøvetatt dødfisk fra merd 3 (oransje) på anlegg A ved uttak 3, 5 og 7: Figuren viser gjennomsnittsvikt på fiskene i merd 3 og gjennomsnittsvikt på dødfisken som ble undersøkt i uttaket.

Anlegg B, merd 4

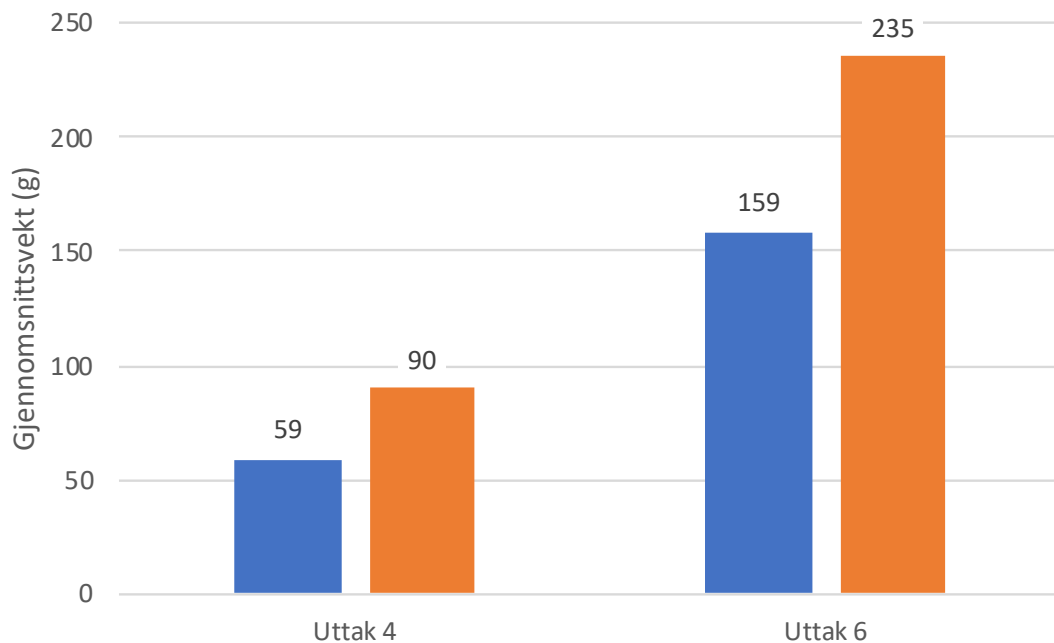
Det ble gjennomført 2 uttak på anlegg B. I uttak 4 var alle de prøvetatte fiskene dødfisk som kom opp i dødfisksystemet, i uttak 6 var to av fiskene forsøksfisk og var avlivet, mens en fisk var dødfisk (Tabell 2). Fisken i merd 4 på anlegg B ankom anlegget 05.10.2021. Det ble ikke pumpet dødfisk mellom utsetting av fisken og uttak 4. Det var ingen resultater fra tidligere helsekontroller og fisken var ikke gjennom noen lusebehandlinger i løpet av prøvetaksperioden på anlegget. Vannprøver tatt fra anlegget var negative for *Pasteurella* sp. ved qPCR.

Biomassen i merd 4 økte og antallet fisk i merden holdt seg stabilt (Figur 11). Kun 9 fisk døde mellom uttak 4 og uttak 6, dette tilsvarer en gjennomsnittlig ukentlig dødelighet på 0,1 %, dette tilsvarer en skår (0) i laksvels skåringsskjema.



Figur 11: Antall fisk (blå) og biomasse (kg)(oransje) i merd 4 på anlegg B ved uttak 4 og 6: Y-aksen viser både antall fisk og biomasse (kg) ved uttakene i merd 4.

Figur 12 viser gjennomsnittsvekt på fiskene i merd 4 og dødfisken som ble undersøkt fra merd 4. I alle uttakene var gjennomsnittsvekten til de prøvetatte fiskene større enn gjennomsnittsvekten til fiskene i merden.



Figur 12: Gjennomsnittsvekt (g) for fisk i merd 4 (blå), og for prøvetatt dødfisk fra merd 4 (oransje) på anlegg B ved uttak 4 og 6: Figuren viser gjennomsnittsvekt på fiskene i merd 4 og gjennomsnittsvekt på dødfisken som ble undersøkt i uttaket.

Anlegg C, merd 1

Det ble gjennomført to uttak fra Anlegg C (Tabell 2). Alle fiskene som ble undersøkt på anlegget var levende fisk som ble håvet opp med kastenot og avlivet. Når fisken ankom anlegget, antall fisk og biomassen (kg) i merd 1 ved uttakene er ukjent.

3. 1. 2. Sykdomsdiagnostikk og skåring av individbaserte velferdsindikatorer

Oppsummering av bakteriefunn

Det ble funnet flere ulike bakterier i MALDI-TOF (Tabell 12). Tabellen viser en oversikt over alle de ulike bakteriene som ble funnet og en forkortelse for bakteriene. Bakterier med artsnavn har >2,0 i treff i MALDI-TOF, og identifiseres på artsnivå. Bakterier med «*» har >1,7, <2,0 som treff i MALDI-TOF, og identifiseres på slektsnivå. Uthevede bakterier er viktige sykdomsfremkallende bakterier for fisk, blant annet *Pasteurella* sp. og ulike *Tenacibaculum* sp. Alle *Aeromonas* sp. som ble undersøkt for om de var bevegelige eller ikke i fasekontrast var bevegelige kokkoide staver.

Tabell 12: Oversikt over bakterier funnet i MALDI-TOF: Alle bakteriene har fått en forkortelse som brukes videre i resultatdelen. (Uthevet: Viktige sykdomsfremkallende bakterier), (*: Bakterier med MALDI-TOF skår mellom 1,7-2,0).

Bakterier påvist i MALDI-TOF	Forkortelse
<i>Aeromonas veronii</i>	A1
<i>Aeromonas bestarium</i>	A2
<i>Aeromonas</i> *	A3*
<i>Chryseobacterium</i> *	C1*
<i>Flavobacterium glaciei</i>	F1
<i>Pseudomonas</i> *	P1*
<i>Pasteurella</i> sp.	P2
<i>Pseudarthrobacter</i> *	P3*
<i>Staphylococcus</i> *	S1*
<i>Shewanella baltica</i>	S2
<i>Streptococcus vestibularis</i>	S3
<i>Shewanella</i> *	S4*
<i>Tenacibaculum finnmarkense</i> gv. <i>finnmarkense</i>	T1
<i>Tenacibaculum finnmarkense</i> gv. <i>ulcerans</i>	T2
<i>Tenacibaculum dicentrarchi</i>	T3
<i>Tenacibaculum</i> *	T4*
<i>Vibrio logei</i>	V1
<i>Vibrio splendidus</i>	V2
<i>Vibrio wodanis</i>	V3
<i>Vibrio</i> *	V5*

Tabell 13 viser egenskaper for undersøkte *Pasteurella* sp. og *Tenacibaculum* sp. Bakterieartene har ulike koloniegenskaper. Begge er gram-negative, og oksidase positive. *Pasteurella* sp. er katalase negativ mens *Tenacibaculum* sp. er svakt positiv.

Tabell 13: Egenskaper for undersøkte *Pasteurella* sp. og *Tenacibaculum* sp.: Resultater fra analyser av bakterieisolater fra *Pasteurella* sp. og *Tenacibaculum* sp.

Egenskaper	<i>Pasteurella</i> sp.	<i>Tenacibaculum</i> sp.
Koloniegenskaper	Små, runde, grålige	Runde, glatte, gul pigmentering
O129-disk	Sensitiv	
Oksidase-	Sent positiv	Positiv
Katalase-	Negativ	Svakt positiv
Gram-	Negativ	Negativ

Anlegg A

Merd 2

Tabell 14 viser skåring av velferdsindikatorer og hovedfunn for diagnostikk for fiskene i merd 2 ved uttak 3, 5 og 7.

Ingen av fiskene i merd 2 hadde skår (0) på alle velferdsindikatorerne. Alle fiskene hadde avvik på indikatoren «Finneslitasje», og de fleste hadde avvik på «Skjelltap» og «Øyeskade». De fleste skårene var på (1). I uttak 5 er det tendenser til å være høyere skårer enn i de to andre uttakene. I uttak 5 og 7 hadde alle fiskene «Øyeblakking», i uttak 3 hadde ingen fisker øyeblakking.

Tabell 14: Hovedfunn fra diagnostikk og skåring av individbaserte velferdsindikatorer av prøvetatt fisk i merd 2, anlegg

A: Tabellen viser resultater for skåring av Laksvels velferdsindikatorer (1-3), innvendig patologi, resultater fra histopatologiske undersøkelser, resultater fra dyrking (N= nyre, P = pseudobrank, S = kroppssår, SS= snutesår, SH= halesår, SØ= Sår øyet) (P2 = *Pasteurella* sp., T1, T2, T3, T4 = *Tenacibaculum* sp., V3 = *Vibrio* wadonis), resultater fra qPCR for *Pasteurella* sp. ((+) = positiv, (-) = negativ) og diagnose.

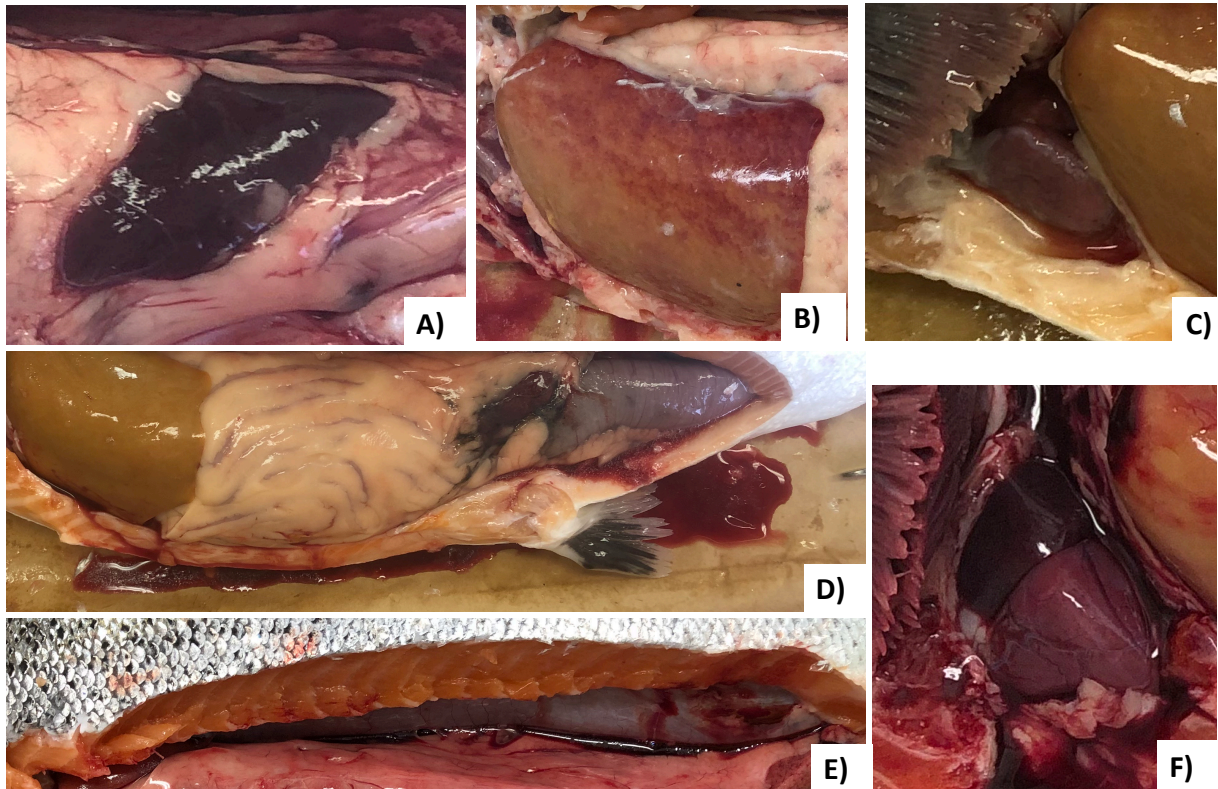
Fisk (Uttak)	Skåring av velferdsindikatorer (1-3)		Innvendig patologi	Hovedfunn histopatologi	Dyrking	qPCR <i>Pasteurella</i> sp.	Diagnose
1(3)	Finneslitasje (1) Kroppssår (1) Skjelltap (1)	Snuteskade (1) Øyeskade (1)	•For i tarm • mørk baktarm •Hjertetamponade	Funn forenelig med CMS (2)	N = r.4 P = r.4 (V5*, V2)	(-)	Mistanke CMS
2(3)	Finneslitasje (2) Skjelltap (1)	Hudblødning (1) Øyeskade (1)	•For i tarm •Utvidet atrium •Splenomegali	Funn forenelig med CMS (3)	N = s.4	(-)	Mistanke CMS
3(3)	Finneslitasje (2) Skjelltap (1)	Øyeskade (1)	•For i tarm •Mørk baktarm •Hjertetamponade •Utvidet atrium •Væske i svømmeblære	(-)	N = s.4 P = r.4	(-)	(-)
4(3)	Finneslitasje (2) Skjelltap (1)	Øyeskade (1)	• For i tarm •Splenomegali • Væske i svømmeblære • nedbrutt nyrevegg •nedbrutt fettvev	Funn forenelig med CMS (2)	N = r.3 (A1)	(+)	Mistanke pasteurellose Mistanke CMS
6(5)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (1) Skjelltap (2)	Øyeskade (1) Øyeblikking (3)	•Nedbrutt fettvev •Skjoldet lever •Melaninflekker •Puss i pseudobrank	Synlige bakterier i hjertet	N = r.4 (P2) P = r.4 (P2, V5*)	(+)	Pasteurellose
7(5)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (1) Kroppssår (2)	Skjelltap (1) Øyeskade (1) Øyeblikking (3)	•Skjoldet lever •Blødning hjerne •Rosa svømmeblære	Synlige bakterier i hjertet	N = m.4 (V3) S = r.2 (V2, T3)	(+)	Mistanke pasteurellose Tenacibaculose
8(5)	Finneslitasje (1) Gjellelokk (2) Avmagring (3)	Snuteskade (1) Øyeskade (1) Øyeblikking (2)	•Væske i svømmeblære •Lite fettvev •Ascites •Blødning hjerne	(-)	N = r.4 (V2)	(-)	(-)
1(7)	Finneslitasje (2) Øyeskade (1)	Øyeblikking (1)	• Utvidet atrium •Splenomegali •Væske svømmeblære •Skjoldet lever	Funn forenelig med CMS (2)	N = s.4	(+)	Mistanke pasteurellose Mistanke CMS
2(7)	Finneslitasje (3) Kroppssår (1) Snuteskade (1)	Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	•Hjertetamponade •Væske i svømmeblære •Skjoldet lever •Melaninflekker	Funn forenelig med CMS (2), synlige bakterier i hjertet	N = r.3 (P2, V3) S = r.4 (T3)	(+)	Pasteurellose Tenacibaculose Mistanke CMS
3(7)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (1) Skjelltap (1) Hudblødning (1)	Snuteskade (1) Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	•Hjertetamponade •Utvidet atrium •Splenomegali •Væske i svømmeblære •Skjoldet lever	Funn forenelig med CMS (5)	N = s.3	(+)	Mistanke pasteurellose Mistanke CMS
4(7)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (2) Gjellelokk (1)	Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	•For i tarm •Mørk baktarm •Hjertetamponade •Splenomegali •Væske i svømmeblære	Funn forenelig med CMS (1)	N = r.3 (V3)	(+)	Mistanke Pasteurellose Mistanke CMS
5(7)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (2) Gjellelokk (1) Skjelltap (1)	Snuteskade (1) Kjevedeformitet (1) Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	•Splenomegali •Puss i pseudobrank	Funn forenelig med CMS (1), synlige bakterier i hjertet	N = r.3 (P2) SS = r.4 (T4*)	(+)	Pasteurellose Tenacibaculose Mistanke CMS

Fiskene i uttak 3 var fine utvendig uten åpenbare tegn på sykdom (Figur 13A).



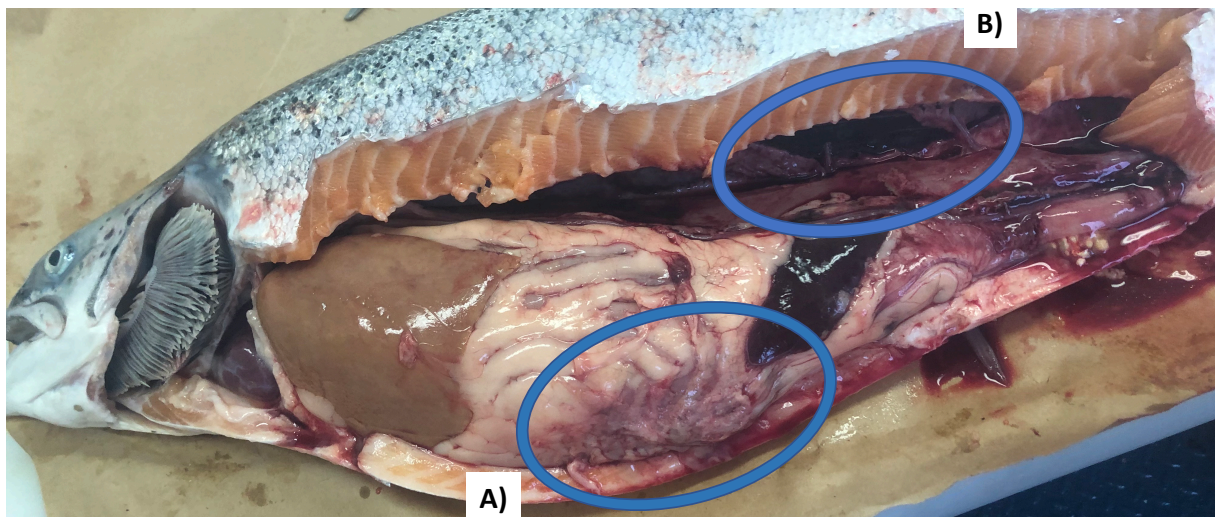
Figur 13: Eksempel på fin fisk: A) Uten synlige ytre sykdomstegn, B) Uten synlige indre sykdomstegn.

Fisk 2 og 3 hadde rosa gjeller, fisk 1 hadde veldig bleke gjeller og fisk 4 hadde hvite gjeller ved obduksjon. Innvendig var fisk 1-3 veldig like og hadde tegn til sirkulasjonssvikt. Tegnene inkluderte hjertetamponade, utvidet atrium og splenomegali (Figur 14).



Figur 14: Eksempler på tegn på sirkulasjonssvikt: A) Splenomegali, B) Skjoldet lever, C) Hjertetamponade, D) Ascites, E) Væske i svømmeblære, F) Utvidet atrium.

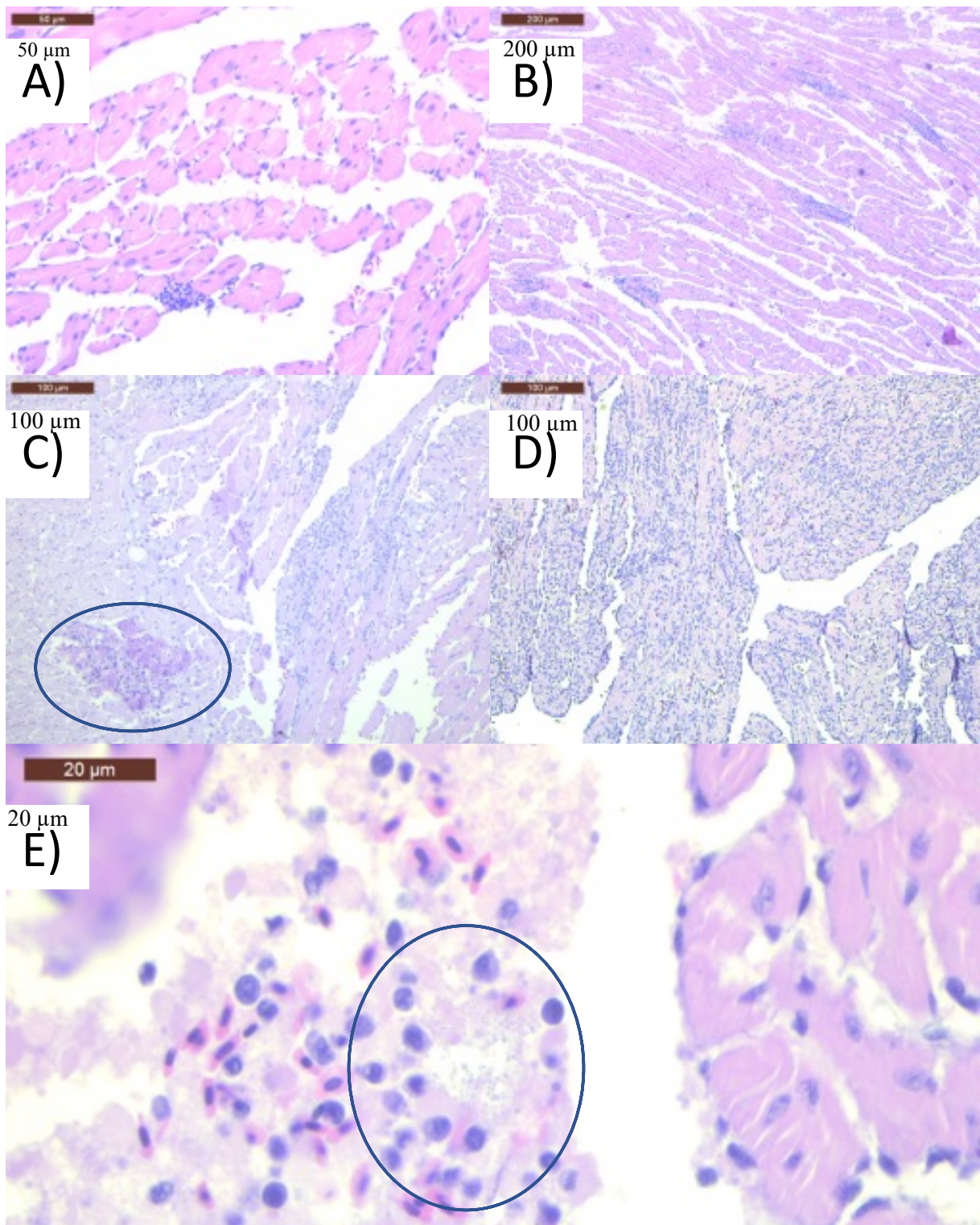
Fisk 4 hadde også tegn til sirkulasjonssvikt, men den skilte seg fra de andre fiskene innvendig ved at den hadde tegn til nedbryting i fettvev og nyrevegg (Figur 15).



Figur 15: Fisk 4 (Uttak 3, merd 2): A) Nedbrutt fettvev, B) Nedbrutt nyrevegg

I histopatologiske undersøkelser i fisk 1, 2 og 4 var det multifokale infiltrasjoner av betennelsesceller i endokard i spongiosum og i atrium (Figur 16A). Det var ingen

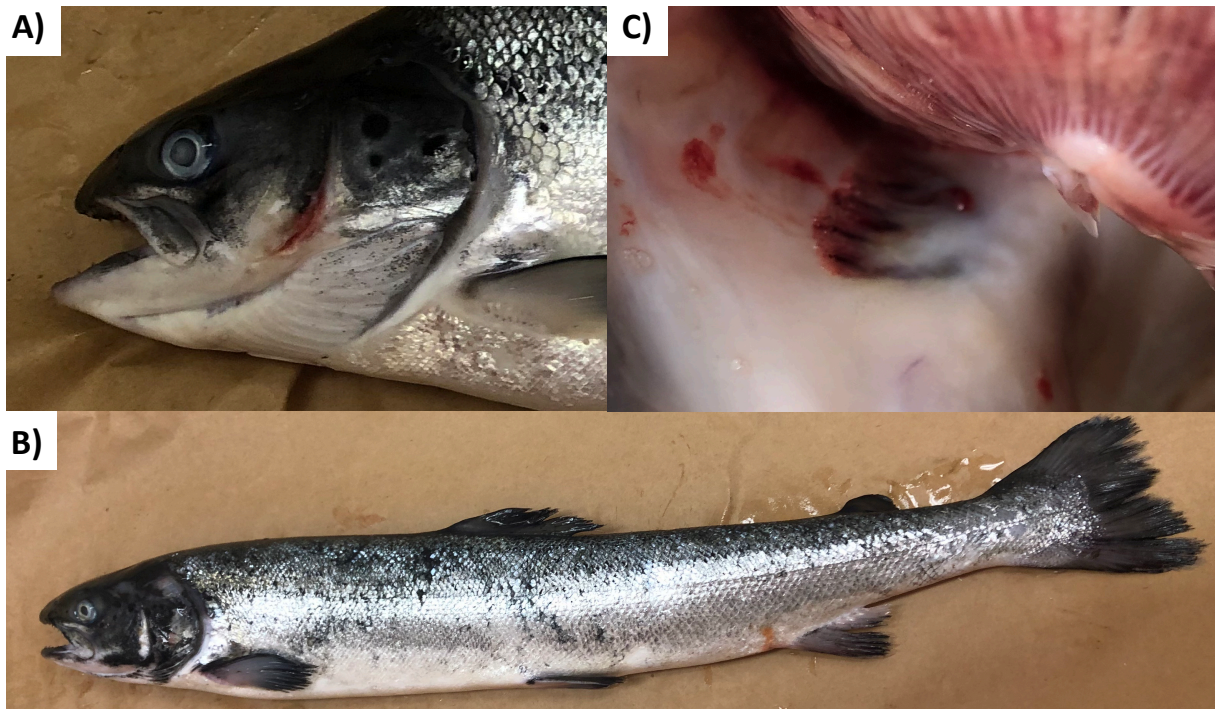
histopatologiske funn i muskel og pankreasvev. Funnene var forenelig med CMS. I fisk 2 var det en fokal degenerasjon i kompaktum med innslag av bindevevceller og betennelsesceller som ga assosiasjon til arrvev. Det var ikke funn i fisk 3. Ved dyrking fra nyre hadde fisk 2-3 sparsom vekst, mens 1 og 4 hadde rikelig vekst. Kulturer fra fisk 1 og 4 ble testet i MALDI-TOF og det ble funnet typiske miljøbakterier. I qPCR testet fisk 4 positivt på *Pasteurella* sp. For fisk 1, 2 og 4 var det mistanke om CMS, mens pasteurellose var mistenkt for fisk 4.



Figur 16: Histopatologiske funn i hjertet: *Funn forenelig med: A) CMS skår 1, B) CMS skår 2, C) CMS skår 3 (Sirkel = Fokal degenerasjon i kompaktum med innslag av betennelsesceller i Fisk 2, uttak 3, merd 2), D) CMS skår 4, E) Synlige bakterier i spongiosum.*

I uttak 5 var de prøvetatte fiskene en del mindre enn gjennomsnittsfisken i merden. Fisk 6 og 7 hadde hvite gjeller ved obduksjon. Fisk 6 og 7 hadde ingen åpenbare utvendige tegn på sykdom (Figur 13A). Fisk 7 hadde et sår på gjellelokket (Figur 17A). Fisk 8 skilte seg fra de

andre fiskene da den var veldig avmagret (Figur 17B). Innvendig hadde fisk 6 og 7 skjoldet lever. Fisk 6 var hadde puss i pseudobrank og nedbrutt fettvev (Figur 17C).



Figur 17: Bilder: A) Sår på gjellelokket (fisk 7, Uttak 5, merd 2,) B) Avmagret fisk (fisk 8, uttak 5, merd 2), C) Puss i pseudobrank (Fisk 6, uttak 7, merd 3).

Innvendig hadde fisk 8 lite fettvev, væske i svømmeblære og ascites. I histopatologiske undersøkelser var det synlige bakterier i hjertet til fisk 6 og 7 (Figur 16B), det var ingen funn hos fisk 8. Ved dyrking fra nyre hadde fiskene rikelig og moderat vekst i blandingskultur. I MALDI-TOF testet fisk 6 positivt for *Pasteurella* sp. fra nyre og pseudobrank. Fisk 7 testet positivt for *Tenacibaculum dicentrarchi* og *Vibrio wodanis* fra sår. I qPCR testet fisk 6 og 7 positivt for *Pasteurella* sp. Fisk 8 testet negativt. Fisk 6 hadde diagnosen pasteurellose, fisk 7 hadde diagnosen tenacibaculose og det var mistanke om pasteurellose.

Fiskene i uttak 7 var fine utvendig uten noen åpenbare utvendige tegn til sykdom (Figur 13A). Innvendig var fisk 1-4 veldig like og viste tegn til sirkulasjonssvikt. Tegnene inkluderte utvidet atrium, hjertetamponade, væske i svømmeblære, splenomegali og skjoldet lever (Figur 14). Fisk 5 skilte seg fra de andre fiskene da den hadde mindre tegn til sirkulasjonssvikt og den hadde puss i pseudobrank (Figur 17C). I histopatologiske undersøkelser hadde alle fiskene tegn til CMS. Funnene inkluderte multifokale infiltrasjoner av betennelsesceller i endokard i spongiosum og i atrium. I fisk 2 og 5 var det synlige bakterier i hjertet. Ved dyrking fra nyre

hadde fisk 1 og 3 sparsom vekst. Fisk 2 og 5 hadde rikelig vekst i blandingsflora dominert av *Pasteurella* sp. og fisk 4 rikelig vekst i blandingsflora dominert av *Vibrio wodanis*. Fisk 2 hadde sår med *Tenacibaculum dicentrarchi* og fisk 5 snuteskade med *Tenacibaculum* sp. I qPCR testet alle fiskene positivt for *Pasteurella* sp. Alle fiskene hadde mistanke om CMS. Hos fisk 1, 3 og 4 var det mistanke om pasteurellose mens fisk 2 og 5 hadde pasteurellose og tenacibaculose.

Merd 3

Tabell 15 viser hovedfunn for skåring av velferdsindikatorer og diagnostikk for fiskene i merd 3 ved uttak 3, 5 og 7.

Ingen av fiskene i merd 3 hadde skår (0) på alle velferdsindikatorerne. Alle fiskene hadde avvik på indikatoren «Finneslitasje», og flere fisker hadde avvik på «Skjelltap», «Snuteskade», «Øyeblikking» og Øyeskade». I uttak 3 hadde de fleste skår (1) på de registrerte avvikene, mens det i uttak 5 og 7 var flere fisk med avvik som tilsvarte skår (2) og (3).

Tabell 15: Hovedfunn fra diagnostikk og skåring av individbaserte velferdsindikatorer av prøvetatt fisk i merd 3, anlegg

A: Tabellen viser resultater for skåring av Laksvels velferdsindikatorer (1-3), innvendig patologi, resultater fra histopatologiske undersøkelser, resultater fra dyrking (N= nyre, P = pseudobranch, S = kroppssår, SS= snutesår, SH= halesår, SØ= Sår øyet) (P2 = *Pasteurella* sp., T1, T2, T3, T4 = *Tenacibaculum* sp., V3 = *Vibrio wodanis*), resultater fra qPCR for *Pasteurella* sp. ((+) = positiv, (-) = negativ) og diagnose.

Fisk (Uttak)	Skåring av velferdsindikatorer (1-3)		Innvendig patologi	Hovedfunn histopatologi	Dyrking	qPCR <i>Pasteurella</i> sp.	Diagnose
5(3)	Finneslitasje (3) Skjelltap (1) Snuteskade (1)	Kjevedeformitet (1) Øyeskade (1)	•Væske i svømmeblære •Blødning fettvev •Fibrinlag lever •Skjoldet lever •Feilplassert lever •Byller i muskulatur	Funn forenelig med CMS (1)	N = r.2 (P2, V5*) P = r.4 (P2, T2) SS = r.4 (P2, T1)	(+)	Pasteurellose Tenacibaculose Mistanke CMS
6(3)	Finneslitasje (1) Skjelltap (1)	Hudblødning (1) Øyeskade (1)	•For i tarm •Utvidet atrium •Væske i svømmeblære •Nedbrutt muskel	(-)	N = s.4	(+)	Mistanke pasteurellose
7(3)	Finneslitasje (1) Skjelltap (1) Hudblødning (1)	Snuteskade (1) Øyeskade (1)	•For i tarm •Væske i svømmeblære •Gul lever •Ascites •Melaninflekker	Funn forenelig med CMS (1)	N = i.v	(+)	Mistanke pasteurellose Mistanke CMS
8(3)	Finneslitasje (2) Hudblødning (1)	Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	•Utvidet atrium •Væske svømmeblære •Melaninflekker •Blødning hjerne	(-)	N = m.4 (P2, S1*) P = r.4 (V2)	(+)	Pasteurellose
9(3)	Finneslitasje (2)	Skjelltap (1)	•Hjertetamponade •Skjoldet lever •Rosa svømmeblære	(-)	N = m.3 (P2, C1*) P = r.4 (P2, V3, V2)	(+)	Pasteurellose
1(5)	Finneslitasje (2) Kroppssår (1) Skjelltap (1)	Hudblødning (1) Snuteskade (1) Øyeskade (1)	•Utvidet atrium •For i tarm •Blødning hjerne	(-)	N = s.4 (V1)	(-)	(-)
2(5)	Finneslitasje (2) Kroppssår (3) Avmagring (2) Skjelltap (3)	Snuteskade (2) Øyeskade (1) Øyeblikking (3)	•Splenomegali •Lite fettvev •Ascites •Melaninflekker	(-)	N = m.3 (T2) S = r.4 (V5*) SS = r.3 (T4*)	(-)	Tenacibaculose
3(5)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (1) Skjelltap (2)	Snuteskade (1) Øyeblikking (2)	•Spleneomegali •Skjoldet lever •Rosa svømmeblære	Synlige bakterier i hjertet	N = r.4 (P2, T4*) P = r.4 (P2) SS = r.4 (P2, T2)	N/A	Tenacibaculose Mistanke Pasteurellose
4(5)	Finneslitasje (1) Skjelltap (2)	Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	•Hjertetamponade •Væske svømmeblære •Skjoldet lever •Ascites •Melaninflekker	Funn forenelig med CMS (2)	N = r.3 (P2)	(+)	Pasteurellose Mistanke CMS
5(5)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (1) Skjelltap (2) Gjellelokk (1)	Hudblødning (1) Øyeskade (3) Øyeblikking (2)	•Utvidet atrium •Skjoldet lever •Grøtete hjerne	(-)	N = r.2 (P2, V5*) S = r.4 (P2, T4*)	(+)	Pasteurellose Tenacibaculose
6(7)	Finneslitasje (3) Gjellelokk (3) Kroppssår (3) Skjelltap (1)	Hudblødning (1) Snuteskade (3) Øyeskade (3) Øyeblikking (3)	•Hjertetamponade •Væske i svømmeblære •Blødning fettvev •Skjoldet lever •Melaninflekker •Byll i muskulatur •Sammenvoksinger	(-)	N = r.2 (V3, P2) S = r.4 (V3) P = r.4	(+)	Pasteurellose
7(7)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (2) Gjellelokk (2) Kroppssår (1)	Avmagring (1) Skjelltap (2) Snuteskade (1) Øyeblikking (1)	•Spleneomegali •melaninflekker •Byll i muskulatur	(-)	N = r.3 (V3, P2) S = r.4 (V3)	N/A	Pasteurellose
8(7)	Finneslitasje (1) Gjellelokk (1) Snuteskade (2)	Øyeskade (3) Øyeblikking (1)	•Mørk baktarm •Spleneomegali •Skjoldet lever	Synlige bakterier i hjertet	N = r.3 (V2, P2) SØ = r.4	(+)	Pasteurellose
9(7)	Kjønnsmoden (1) Finneslitasje (1) Kroppssår (1)	Avmagring (1) Øyeskade (3) Øyeblikking (1)	•Mørk baktarm •Hjertetamponade •Spleneomegali	(-)	N = s.1 (P2) SØ = r.4 (V3)	(+)	Pasteurellose
10(7)	Finneslitasje (2) Kroppssår (1)	Øyeblikking (1)	•Mørk baktarm •Væske svømmeblære •Skjoldet lever •Sammenvoksinger	(-)	N = r.1 (P2, V1) SH = r.4 (V3)	(+)	Pasteurellose

Fiskene i uttak 3 var fine utvendig uten åpenbare tegn på sykdom (Figur 13A). Innvendig viste alle fiskene tegn til sirkulasjonssvikt. Funnene inkluderte utvidet atrium, hjertetamponade, væske i svømmeblære, skjoldet lever og ascites (Figur 14). Fisk 5 skilte seg fra de andre fiskene da den hadde synlige byller i muskulatur og feilplassert lever (Figur 18).



Figur 18: Fisk 5 (Uttak 3, merd 3): A) Feilplassert lever, B) Byller i muskulatur.

I histopatologiske undersøkelser hadde fisk 5 og 7 funn forenelige med CMS, funnene inkluderte multifokale infiltrasjoner av betennelsesceller i endokard i spongiosum og i atrium. Ved dyrking fra nyre hadde fisk 6 sparsom vekst og fisk 7 ingen vekst. Fisk 8 og 9 hadde moderat vekst av *Pasteurella* sp. og fisk 5 hadde rikelig vekst av *Pasteurella* sp. Fra pseurodranch til fisk 5 ble det dyrket *Tenacibaculum finnmarkense* gv. *ulcerans* og fra et snutesår ble det dyrket *Tenacibaculum finnmarkense* gv. *finnmarkense*. I qPCR testet alle fiskene positivt for *Pasteurella* sp. For fisk 6 og 7 var det mistanke om pasteurellose, mens fisk 5, 8 og 9 hadde pasteurellose. For fisk 5 og 7 var det mistanke om CMS.

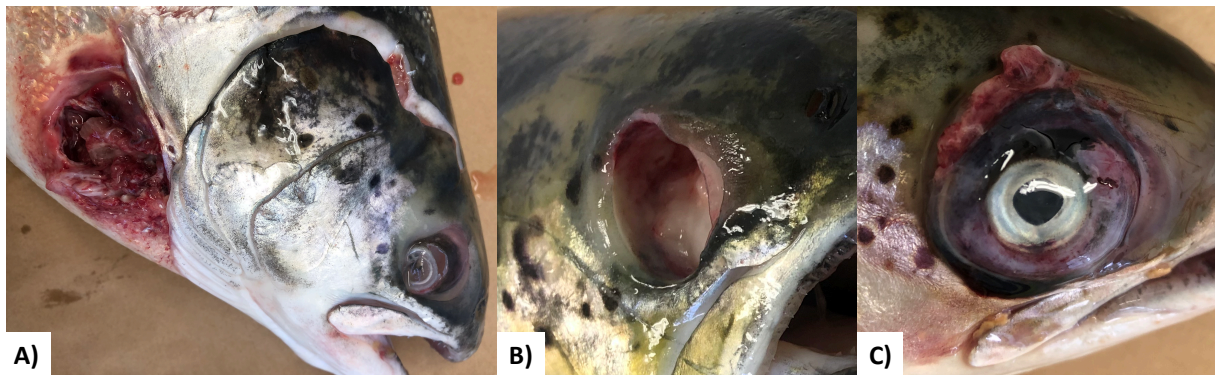
Alle fiskene i uttak 5 hadde større områder med skjelltap langs sidene. Hos fisk 2 hadde skjelltapet utviklet seg til store kroppssår på bakre halvdel av kroppen (Figur 19A). Slike skader er forenelig med trenging av fisk (MarinHelse AS, 2018). Fisk 5 skilte seg fra de andre fiskene da den hadde eksoftalmi med blødning (Figur 19B).



Figur 19: Bilder: A) Skjelltap som har utviklet seg til hudsår over hele siden (Fisk 2, Uttak 5, merd 3), B) Eksoftalmi og øyblødning (Fisk 5, uttak 5, merd 3).

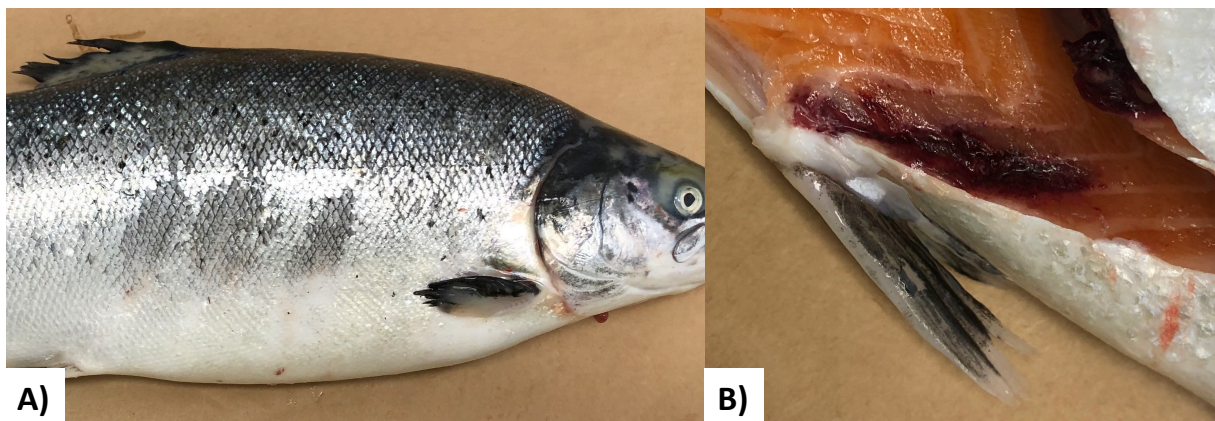
Innvendig viste alle fiskene tegn til sirkulasjonssvikt. Tegnene inkluderte utvidet atrium, splenomelagi, ascites, skjoldet lever, hjertetamponade og væske i svømmeblære (Figur 14). I histopatologiske undersøkelser var det funn forenelig med CMS i fisk 4. Funnene inkluderte multifokale infiltrasjoner av betennelsesceller i endokard i spongiosum og i atrium. Hos fisk 3 var det synlige bakterier i hjertet. Ved dyrking var det sparsom vekst fra fisk 1. I fisk 2 var det moderat vekst og funn av *Tenacibaculum finnmarkense* gv. *finnmarkense* i nyre, og rikelig vekst og funn av *Tenacibaculum* sp. fra en snuteskade. Fisk 3 hadde funn av *Pasteurella* sp. i nyre, pseudobrank og snutesår. Fisk 3 hadde også funn av *Tenacibaculum finnmarkense* gv. *finnmarkense* i nyre og *Tenacibaculum finnmarkense* gv. *ulcerans* i snutesår. Fisk 4 hadde rikelig vekst med *Pasteurella* sp. fra nyre. Fisk 5 hadde rikelig vekst med *Pasteurella* sp. fra nyre og sår. Fisk 5 hadde også tilstedeværelse av *Tenacibaculum* sp. i sår. I qPCR testet fisk 4 og 5 positivt for *Pasteurella* sp., for fisk 3 manglet det prøvemateriale. For fisk 3 var det mistanke om pasteurellose, mens fisk 4 og 5 hadde pasteurellose. Fisk 2, 3 og 5 hadde tenacibaculose og for fisk 4 var det mistanke om CMS.

I uttak 7 hadde fisk 6, 8 og 9 typiske utvendige tegn på sykdommen pasteurellose. Fiskene hadde eksoftalmi og blødning på øynene (Figur 20C). Fisk 8 manglet det høyre øyet (Figur 21B) og fisk 6 manglet høyre brystfinne (Figur 20A).



Figur 20: Bilder: A) Mangel på brystfinne (Fisk 6, uttak 7, merd 3), B) Mangel på øye (Fisk 8, uttak 7, merd 3) C) Eksofalmi med øyeblikning (Fisk 9, uttak 7, merd 3).

Ellers var fiskene fine. Fisk 7 og 10 var fine uten noen synlige sykdomstegn, men fisk 7 hadde skjelltap på høyre side forenelig med fingre som har holdt den (Figur 21A). Innvendig hadde alle fiskene tegn forenelig med sirkulasjonssvikt. Funnene inkluderte hjertetamponade, væske i svømmeblære, skjoldet lever og splenomegali. I fisk 6 og 7 var det synlige byller i muskulaturen (Figur 21B).



Figur 21: Fisk 7 (Uttak 6, merd 3): A) Skjelltap forenelig med fingre som har holdt fisken B) Byll i muskulatur.

I histopatologiske undersøkelser var det synlige bakterier i hjertet til fisk 8. Ved dyrking fra nyre fikk alle fiskene vekst av *Pasteurella* sp. Fisk 6 og 7 fikk i tillegg vekst av *Vibrio wodanis* fra nyre og sår. Fisk 9 hadde vekst av *Vibrio wodanis* fra sår rundt øyet, og fisk 10 fra et halesår. Alle fiskene hadde diagnosen pasteurellose.

Anlegg B, merd 4

Tabell 16 viser hovedfunn for skåring av velferdsindikatorer og diagnostikk for fiskene i merd 4 ved uttak 4 og 6.

Ingen av fiskene i merd 4 hadde skår (0) på alle velferdsindikatorerne. Alle fiskene hadde avvik på indikatoren «Finneslitasje». I uttak 4 hadde alle fiskene har skårer (2) og (3) på indikatorene «Skjelltap» og «Øyeblikking».

Tabell 16: Hovedfunn fra diagnostikk og skåring av individbaserte velferdsindikatorer av prøvetatt fisk i merd 4, anlegg B: Tabellen viser resultater for skåring av Laksvells velferdsindikatorer (1-3), innvendig patologi, resultater fra histopatologiske undersøkelser, resultater fra dyrking (N= nyre, P = pseudobrank, S = kroppssår, SS= snutesår, SH= halesår, SØ= Sår øyet) (P2 = *Pasteurella* sp., T1, T2, T3, T4 = *Tenacibaculum* sp., V3 = *Vibrio wodanis*), resultater fra qPCR for *Pasteurella* sp. (+) = positiv, (-) = negativ) og diagnose.

Fisk (Uttak)	Skåring av velferdsindikatorer (1-3)		Innvendig patologi	Hovedfunn histopatologi	Dyrking nyre Dyrking andre organ	qPCR <i>Pasteurella</i> sp.	Diagnose
1(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3)	Øyeskade (1) Øyeblikking (2)	(-)	(-)	N = r.4	(-)	(-)
2(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3)	Øyeblikking (2)	•Postmortalt •Melaninflekker •Blødning hjerne	(-)	N = r.4	(-)	(-)
3(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3)	Øyeblikking (2)	•Postmortalt •Melaninflekker •Blødning hjerne	(-)	N = r.4 (V2, V1)	(-)	(-)
4(4)	Finneslitasje (1) Kroppssår (3)	Skjelltap (3) Øyeblikking (3)	•Postmortalt •Blødning hjerne	(-)	N = r.4 (V2, A2)	N/A	(-)
5(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3)	Øyeblikking (1)	•Postmortalt •Blødning hjerne	(-)	N = r.4 (V1)	(-)	(-)
6(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3) Snuteskade (3)	Øyeskade (3) Øyeblikking (2)	•Postmortalt •Blødning hjerne	(-)	N = r.4 (V1) S = r.4 (V5*)	(-)	(-)
7(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3)	Øyeblikking (2)	• Postmortalt •Blødning hjerne	(-)	N = r.4 (A2, S4*)	(-)	(-)
8(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3)	Øyeblikking (2)	•Postmortalt •Blødning hjerne	(-)	N = r.4 (A3*, V1)	(-)	(-)
9(4)	Finneslitasje (1) Skjelltap (3)	Øyeblikking (2)	•Postmortalt •Blødning hjerne	(-)	N = r.4	N/A	(-)
1(6)	Finneslitasje (1) Skjelltap (1) Hudblødning (1)	Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	•Melaninflekker	(-)	N = m.3 (S2)	(-)	(-)
2(6)	Finneslitasje (1) Skjelltap (2) Hudblødning (1)	Øyeskade (1) Øyeblikking (2)	(-)	(-)	N = s.1 (P3*)	(-)	(-)
3(6)	Finneslitasje (1) Kroppssår (3)	Skjelltap (3) Øyeskade (1)	(-)	(-)	N = s.4 (S3, V2)	(-)	(-)

Fiskene i uttak 4 bar preg av å ha ligget lenge i dødfisksystemet før de ble tatt prøver av. Alle fiskene hadde høy skår på skjelltap og øyeblikking. Det var også synlige blødninger rundt hjernen på fiskene (Figur 22). Fisk 6 skilte seg ut ved at den manglet et øye og hadde et sår oppe på hodeskallen (Figur 22C). Ellers var fiskene like uten noen spesielle ytre tegn. De indre organene til fiskene var postmortale (Figur 23E), det var derfor vanskelig å ta prøver til histopatologi og PCR undersøkelser.



Figur 22: Bilder: A) Skjelltap, B) Hjerneblødning, C) Mangel på øye, (Fisk 6, uttak 4, merd 4), D) Øyeblikking, E) Postmortale organ.

I histopatologiske undersøkelser var alle de undersøkte organene postmortale. Det var derfor vanskelig å bedømme om mulig histopatologi. Ved dyrking fra nyre var det det rikelig med vekst i blandingskultur. Det var ingen dominerende kulturer. Flere kulturer ble testet i MALDI-TOF, men det ble ikke funnet noen patogene bakterier. De bakteriene som ble identifisert var typiske miljøbakterier. MALDI-TOF identifiserte også *Shewanella* sp. I qPCR testet ingen av fiskene positivt for *Pasteurella* sp. Ingen av fiskene hadde mistenkte diagnoser.

I uttak 6 ble fisk 1 og 2 hentet ut fra merden og avlivet ved hjelp av Finquel vet. (MSD Animal Health). Fiskene hadde vært del av et forsøk. Fiskene var 1 time i et kar uten oksygentilgang for å teste et kamera. Begge fiskene bar preg av forsøket og man kunne se antydninger til

huddblødning og øyeskade. Fiskene hadde en del skjelltap, som kan skyldes at fiskene lå lenge i en balje og tørket ut før de ble obdusert. Ellers var fiskene fine utvendig. Fisk 1 hadde melaninflekker ellers var fiskene fine innvendig. Fisk 3 var en dødfisk som var pumpet opp gjennom dødfisksystemet. Fisken hadde et sår som gikk langsgående rett bak gjellelokket (Figur 23), slike skader er forenelig med et skarvangrep (MarinHelse AS, 2018). Fisken var fin innvendig.



Figur 23: Fisk 3 (Uttak 6, merd 4): Kutt bak gjellelokket forenelig med skarvangrep.

I histopatologiske undersøkelser av alle fiskene i uttaket var det ingen spesielle anmerkninger på de undersøkte organene. Ved dyrkning var det litt uspesifikk vekst. Ingen av fiskene testet positivt for *Pasteurella* sp. i qPCR. Ingen av fiskene hadde noen mistenkte diagnoser.

Anlegg C, merd 1

På anlegg C i uttak 2 på ble det tatt blodprøver av fiskene. Tabell 17 viser resultatene fra hematokritest gjennomført fra blodprøvene. Erytrocytt volumfraksjonen (EVF) varierte mellom 28,0-46,0 %

Tabell 17: Erytrocytt volumfraksjon (EVF) i prosent: Tabellen viser EVF hos fiskene i uttak 2

Fisk (Uttak)	EVF
1 (2)	46,0
2 (2)	36,0
3 (2)	37,0
4 (2)	28,0
5 (2)	32,5
6 (2)	39,0

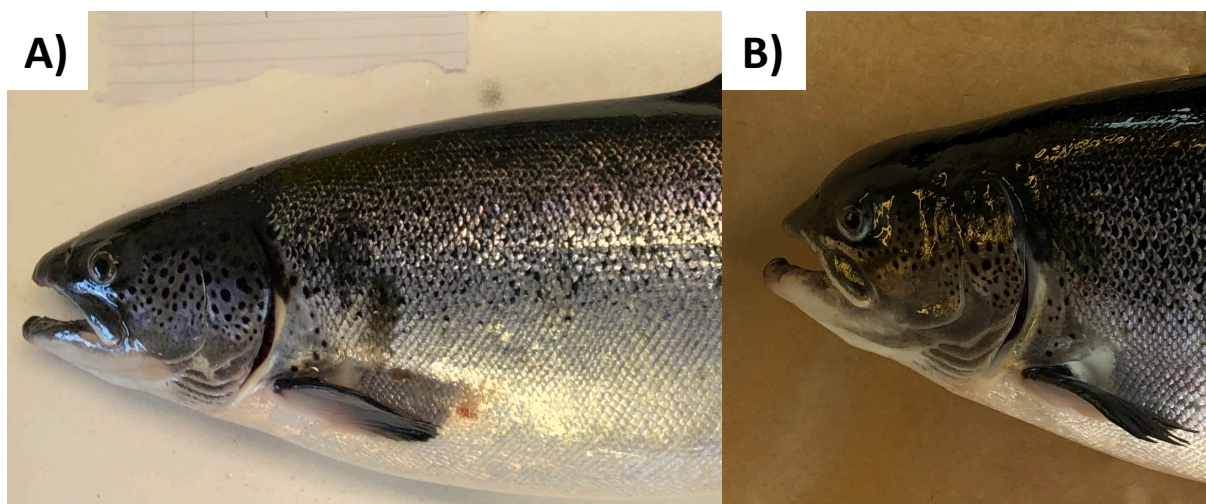
Tabell 18 viser hovedfunn for skåring av velferdsindikatorer og diagnostikk for fiskene i merd 1 ved uttak 1 og 2.

Ingen av fiskene i merd 1 hadde skår (0) på alle velferdsindikatorerne. Alle fiskene hadde avvik på indikatoren «Finneslitasje». Flere av fiskene hadde skår (3) på kjønnsmodning, indikatorene «Skjelltap», «Øyeblikking» og «Øyeskade» var avvik hos flere av fiskene.

Tabell 18: Hovedfunn fra diagnostikk og skåring av individbaserte velferdsindikatorer av prøvetatt fisk i merd 1, anlegg C: Tabellen viser resultater for skåring av Laksvells velferdsindikatorer (1-3), innvendig patologi, resultater fra histopatologiske undersøkelser, resultater fra dyrking (N= nyre, P = pseudobrank, S = kroppssår, SS= snutesår, SH= halesår, SØ= Sår øyet) (P2 = *Pasteurella* sp., T1, T2, T3, T4 = *Tenacibaculum* sp., V3 = *Vibrio wodanis*), resultater fra qPCR for *Pasteurella* sp. ((+) = positiv, (-) = negativ) og diagnose.

Fisk (uttak)	Skåring av velferdsindikatorer (1-3)		Innvendig patologi	Hovedfunn histopatologi	Dyrking	qPCR <i>Pasteurella</i> sp.	Diagnose
1 (1)	Finneslitasje (2) Kroppssår (1) Skjelltap (1)	Hudblødning (1) Snuteskade (1) Øyeskade (1)	(-)	(-)	N = s.1	(-)	(-)
2 (1)	Kjønnsmoden (3) Finneslitasje (1) Snuteskade (1)	Øyeskade (2) Øyeblikking (2)	(-)	(-)	N = i.v P = m.4 (P1*, FI)	(-)	(-)
3 (1)	Finneslitasje (2) Avmagring (3)	Øyeskade (1)	(-)	(-)	N = s.1	(-)	(-)
1 (2)	Kjønnsmoden (3) Finneslitasje (1)	Snuteskade (1) Øyeskade (1)	(-)	(-)	N = i.v	(-)	(-)
2 (2)	Finneslitasje (1)	Hudblødning (1)	(-)	(-)	N = s.1	(-)	(-)
3 (2)	Kjønnsmoden (2) Finneslitasje (1) Skjelltap (1) Hudblødning (1)	Kjevedeformitet (2) Øyeskade (1) Øyeblikking (1)	(-)	(-)	N = i.v	(-)	(-)
4 (2)	Finneslitasje (1) Skjelltap (1)	Hudblødning (1) Snuteskade (1)	(-)	(-)	N = i.v	(-)	(-)
5 (2)	Finneslitasje (1) Avmagring (2)	Hudblødning (2) Øyeblikking (3)	(-)	(-)	N = s.1	(-)	(-)
6 (2)	Kjønnsmoden (3) Finneslitasje (1)	Snuteskade (1) Øyeblikking (1)	(-)	(-)	N = s.1	(-)	(-)

Fiskene i uttak 1 og 2 var levende fisk som ble avlivet. Fiskene var fine utvendig. I uttak 1 hadde fisk 1 hadde et lite sår bak venstre brystfinne, og to områder med skjelltap som var forenelig med to fingre som holdt rundt fisken (Figur 24A). I uttak 2 hadde fisk 3 en kjevedeformitet (Figur 24B).



Figur 24: Bilder: A) Fisk 1 (Uttak 1, merd 1: Skjelltap forenelig med to fingre og et lite sår, B) Fisk 3 (Uttak 2, merd 1): Kjevedeformitet.

Ingen av fiskene hadde noen innvendige funn. I histopatologiske undersøkelser var det ingen spesifikke funn forenelig med sykdom. I noen av de undersøkte hjertene var det tilstedeværelse av tromber i atrium og små fokale infiltrasjoner av betennelsesceller i spongiosum. I muskel og pankreas var det ingen funn. Ved dyrking var det ingen eller lite vekst. I de tilfellene med vekst var det uspesifikk vekst med 1-2 kolonier. Fra dyrking av pseudobrank ble det funnet miljøbakterier. Ingen av fiskene som ble prøvetatt i anlegg C testet positivt for *Pasteurella* sp. i qPCR. Ingen av fiskene hadde noen mistenkte diagnoser.

3. 1. 3. Kategorisering av dødsårsaker

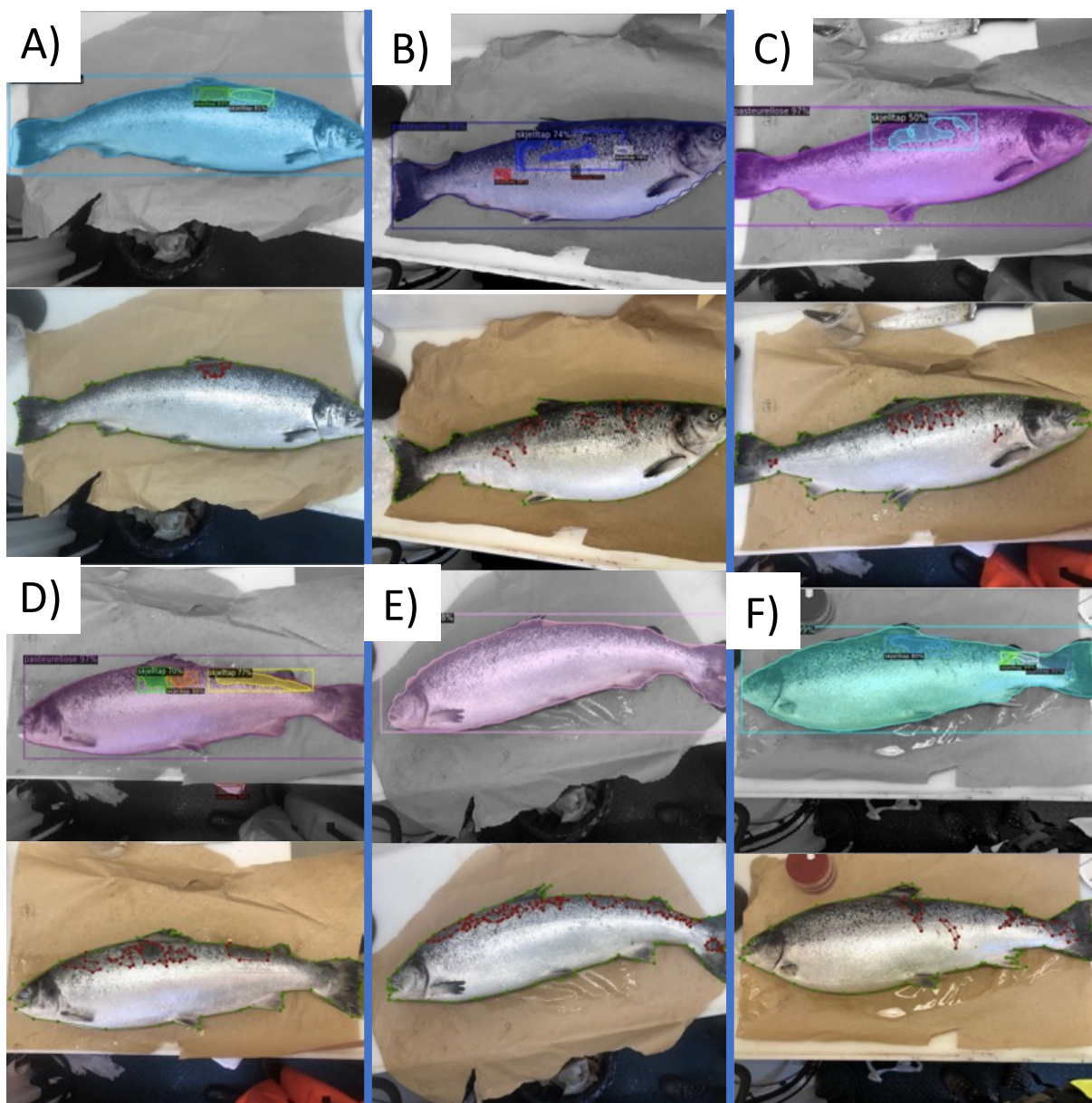
Etter vurderinger fra informasjon fra felt og diagnostikk ble alle de prøvetatte fiskene kategorisert i dødsårsakene som vises i Tabell 19. Fra anlegg A merd 2, ble fiskene kategorisert i kategoriene: «Hjertesprekk», «Ukjent dødsårsak», «Pasteurellose» og «Taperfisk uten kjent årsak». Fra anlegg A merd 3, ble fiskene kategorisert i kategoriene: «Hjertesprekk», «Pasteurellose» og «Ikke medikamentell behandling». Fra merd 2 var «Hjertesprekk» den hyppigste årsaken, fra merd 3 var «Pasteurellose» den hyppigste årsaken. Fra anlegg B merd 4 ble fiskene kategorisert som «Transportsdød eller skade på båt», «Prøveuttak uten sykdomstegn» og «Skarv». «Transportsdød eller skade på båt» var den hyppigste dødsårsaken. Fra anlegg C merd 1 ble alle fiskene kategorisert som «Prøveuttak av fisk uten sykdomstegn».

Tabell 19: Kategorisering av dødsårsaker: Antall fisk kategorisert i dødfisk kategorier, med kategorikode og taps- eller dødsårsak.

Uttak	Anlegg	Merd	Antall fisk	Kategori	Kategorikode	Taps- eller dødsårsak
3	A	2	3/4	Infeksjonssjukdommer	A 01.170	Hjertesprekk (CMS)
3	A	2	1/4	Ukjent årsak	F00.100	Ukjent dødsårsak
5	A	2	2/3	Infeksjonssjukdommer	A 02.260	Pasteurellose
5	A	2	1/3	Fysiologiske årsaker	D 03.140	Taperfisk uten kjent årsak
7	A	2	4/5	Infeksjonssjukdommer	A 01.170	Hjertesprekk (CMS)
7	A	2	1/5	Infeksjonssjukdommer	A 02.260	Pasteurellose
3	A	3	4/5	Infeksjonssjukdommer	A 02.260	Pasteurellose
3	A	3	1/5	Infeksjonssjukdommer	A 01.170	Hjertesprekk (CMS)
5	A	3	2/5	Skader (traume)	C 03.100	Ikke-medikamentell behandling uspesifisert
5	A	3	2/5	Infeksjonssjukdommer	A 02.260	Pasteurellose
5	A	3	1/5	Infeksjonssjukdommer	A 01.170	Hjertesprekk (CMS)
7	A	3	5/5	Infeksjonssjukdommer	A 02.260	Pasteurellose
4	B	4	9/9	Skader (traume)	C 02.140	Transportdød eller skade på båt
6	B	4	2/3	Andre årsaker	E 04.000	Prøveuttak av fisk uten sykdomstegn
6	B	4	1/3	Skader (traume)	C 01.130	Skarv
1	C	1	3/3	Andre årsaker	E 04.000	Prøveuttak av fisk uten sykdomstegn
2	C	1	6/6	Andre årsaker	E 04.000	Prøveuttak av fisk uten sykdomstegn

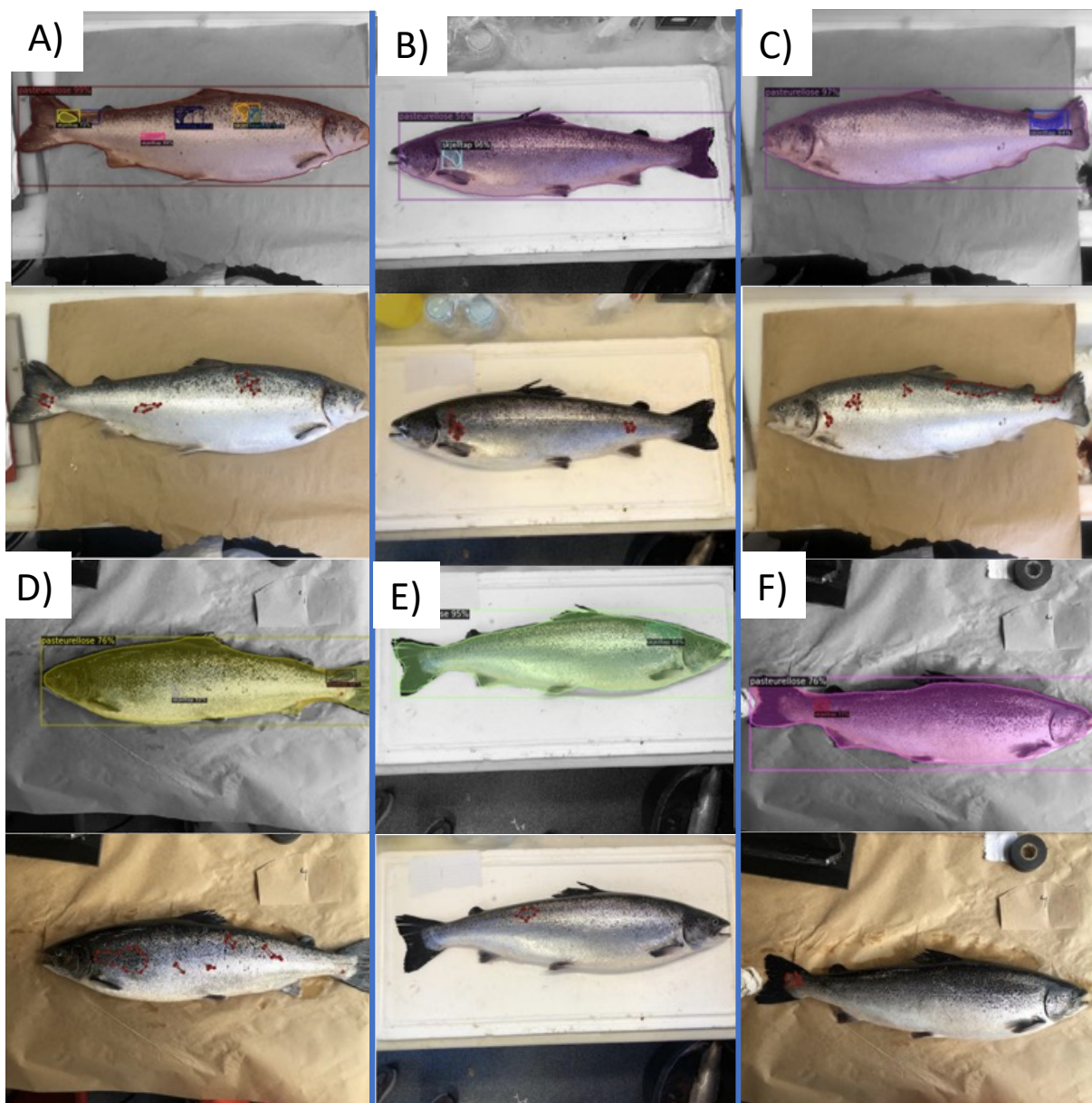
3.2. Potensialet til å bruke ML og KI til å kategorisere dødfisk

Figur 25 viser sammenligning mellom egne markeringer av «Pasteurellose» og «Skjelltap», og markeringer fra ML og KI på fisk med pasteurellose. Algoritmen gjenkjente 6/6 «Pasteurellose»-markeringer og flere «Skjelltap»-markeringer. I noen tilfeller registrerte algoritmen for mange skjelltap, i flere tilfeller registrerte algoritmen for få skjelltap



Figur 25: Testbilder av fisk med pasteurellose: Merker forutsett av ML og KI (øverst) og egne merker (Grønn merking = Pasteurellose, Rød merking = Skjelltap) (nederst)

Figur 26 viser sammenligning mellom egne markeringer av «skjelltap» og markeringer fra ML og KI på fisk uten pasteurellose. Algoritmen har registrert «Pasteurellose» på 6/6 fisker uten pasteurellose. Algoritmen har gjenkjent flere «Skjelltap»-markeringer i noen tilfeller for mange, i flere tilfeller for få.



Figur 26: Testbilder av fisk uten pasteurillose: Merker forutsett ved hjelp av KI og ML (øverst), Egne merker (Rød merking = Skjelltap) (nederst)

Tabell 20 viser antall markeringer i Detectron 2. Det er både ekte positive markeringer, og falske positive og negative markeringer av «Pasteurellose» og «Skjelltap».

Tabell 20: Antall markeringer i Detectron2: Antallet ekte positive-, falske negative- og falske positive markeringer for Pasteurellose og Skjelltap.

	Ekte positive	Falske negative	Falske positive
Pasteurellose	6	0	6
Skjelltap	22	25	9

4. Diskusjon

I denne oppgaven er det gjennomført skåring av velferdsindikatorer og karakterisering av årsak til dødelighet på dødfisk. Det har blitt tatt ut et utvalg dødfisk hvor synlige ytre velferdsindikatorer har blitt skåret på en skala fra 0-3 ved hjelp av Laksvels skåringsskjema. Funn og historikk fra felt, og diagnostikk av det samme utvalget dødfisk, har blitt benyttet til å kategorisere dødfisk i dødsårsakene som er listet i kodelisten som er utarbeidet på vegne av Aquacloud. De to karakteriseringene av dødfisk har dannet grunnlaget for bildeanalyser, som har blitt brukt til å undersøke potensialet ML og KI har til å karakterisere dødfisk, og på hvilket nivå det kan være hensiktsmessig.

4. 1. Bruk av velferdsindikatorer på dødfisk

Det er både fordeler og utfordringer med å benytte dødfisk til karakterisering av individuelle dyrebaserte velferdsindikatorer. Noen av de største fordelene er at oppdrettere slipper å bruke tid på å fange inn fisk som skal bli vurdert og skåret, og at man unngår håndtering av fisk i merden. I denne oppgaven ble velferdsindikatorer skåret på levende fisk som var fanget i kastenot fra merd. Da fisken skulle fanges i kastenot krevde det arbeid fra flere personer for å sette ut nota, fange fisken og å bedøve den. Prosessen tok lang tid da man var nødt til å vente på at fiskene skulle plassere seg inne i nota. Under håndteringen ble fisken trent sammen noe som tidligere har vist seg å skape stress og skjelltap hos fisk (Espmark *et al.*, 2015). I dette forsøket ble fisken avlivet, men om man har som hensikt å sette den vurderte fisken ut i merden igjen må man vurdere hvordan man håndterer fisken for å minimere skjelltap. I to tilfeller på to ulike anlegg ble det funnet fisk som hadde skjelltap formet som fingre. Skjelltapet har trolig oppstått i en situasjon hvor noen har håndtert fisken. I oppgaven ble velferdsindikatorer også skåret på dødfisk. Dødfisken ble transportert fra merd til flåte gjennom et sentralanlegg. Dødfisken som ble vurdert kom rett til flåten, og det krevde kun arbeid fra en person å vurdere og skåre fisken i henhold til indikatorene. Prosessen var ikke belastende for fisken og fiskegruppens velferd da den allerede var død.

Laksvels individuelle dyrebaserte velferdsindikatorer sier noe om hver enkelt fisk, men de kan også si noe om hvor utbredt et problem er på gruppenivå (Noble *et al.*, 2018). Bruk av indikatorene på dødfisk kan dermed si noe om velferdssituasjonen til dødfisken. I denne oppgaven hadde ingen av fiskene «0» i skår på alle indikatorene. Indikatorene finnestatus, skjelltap, snuteskader og øyeskader var tilstedeværende hos flere av fiskene i alle uttakene.

Disse indikatorene er typiske skader etter håndtering (Noble *et al.*, 2018). Det er vanskelig å bedømme om skadene har oppstått før eller etter at levende fisk ble håvet opp fra merd eller at dødfisk ble transportert fra merd til flåte. Det er problematisk å vurdere velferdsindikatorer på levende fisk hvis det påfører fisken unødvendige skader, det kan samtidig være lovstridig da lovtesten påpeker at fisken skal beskyttes mot unødige påkjenninger (Dyrevelferdsloven, 2009) og at driften skal være fiskevelferdsmessig forsvarlig (Akvakulturdriftforskriften, 2008). Det kan derfor være en fordel å benytte dødfisk. Benyttes dødfisk er det viktig å huske at skadene kan ha oppstått i transporten fra merd til flåte. Det er også viktig å være oppmerksom på at dødfisken ikke nødvendigvis gjenspeiler den levende fisken i merden. I merd 2 på anlegg A ved uttak 5 var snittvekten til dødfisken halvparten av størrelsen til fisken i merden. I merd 3 på anlegg A ved uttak 3 og 7 var snittvekten til dødfisken større enn fisken i merden.

Dødfisken forandrer seg etter død, for eksempel i uttak 4 der fisken hadde ligget opptil 3 dager før den ble vurdert, ser man høyere forekomst av skjelltap og øyeblikking. En del av skjelltapet har trolig forekommet etter død da fisken har ligget mot merdbunnen. Øyeblikkingen har trolig kommet etter at fisken er død, øyeblikking er vanlig blant mennesker etter død (De-Giorgio *et al.*, 2021). Man ser ikke like store forandringer mellom fisk som nylig har dødd og den avlivede fisken. For at det skal være hensiktsmessig å benytte velferdsindikatorer på dødfisk bør indikatorene tilpasses til bruk på dødfisk. For eksempel gradering av hvordan dødfisken endrer seg over tid.

Laksvels velferdsindikatorer har blitt utarbeidet for å etablere en protokoll som kan brukes til å vurdere fiskevelferd på levende fisk på en standardisert og gjennomførbar måte. Flere store aktører innen oppdrettsnæringen har implementert Fishwells håndbok i retningslinjene sine for fiskevelferd, blant annet verdens tre største oppdrettere av Atlantisk laks (Berge, 2020), Mowi (MOWI ASA, u. å.), Lerøy seafood group (Lerøy Seafood Group ASA, u. å.) og Cermaq (Cermaq, 2018). Oppdrettere er lovpålagt å telle antall dødfisk, for dem kan det være en fordel å effektivisere vurderingen av velferdskårer og integrere skåringsprosessen i den daglige dødfisktellingen.

Dødelighet er også en gruppebasert velferdsindikator, som kan si noe om kan si noe om at det er problem på gruppenivå. Det er derfor viktig å følge med på hvor stor andel av fisken som dør månedlig, ukentlig og daglig (Nilsson *et al.*, 2022). I merd 2 på anlegg A var den ukentlige dødelighetsraten på skår (2) mellom uttak 3 og 5, mens den hadde økt til skår (3) mellom uttak

5 og 7. Dødeligheten i merden økte derfor i løpet av uttaksperioden. I merd 3 på samme anlegg var den ukentlige dødelighetsraten på skår (2), både mellom uttak 3 og 5, og mellom uttak 5 og 7. Selv om dødeligheten i merd 3 hadde samme skår, gikk promillen dødelighet ned fra 4,5 % til 2,8 %. Merd 2 og merd 3 skiller seg fra hverandre ved at dødeligheten i merd 2 har gått opp og dødeligheten i merd 3 har gått ned i løpet av prøvetaksperioden. Merdene er plassert på samme lokalitet med samme miljøforhold, hvor de er utsatt for de samme sykdomsfremkallende organismene. Forskjellen i månedlig dødelighet kan skyldes at fisken har ulik alder, at den ankom anlegget på ulike tidspunkt eller at den har ulikt genetisk opphav.

4. 2. Diagnostikk av dødfisk

For å ha et bedre kunnskapsgrunnlag for å gi årsak til dødelighet hos de undersøkte fiskene ble det også utført diagnostikk av dødfisk. Å bruke dødfisk til å diagnostisere årsaker til dødelighet kan være utfordrende. Det ble bant annet erfart at det er vanskelig å arbeide sterilt med dødfisk ute i felt når man har lite plass og det er dårlig vær.

Det ble tatt blodprøver av noen av de avlivede fiskene. Blodprøver er lite brukt diagnostisk for Atlantisk laks (Braceland *et al.*, 2017). Blodprøvene ble benyttet til å lage blodutstryk som ble brukt til manuell differensialtelling av leukocytter og erytrocytter. Det var krevende å differensialtelle blodcellene, da det var veldig mange celler i et synsfelt i mikroskopet, og det var lett å miste oversikt over hvilke celler som var blitt talt. Metoden ble derfor forkastet. Det ble også utført en hematokrittest for å se volumandelen røde blodceller i blodet. Det er heller ikke lett å ta blodprøver av død fisk. Blodprøvene hadde derfor lite informasjon å tilføre oppgaven.

I felt ble det tatt histopatologiprøver for gjelle, pseudobrank, hjerte, lever, pylorus med pankreas, milt, nyre, muskel og hjerne. Fra en studie om postmortale histopatologiske endringer over tid ved ulike lagringstemperaturer ble det vist at fordøyelseskanalen var første organ som viste autolytiske endringer, etterfulgt av nyre, lever og hjerne (George *et al.*, 2016). Organ som milt, gonader og hjerte viste noe senere autolytiske endringer og hud og muskel var organ som holdt seg lengst. I denne oppgaven ble det erfart at en del av vevet var veldig autolytisk, det ble derfor bestemt at det skulle fokuseres på vurdering av histopatologiske endringer i prøver fra hjerte og muskel. For å ikke gå glipp av viktige differensialdiagnoser ble også prøver fra pankreasvev vurdert. Pankreasvevet var vanskelig å vurdere i alle fiskene da det hadde

tendenser til å være autolytisk. Pankreasvevet ble vurdert som intakt, men i noen tilfeller var det lite vev. At det var lite pankreasvev hos fiskene ved anlegg A kan henge sammen med en tidligere PD diagnose på anlegget.

Fra bakterieutstrykene i felt var det synlige forskjeller på bakterieveksten i skåler fra avlivet fisk og fra fisk som hadde vært død en stund. På agarskåler med utstryk fra dødfisk som hadde vært død en stund var det rikelig vekst av ulike miljøbakterier i blandingskultur. Det ble også funnet *Shewanella baltica* som er en H₂S-produserende bakterie som er viktig i nedbryting av marin fisk (Vogel *et al.*, 2005). Bakteriene har trolig ankommet fisken etter dødstidspunktet. Veksten av nedbrytnings- og miljøbakterier i dødfisk kan utkonkurrere veksten av viktige sykdomsfremkallende bakterier, slik at disse ikke blir oppdaget.

I oppgaven ble bakteriekulturer identifisert i MALDI-TOF. I en tidligere studie har det vist seg at MALDI-TOF ikke er i stand til å sikkert bestemme *Aeromonas* isolater på artsnivå, men at metoden er god på slektsnivå (Pérez-Sancho *et al.*, 2018). Det ble i denne oppgaven utført fasekontrast i mikroskop for å se om bakteriene var bevegelige eller ikke. Årsaken var for å kunne avkrefte at det var den meldepliktige (Dyrehelseforskriften, 2022), fiskepatogene bakterien *Aeromonas salmonicida* subs. *salmonicida* som er ikke-bevegelig (Reith *et al.*, 2008).

4. 3. Årsak til dødelighet hos de prøvetatte fiskene

I merd 2 uttak 3 ble 3/4 fisker kategorisert med «Hjertesprekk (CMS)» som dødsårsak. Dette er fordi fiskene så fine ut utvendig og hadde tegn til sirkulasjonssvikt innvendig. I alle fiskene var histopatologiske funn forenelig med CMS, og fiskene hadde høy skår på CMS skalaen. 1/4 fisk ble kategorisert med «Ukjent dødsårsak». Dette var fordi det ikke var noen åpenbare funn som kunne si noe om hvorfor fisken var død. I uttak 5 ble 2/3 fisker kategorisert med «Pasteurellose» som dødsårsak. Dette var fordi fiskene var positive for *Pasteurella* sp. i qPCR og fordi det var synlige bakterier i hjertet ved histopatologiske undersøkelser. Den ene fisken hadde i tillegg dyrket *Pasteurella* sp. fra nyra. 1/3 fisk ble kategorisert som «Taperfisk uten kjent årsak». Dette var fordi fisken var en typisk taperfisk som var avmagret og liten. Det var ingen andre åpenbare funn som kunne si noe om hvorfor fisken var død. I uttak 7 ble 4/5 fisker kategorisert med «Hjertesprekk (CMS)» som dødsårsak. Dette var fordi fiskene så fine ut utvendig og de hadde tegn til sirkulasjonssvikt innvendig. I alle fiskene var histopatologiske funn forenelig med CMS og flere av fiskene hadde høy skår på CMS skalaen. 1/5 fisk ble kategorisert med

«Pasteurellose» som dødsårsak. Dette var fordi den hadde mindre tegn til sirkulasjonssvikt, og den hadde puss i pseudobranken. Fisken hadde også synlige bakterier i hjertet ved histopatologiske undersøkelser, bakterievekstvekst av *Pasteurella* sp. fra nyre og var positiv for *Pasteurella* sp. i qPCR.

I merd 3 uttak 3 ble 4/5 av fiskene kategorisert med «Pasteurellose» som dødsårsak. To av fiskene fikk dødsårsaken fordi de var positive for *Pasteurella* sp. i qPCR og ved dyrking fra nyre. En av fiskene fikk dødsårsaken fordi den var positiv for *Pasteurella* sp. i qPCR og hadde ingen andre åpenbare funn som kunne si noe om hvorfor fisken var død. Den siste fisken fikk dødsårsaken fordi den hadde byller i muskulatur og var positiv for *Pasteurella* sp. i qPCR og ved dyrking fra nyre. 1/5 fisk ble kategorisert med «Hjertesprekk (CMS)» som dødsårsak. Dette var fordi fisken så fin ut utvendig og hadde tegn til sirkulasjonssvikt innvendig. Fisken hadde histopatologiske funn forenelig med CMS. I uttak 5 ble 2/5 av fiskene kategorisert med «Ikke-medikamentell behandling uspesifisert» som dødsårsak. Dette var fordi fiskene hadde tydelige tegn på skader forårsaket av behandling. Fisken var gjennom en lusebehandling i uken før uttaket, men det er ikke kjent hvilken type behandling fisken var gjennom. Den ene fisken hadde blødning rundt hjernen, mens den andre hadde kroppssår som gikk langs hele sida til fisken. Det var ingen andre åpenbare årsaker til at fiskene var døde. 2/5 av fiskene ble kategorisert med «Pasteurellose» som dødsårsak. Den ene fikk dødsårsaken fordi det var synlige bakterier i hjertet ved histopatologiske undersøkelser, og fordi det ble dyrket *Pasteurella* sp. fra nyra til fisken. Den andre fisken fikk dødsårsaken fordi den var positiv for *Pasteurella* sp. ved dyrking og qPCR og fordi den hadde synlige ytre tegn. 1/5 fisk ble kategorisert med «Hjertesprekk (CMS)» som dødsårsak. Dette var fordi fisken så fin ut utvendig og har tegn til sirkulasjonssvikt innvendig. Histopatologiske funn var forenelig med CMS, og fisken hadde høy skår på CMS skalaen. I uttak 7 ble 5/5 fisker kategorisert med «Pasteurellose» som dødsårsak. Dette var fordi alle fiskene var positive for *Pasteurella* sp. ved qPCR og dyrking. Hos flere av fiskene var det også synlige ytre tegn på pasteurellose, tegnene inkluderte blant annet exftalmi og skader ved brystfinne. Disse kliniske tegnene er tidligere beskrevet i et sammendrag hvor FOMAS har gått gjennom alle sine kjente pasteurellose saker (Legård og Strøm, 2020).

I merd 4 uttak 4 ble 9/9 fisker kategorisert med «Transportdød eller skade på båt» som dødsårsak. Dette var fordi det var forhøyet dødelighet på anlegget og fordi fisken ankom anlegget få dager tidligere. Fisken som ble prøvetatt bar preg av å ha vært død i flere dager, og nesten alle fiskene hadde blødning i hjernen. Dette kan tyde på at fiskene er påført skader under

transport. I uttak 6 ble 1/3 fisk kategorisert med «Skarv» som dødsårsak. Dette var fordi fisken hadde funn forenelig med et skarvangrep. 2/3 fisker i uttak 6, 3/3 fisker i uttak 1 og 6/6 fisker i uttak 2 ble kategorisert med «Prøveuttak av fisk uten sykdomstegn». Dette var fordi det var fisker som ble avlivet i forbindelse med oppgaven

I noen tilfeller var det flere årsaker som kunne være skyld i fiskens død, da ble det gjort en vurdering på hva som mest sannsynlig har forårsaket døden. Noen fisker hadde tegn til flere sykdommer samtidig. Flere av de hyppigst rapporterte årsakene til dødelighet i PO4, ble kategorisert som dødsårsaker hos de prøvetatte dødfiskene i oppgaven, blant annet pasteurellose, CMS og lusebehandling (Sommerset *et al.*, 2022). Tenacibaculose var registrert hos noen fisk ved anlegg A, men sykdommen ble aldri vurdert som dødsårsak. På flere av fiskene ble det registrert funn av flere ulike *Tenacibaculum* arter på samme fisk, dette har vist seg å være vanlig, og støtter opp om at *Tenacibaculum* sp. smitter gjennom vann (Olsen *et al.*, 2017). Det ble også registrert funn av *Vibrio wodanis* i sammenheng med funn av *Tenacibaculum* sp. Dette har tidligere også vært sett i andre studier (Lunder *et al.*, 1995). Fra historikk i felt vet man at det har vært påvist PD på anlegget tidligere, og at mange fisk er positive for PRV. Siden histopatologiske funn på den prøvetatte fisken ikke var forenelig med HSMB vurderes det at viruset ikke forårsaket sykdom. Selv om sykdommene PD og HSMB er vanlige dødsårsaker i PO4 har de ikke blitt vurdert som årsaker i denne oppgaven.

Flere av de prøvetatte fiskene hadde vært gjennom avlusning i ukene før prøveuttak. I en retrospektiv-beskrivende studie er det beskrevet forhøyet dødelighet etter lusebehandling (Walde *et al.*, 2021). Studien viser at dødeligheten sank innen to uker behandling, men at den ikke var tilbake på samme nivå som før behandlingen. At fisken ble behandlet kan dermed ha påvirket dødeligheten ved uttakene på anlegg A. Uttak 5 ved anlegg A ble gjort 1 uke etter en lusebehandling. I dette uttaket var den gjennomsnittlige vekten til dødfisken betydelig lavere enn i de to andre uttakene ved anlegget. Dette kan tyde på at svak fisk har dødd som følge av lusebehandling.

4. 4. Potensialet til dødfiskkategorisering

I denne oppgaven ble det erfart at det er vanskelig å kategorisere hva fisk dør av. En fare ved å kategorisere dødsårsaker er at man kan miste verdifull informasjon om helsetilstanden til fiskene. I denne oppgaven hadde noen av fiskene vært gjennom en lusebehandling og de hadde

sykdommene CMS og pasteurellose. Når en fisk blir kategorisert som død av pasteurellose vil registreringen underbygge at pasteurellose er et stort problem, samtidig som den undergraver at CMS og lusebehandling også er store problemer som skaper dødelighet. På denne måten kan en kategorisering skjule problemer som har innvirkning på dødelighet. Den største fordelene med å kategorisere dødsårsaker er at man får bedre oversikt over de største problemene som skaper dødelighet, og at man kan sette inn målrettede tiltak mot disse (Aunsmo *et al.*, 2020).

Flere aktører har ønsket seg en felles registrering av dødfiskårsaker, blant annet Veterinærinstituttet og AquaCloud (Sommerset *et al.*, 2022). En felles registrering kan gjøre det mulig å lage statistikker over dødelighet som oppdrettere og andre kan bruke til å forbedre produksjonen. En sammenligning av hvor stor dødelighet man har i forhold til de beste, kan skape motivasjon til forbedring, dette kalles benchmarking (Andersen og Pettersen, 1995). For eksempel er det mulig å lage statistikker over dødelighet etter lusebehandling. Da kan en oppdretter se hvor stor dødelighet de har etter en avlusning i forhold til andre oppdrettere. Ingen ønsker å være dårligst, derfor vil de som ligger over gjennomsnittlig dødelighet trolig gjøre tiltak for å redusere dødeligheten. Gjør nok oppdrettere tiltak vil gjennomsnittlig dødelighet bli lavere, på den måten kan statistikk skapt gjennom registrering av dødfiskårsaker være en bidragsyter til bedre fiskevelferd.

4. 5. Gjenkjenning av velferdsindikatoren «Skjelltap» og dødfiskkategorien «Pasteurellose» ved hjelp av ML og KI

ML og KI har lært seg å klassifisere føflekker som godartet og ondartet på nivå med dermatologer (Esteva *et al.*, 2017). Det er derfor grunn til å tro at det er potensiale til bruk av ML og KI til å kategorisere dødfisk. Det er likevel mange hindre som må overkommes før metoden kan benyttes til fullverdig kategorisering.

I denne oppgaven er velferdsindikatoren «Skjelltap» og dødfiskkategorien «Pasteurellose» benyttet til å trene opp og teste en algoritme. Årsaken til at disse to kategoriene ble valgt er fordi de fleste av fiskene hadde synlige skjelltap og fordi mange av fiskene testet positivt for *Pasteurella* sp. i qPCR. Alle fiskene som testet positivt er blitt markert med pasteurellose, selv om de ikke har fått pasteurellose som dødsårsak. Dette er for å ha et høyest mulig antall bilder å trene algoritmen på.

Det ble benyttet 77 bilder til å trene opp algoritmen. På disse bildene er det registrert 196 forekomster av skjelltap og 32 forekomster av pasteurellose. Antallet bilder er trolig for lavt, da det i en tidligere studie ble det krevd mellom 100 og 600 bilder til å trene opp en algoritme til å gjenkjenne objekt (Ramík *et al.*, 2014). Selv om min algoritme har et lite treningssett, klarer den å gjenkjenne flere av de markerte skjelltapene på testbildene. Mange av de registrerte skjelltapene er i samme område og har lignende form som på treningsbildene. Algoritmen har verken god spesifisitet eller sensitivitet, da det er mange falske negative og falske positive registreringer av skjelltap. Testbildene i oppgaven min inneholdt 6 bilder av fisk med pasteurellose og 6 bilder av fisk uten pasteurellose. Ingen falske negative, tyder på god sensitivitet, mens alle falske positive, tyder på ingen spesifisitet. Maskinlæringsalgoritmen har dermed ikke ytet bra og algoritmen er trolig undertilpasset (Teknologirådet, 2018). Det kan virke som om algoritmen har lært seg å gjenkjenne formen til fisk som «Pasteurellose».

For å forbedre kvaliteten på algoritmen burde antallet treningsbilder blitt økt. Et annet tiltak som kunne vært gjort for å forbedre kvaliteten på algoritmen er å bruke bilder med høyere oppløsning. Bildene som ble tatt i felt hadde opprinnelig en oppløsning på 3024*4032 bildepunkter. På grunn av begrensninger i programvaresystemet var det nødvendig å senke oppløsningen til 420*560 bildepunkter. Lavere bildeoppløsning kan ha hatt en påvirkning på algoritmens evne til å gjenkjenne velferdsindikatoren skjelltap, da det førte til at bildene ble mer uklare. I en tidligere studie har det vist seg at objektgjenkjennelse på bilder med tap av oppløsning er mindre effektiv (Torralba, 2003). Resultatene fra trening og testing av algoritmen i oppgaven peker på at det er større potensiale for ML og KI å gjenkjenne velferdsindikatorer på fisken enn å gjenkjenne dødfiskkategorier.

4. 6. Bruk av dødfiskkamera til å kategorisere dødfisk

Utviklingen av en automatisk dødfiskskanner som teller og kategoriserer dødfisk kan bidra til en effektivisering og standardisering av dødfiskhåndtering. Allerede på TEKMAR konferansen i 2012, ble det nevnt at en sensor for telling og dødfiskkategorisering var en aktuell arbeidsoppgave for automatisering (Sunde, 2014). Det er også andre aktører som har utviklet en biomassemåler som teller dødfisk (OK Marine, u. å).

Ved å kunne automatisk telle og kategorisere dødfisk trenger man ikke å bruke tid og arbeidskraft på oppgaven. I en studie der mennesker fra ulike bakgrunner og kjønn ble bedt om

å skåre assay, var det små forskjeller i vurdering. Likevel ble det konkludert med at forskjellene var såpass betydelige at de ikke burde bli ignorert (Bridgeman *et al.*, 2012). Det er tenkbart at samme fenomen kan oppstå når mennesker på ulike oppdrettsanlegg, med ulike bakgrunner og erfaringer, skal vurdere og skåre velferdsindikatorer. Bruk av ML og KI kan bidra til standardisering ved at all dødfisken blir vurdert og skåret av den samme algoritmen som er trent opp etter de samme kriteriene.

Den mest effektive måten et dødfiskkamera kan bidra til å kategorisere dødsårsaker, er ved å bruke ML og KI til å klassifisere velferdsindikatorer. Dødfiskskanneren kan ta bilde av dødfisken og sende bildene til en database, slik at bildene kan bli testet i algoritmen som registrerer velferdsindikatorer. Det er trolig ikke tilstrekkelig å kategorisere dødfiskårsaker på bakgrunn av bildeanalyser. Man bør derfor ha mer avansert maskinlæring som kan koble sammen flere typer data. De registrerte velferdsindikatorerne kan kobles sammen med annen informasjon fra merden og anlegget. Informasjon om velferdsindikatorerne sammen med fiskens genetiske bakgrunn, settefiskanlegg, vaksinerings, smoltifisering, plassering av merd og anlegg, fôr og fôringsstrategi, tidligere helsekontroller, lusetall, håndteringer og behandlinger av fisken, miljømålinger som vanntemperatur, strømforhold, og oksygenforhold, biomasse, dødelighet og andre uforutsette hendelser kan bidra til et beslutningsgrunnlag for å kategorisere dødfisk. Ved å benytte all registrert informasjon om dødfisken kan man bruke ML og KI til forutseende analyser som kan forutsi sykdomsutvikling (Teknologirådet, 2018). ML og KI kan oppfatte hva som skjer og koble sammen store mengder data til nyttig informasjon, før mennesker klarer å oppfatte hva som skjer.

I tillegg til å gi informasjon til et felles datasystem for å kategorisere dødfisk kan informasjonen fra et dødfiskkamera fungere som et tidlig varslingsystem for den enkelte oppdretter. Når en rekke faktorer slår ut samtidig, og man har synlige sykdomstegn på bildene kan systemet alarmere oppdretter om at noe har skjedd. For eksempel kan det komme opp en advarsel; ***ALARM*** i stor rød skrift med informasjon om situasjonen, forslag til hva som kan være galt, råd for hva oppdretter bør finne ut og hvilke tiltak oppdretter bør sette inn. På denne måten kan fiskehelsepersonell kontaktes, og nødvendige tiltak settes inn tidligere, før situasjonen kommer ut av kontroll.

Skanning av dødfisk har stort potensiale til å standardisere og effektivisere kategoriseringen av dødfisk. En mulighet er å ikke bare integrere vurdering av individbaserte velferdsindikator, men

også skåring av Laksvel sine dødfiskrater (Nilsson *et al.*, 2022) i den daglige registreringa. Da kan oppdrettere få daglig oppdatert informasjon om hvordan situasjonen i merden endrer seg over tid. Det er tenkbart at om det er høy dødelighet over tid, kan oppdretter gå tilbake og se akkurat hvilken dag den forhøyede dødeligheten begynte, da kan det bli lettere å koble dødeligheten opp mot hendelser.

En mulig fremtidig utvikling av kamerateknologien er å inkludere bilder fra innsiden til dødfisk. Disse bildene kan også analyseres ved hjelp av ML og KI. Da må det utvikles en automatisert metode som kan åpne fiskens bukside uten at de indre organene blir skadet. Er det mulig kan trening og etablering av en algoritme som tolker indre funn gi ytterligere kunnskap om fiskens velferdsstatus og indikasjoner på hva som har forårsaket fiskens død. Selv om dødfiskkameraet har stort potensiale er det flere utfordringer som må løses. Slik kameraet er satt opp nå er det utfordringer knyttet til lysforhold. Bildene blir tatt ute i det fri, dette betyr at tidspunkt på dagen dødfiskregistreringa skjer kan påvirke utfallet. Det er også utfordringer knyttet til hvor mange fisk som renner over silekassen om gangen, blir det for mange fisk er det vanskelig å telle og kategorisere alle. Algoritmen som vurderer er for upresis, det er registrert at den merker fugler og hender som har kommet under kameraet som dødfisk. Algoritmen trenger derfor et større treningssett for å luke bort slike feilregistreringer.

4. 7. Fremtidens havbruk

Dødeligheten i norsk akvakultur ligger på 15,5 %, dette er altfor høyt. Vedvarende høy dødelighet over lengre perioder tyder på at det er manglende fokus på velferd. Manglende fokus kan være en konsekvens av at myndighetene stiller for få krav til velferd og helse (Nærings- og fiskeridepartementet, 2021), og fordi tiltak for å bedre velferden kan gå på bekostning av andre interesser. I Akvakulturdriftsforskriften er betydningen av lønnsomhet i næringen og velferden til fisken likestilt (Akvakulturdriftsforskriften, 2008). I denne oppgaven kan man se at biomassen i merdene øker selv om antallet dødfisk øker. Så lenge biomasse-økningen i merden er større enn biomassen som dør vil oppdretter trolig tjene mer penger på å ha fisken stående i sjø enn om den blir slaktet ut. En annen interesse som kan gå på bekostning av fiskevelferden er hyppigheten av belastende avlusninger på fisken. Trafikklyssystemet setter vilkår for vekst i næringen. For å ikke havne over lusegrensen velger mange oppdrettere å gjennomføre flere, og oftere lusebehandlinger av fisken (Sommerset *et al.*, 2022). Det manglende fokuset på fiskehelse og velferd kan endre seg i nær fremtid på grunn av økt fokus på problemet. Blant

annet har årets fiskehelse rapport fokus på den høye dødeligheten (Sommerset *et al.*, 2022). Det er både politisk og faglig vilje til å endre tillatelsessystemet for vekst. En metode for å skape bærekraftig vekst i akvakulturnæringen er gjennom redusert dødelighet. Dette vil ha mulighet til å påvirke alle de tre dimensjonene for bærekraftig vekst, da det kan gi forbedret fiskehelse, økt ressursutnyttelse og økte inntekter. Både forrige (Nærings- og fiskeridepartementet, 2021) og nåværende regjering (Arbeiderpartiet og Senterpartiet, 2021) ønsker å innføre flere indikatorer i trafikklyssystemet. Veterinærinstituttet ønsker også flere indikatorer (Sommerset *et al.*, 2022). Mattilsynet mener at det bør vurderes om dødelighet skal være en del av trafikklyssystemet (Sagebø, 2021). Det er forskjell i dødelighet mellom anlegg. Et mulig virkemiddel for å få ned fiskedødeligheten hos enkelte aktører er pålegg om midlertidig redusert produksjon (Nærings- og fiskeridepartementet, 2021). Innføring av et slikt virkemiddel kan være lettere å gjennomføre med et felles registreringssystem som er standardisert og effektivisert gjennom bruk av ML og KI på bilder av dødfisk.

Denne oppgaven er en pilotstudie som har sett på mulighetene til å benytte ML og KI til å overvåke velferd, sykdom og dødelighet hos Atlantisk laks. Ved hjelp av funn og historikk i felt og sykdomsdiagnostikk har fiskene i studien blitt vurdert etter velferdsindikatorer og kategorisert i dødsårsaker. Resultater fra karakteriseringene av dødfisk har blitt benyttet i ML algoritmer. I oppgaven ble det erfart at det er mulig å kategorisere synlige ytre velferdsindikatorer på fisk, og at det er vanskeligere å gjenkjenne en «diagnose» som dødsårsak. Bruken av ML og KI til å gjenkjenne velferdsindikatorer, og knytte disse opp mot annen informasjon om historikk fra felt, sykdomsdiagnostikk, og fiskens miljø kan bidra til en standardisert og effektiv dødfisk kategorisering. Automatiserte løsninger som dødfiskkameraer har mulighet til å bidra med informasjon inn i et felles datasystem og sikre en standardisert og effektiv rapportering. Informasjonen om fiskens velferd og årsak til død kan danne beslutningsgrunnlag for valg som fører til bedre fiskevelferd.

5. Referanser

- Akvakulturdriftforskriften (2008) *Forskrift om drift av akvakulturanlegg* Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-06-17-822> (Hentet: 21.12.2021).
- Andersen, B. og Pettersen, P.-G. (1995) *Benchmarking : en praktisk håndbok*. Oslo: TANO.
- Arbeiderpartiet og Senterpartiet (2021) *Hurdalsplattformen : for en regjering utgått fra Arbeiderpartiet og Senterpartiet : 2021-2025*. Oslo: Arbeiderpartiet. Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/contentassets/cb0adb6c6fee428caa81bd5b339501b0/no/pdfs/hurdalsplattformen.pdf> (Hentet: 15.05.2022).
- Aunsmo, A., Persson, D., Romstad, S., Stormoen, M. og Midtlyng, P. J. (2021) 'Registrering av taps- og dødsårsaker i akvakultur - Forslag til enhetlig kodestruktur', Tilgjengelig: NMBU Veterinærhøgskolen, Ås. Tilgjengelig fra: <https://aquacloud.ai/fish-health/> (Hentet 28.05.2022).
- Aunsmo, A., Stormoen, M., Persson, D. og Midtlyng, P. J. (2020) 'Klassifisering av taps- og dødsårsaker i akvakultur - forprosjekt', Tilgjengelig: NMBU Veterinærhøgskolen, Ås. Tilgjengelig fra: <https://aquacloud.ai/fish-health/> (Hentet 28.05.2022).
- BarentsWatch (u. å.) *Fiskehelse*. Tilgjengelig fra: <https://www.barentswatch.no/fiskehelse/> (Hentet: 23.05.2022).
- Berge, A. (2020) 'Dette er verdens 20 største lakseoppdrettere', *iLaks.no*. Tilgjengelig fra: <https://ilaks.no/dette-er-verdens-20-storste-lakseoppdrettere-2/> (Hentet: 08.05.2022).
- Bleie, H. og Skrudland, A. (2014) *Tap av Laksefisk i sjø*: Mattilsynet. Tilgjengelig fra: [https://www.Mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/fiskevelferd/tap_av_laksefisk_i_sjo_2014.15430/binary/Tap%20av%20laksefisk%20i%20sjø%20\(2014\)](https://www.Mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/fiskevelferd/tap_av_laksefisk_i_sjo_2014.15430/binary/Tap%20av%20laksefisk%20i%20sjø%20(2014)) (Hentet: 10.01.2022).
- Braceland, M., Houston, K., Ashby, A., Matthews, C., Haining, H., Rodger, H. og Eckersall, P. D. (2017) 'Technical pre-analytical effects on the clinical biochemistry of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)', *Journal of fish diseases*, 40(1), pp. 29-40, Tilgjengelig: England: Wiley Subscription Services, Inc. DOI: 10.1111/jfd.12476.
- Bridgeman, B., Trapani, C. og Attali, Y. (2012) 'Comparison of Human og Machine Scoring of Essays: Differences by Gender, Ethnicity, og Country', *Applied measurement in education*, 25(1), pp. 27-40, Tilgjengelig: Philadelphia: Taylor & Francis Group. DOI: 10.1080/08957347.2012.635502.
- Brundtland, G. H. (1987) *Our common future*. Oxford: Oxford University Press.

- Cermaq (2018) *Cermaq introduces fish welfare policy*. Tilgjengelig fra: <https://www.cermaq.com/news/cermaq-introduces-fish-welfare-policy> (Hentet: 12.05.2022).
- CreateView AS 2019. Prosjektbeskrivelse for innovasjonsprosjekt i næringslivet. Upublisert.
- CreateView AS (u. å.-a) *Dødfisikkontroll*. Tilgjengelig fra: <https://createview.ai/dodfiskkontroll/> (Hentet: 15.02.2022).
- Createview AS (u. å.-b) *Cview LiftUp* Tilgjengelig fra: <https://createview.ai/cview-liftup-scanner/> (Hentet: 28.04.2022).
- De-Giorgio, F., Grassi, S., d'Aloja, E. og Pascali, V. L. (2021) 'Post-mortem ocular changes og time since death: Scoping review og future perspective', *Legal Medicine (Tokyo)*, 50, pp. 101862-101862, Tilgjengelig: Ireland: Elsevier B.V. DOI: 10.1016/j.legalmed.2021.101862.
- Dyrehelseforskriften (2022) *Forskrift om dyrehelse (dyrehelseforskriften)* Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2022-04-06-631> (Hentet: 29.05.2022)
- Dyrevelferdsloven (2009) *Lov om dyrevelferd* Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/NL/lov/2009-06-19-97?q=dyrevelferdsloven> (Hentet: 21.12.2021).
- Espmark, Å. M. O., Kolarevic, J., Aas-Hansen, Ø. og Nilsson, J. (2015) *Pumping og håndtering av smolt* (Nofima rapportserie 6/2015. Tilgjengelig fra: <https://nofima.brage.unit.no/nofima-xmlui/handle/11250/283157> (Hentet: 21.05.2021).
- Esteva, A., Kuprel, B., Novoa, R. A., Ko, J., Swetter, S. M., Blau, H. M. og Thrun, S. (2017) 'Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks', *Nature*, 542(7639), pp. 115-118, Tilgjengelig: England: Nature Publishing Group. DOI: 10.1038/nature21056.
- Ferguson, H. W., Poppe, T. og Speare, D. J. (1990) 'Cardiomyopathy in farmed Norwegian salmon', *Diseases of aquatic organisms*, 8(3), pp. 225-231. DOI: 10.3354/dao008225.
- Fiskeridirektoratet (2020a) *Fiskeridirektoratet årsrapport 2019*. Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/globalassets/departementene/nfd/tildelingsbrev-arsrapporter-oppdragsbrev/2019/arsrapport-2019---fdir.pdf> (Hentet: 04.12.2021).
- Fiskeridirektoratet (2020b) *Statistikk for akvakultur Definisjoner*. Tilgjengelig fra: <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Akvakulturstatistikk-tidsserier> (Hentet: 03.01.2022).

- Fiskeridirektoratet (2021) 'Tap i produksjonen 1997-2020'. Tilgjengelig fra: <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Akvakulturstatistikk-tidsserier/Laks-regnbueoerret-og-oerret/Matfiskproduksjon> (Hentet: 04.12.2021).
- Fiskeridirektoratet (2022a) *Kart Fiskeridirektoratet: Produksjonsområder*. Tilgjengelig fra: https://portal.fiskeridir.no/arcgis/rest/directories/arcgisoutput/Geoprocessing/ExportWebMapHost_GPSTerver/_ags_1776b2fe-8e37-11ec-a5f6-005056b813f7.jpg (Hentet: 15.02.2022).
- Fiskeridirektoratet (2022b) 'Svinn i produksjonen fordelt på art og årsak 2005-2022 (Fylke) (xlsx, 249.7 kB)'. Tilgjengelig fra: <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Biomassestatistikk/Biomassestatistikk-etter-fylke> (Hentet: 25.04.2022).
- Forskrift om tiltak for å forebygge, begrense og bekjempe PD hos akvakulturdyr (2017) *Forskrift om tiltak for å forebygge, begrense og bekjempe PD hos akvakulturdyr* Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2017-08-29-1318> (Hentet: 27.04.2022).
- Fritsvold, C., Mikalsen, A. B., Poppe, T. T., Taksdal, T. og Sindre, H. (2021) 'Characterization of an outbreak of cardiomyopathy syndrome (CMS) in young Atlantic salmon, *Salmo salar* L', *Journal of fish diseases*, 44(12), pp. 2067-2082, Tilgjengelig: Oxford: Wiley Subscription Services, Inc. DOI: 10.1111/jfd.13521.
- George, J., Van Wettere, A. J., Michaels, B. B., Crain, D. og Lewbart, G. A. (2016) 'Histopathologic evaluation of postmortem autolytic changes in bluegill (*Lepomis macrochirus*) og crappie (*Pomoxis anularis*) at varied time intervals og storage temperatures', *PeerJ*, 4, pp. e1943-e1943, Tilgjengelig: London: PeerJ Inc. DOI: 10.7717/peerj.1943.
- Grefsrud, E. S., Karlsen, Ø., Kvamme, B. O., Glover, K., Husa, V., Hansen, P. K., Grøsvik, B. E., Samuelson, O., Sandlund, N., Stien, L. H. og Svåsand, T. (2021) *Risikoreport norsk fiskeoppdrett 2021 - kunnskapsstatus - Kunnskapsstatus effekter av norsk fiskeoppdrett*: Havforskningsinstituttet (Rapport fra havforskningen 2021-7). Tilgjengelig fra: <https://www.hi.no/templates/reporteditor/report-pdf?id=40184&22540296> (Hentet: 28.05.2022).
- Habib, C., Houel, A., Lunazzi, A., Bernardet, J.-F., Olsen, A. B., Nilsen, H., Toranzo, A. E., Castro, N., Nicolas, P. og Duchaud, E. (2014) 'Multilocus Sequence Analysis of the Marine Bacterial Genus *Tenacibaculum* Suggests Parallel Evolution of Fish Pathogenicity og Endemic Colonization of Aquaculture Systems', *Applied og*

- Environmental Microbiology*, 80(17), pp. 5503-5514, Tilgjengelig: Washington: Amber Soc Microbiology. DOI: 10.1128/AEM.01177-14.
- Haugland, Ø., Mikalsen, A. B., Nilsen, P., Lindmo, K., Thu, B. J., Eliassen, T., Roos, N., Rode, M. og Evensen, Ø. (2011) 'Cardiomyopathy Syndrome of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Is Caused by a Double-Stranded RNA Virus of the Totiviridae Family', *Journal of virology*, 85(11), pp. 5275-5286, Tilgjengelig: Washington, DC: American Society for Microbiology. DOI: 10.1128/JVI.02154-10.
- Hodneland, K., Bratland, A., Christie, K. E., Endresen, C. og Nylund, A. (2005) 'New subtype of salmonid alphavirus (SAV), Togaviridae, from Atlantic salmon *Salmo salar* og rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Norway', *Diseases of aquatic organisms*, 66(2), pp. 113-120, Tilgjengelig: Oldenforf Luhe: Inter-Research. DOI: 10.3354/dao066113.
- Iversen, A., Hermansen, Ø., Nystøyl, R., Rolland, K. H. og Garshol, L. D. (2019) *Konkurranssevne for norsk oppdrettslaks: Kostnader og kostnadsdrivere i Norge og konkurrentland: Nofima AS (Rapport 20/2019)*. Tilgjengelig fra: <https://nofimaas.sharepoint.com/sites/public/Cristin/Rapport%2028-2019.pdf?ga=1> (Hentet: 20.12.2021).
- Karlsen, C., Thorarinsson, R., Wallace, C., Salenius, K. og Midtlyng, P. J. (2017) 'Atlantic salmon winter-ulcer disease: Combining mortality og skin ulcer development as clinical efficacy criteria against *Moritella viscosa* infection', *Aquaculture*, 473, pp. 538-544, Tilgjengelig: Elsevier B.V. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.01.035.
- Kongtorop, R. T., Taksdal, T. og Lyngøy, A. (2004) 'Pathology of heart og skeletal muscle inflammation (HSMI) in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*', *Diseases of Aquatic Organisms*, 59(3), pp. 217-224, Tilgjengelig: Oldendorf: Inter-Research. DOI: 10.3354/dao059217.
- Legård, B. K. og Strøm, S. B. (2019) 'Pasteurellose hos laks på Vestlandet', *Norsk Fiskeoppdrett*, 9.
- Legård, B. K. og Strøm, S. B. (2020) 'Pasteurellosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Western Norway', 40(4), Tilgjengelig: European Association of Fish Pathologists.
- Lerøy Seafood Group ASA (u. å.) *Policy: Fish health og fish welfare*. <https://www.leroyseafood.com/en/sustainability/sustainability-library/policies/policy-fish-health-og-welfare/> (Hentet: 08.05.2022).
- LiftUP (u. å.) *Cview LiftUp Scanner* Tilgjengelig fra: <https://www.liftup.no/nyheter/cview-liftup-scanner> (Hentet: 28.04.2022).

- Lunder, T., Evensen, O., Holstad, G. og Hastein, T. (1995) 'Winter ulcer' in the Atlantic salmon *Salmo salar*. Pathological og bacteriological investigations og transmission experiments', *Diseases of Aquatic Organisms*, 23(1), pp. 39-49. DOI: 10.3354/dao023039.
- MarinHelse AS (2018) *Veileder i dødfiskkategorisering*. Tromsø: MarinHelse AS.
- Matloven-matl (2003) *Lov om matproduksjon og mattrygghet mv*. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/NL/lov/2003-12-19-124> (Hentet: 21.12.2021).
- Mattilsynet (2016) *Hva er dyrevelferd?* Tilgjengelig fra: https://www.Mattilsynet.no/dyr_og_dyrehold/dyrevelferd/rad_om_dyrevelferd/hva_er_dyrevelferd.5017 (Hentet: 21.12.2021).
- Meld. St. 16 (2014-2015) (2015) *Forutsigbar og miljømessig bærekraftig vekst i norsk lakse- og ørretoppdrett*: Det Kongelige Nærings- og Fiskeridepartementet. Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/contentassets/6d27616f18af458aa930f4db9492f5e5/no/pdfs/stm201420150016000dddpdfs.pdf> (Hentet: 28.05.2022).
- MOWI ASA (u. å.) *Policy on salmon welfare*. <https://mowi.com/wp-content/uploads/2021/07/210729-Mowi-Salmon-Welfare-Policy.pdf> (Hentet: 08.05.2022).
- Nilsson, J., Gismervik, K., Nielsen, K. V., Iversen, M. H., Noble, C., Kolarevic, J., Frotjold, H., Nilsen, K., Wilkinson, E., Klakegg, B., Hauge, H. S., Sæther, P. A., Kristiansen, T. and Stien, L. H. (2022). *LAKSVEL Standardisert operasjonell velferdsovervåking for laks i matfiskanlegg. (Rapport fra havforskningen nr. 2022-14)*. Tilgjengelig fra: <https://www.hi.no/templates/reporteditor/report-pdf?id=57875&24384777> (Hentet: 31.05.2022)
- NMBU Veterinærhøgskolen Ås (u. å.) *Kodeliste taps- og dødsårsaker i akvakultur*: AquaCloud. Tilgjengelig fra: <https://aquacloud.ai/fish-health/> (Hentet: 28.05.2022).
- Noble, C., Nilsson, J., Stien, L. H., Iversen, M. H., J, K. og Gismervik, K. (2018) *Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd* Tromsø: Nofima, Havforskningsinstituttet, Veternærinstituttet, NORD universitet og University of Stirling. Tilgjengelig fra: <https://nofima.no/wp-content/uploads/2016/06/Velferdsindikatorer-for-oppdrettslaks-2018.pdf> (Hentet: 28.05.2022).
- Nylund, S., Andersen, L., Sævareid, I., Plarre, H., Watanabe, K., Arnesen, C. E., Karlsbakk, E. og Nylund, A. (2011) 'Diseases of farmed Atlantic salmon *Salmo salar* associated

- with infections by the microsporidian *Paranucleospora theridion*', *Diseases of Aquatic Organisms*, 94 (1), pp. 41-57, Tilgjengelig: Inter-Research. DOI: 10.3354/dao02313.
- Nærings- og fiskeridepartementet (2021) *Et hav av muligheter– regjeringens havbruksstrategi*. Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/contentassets/e430ad7a314e4039a90829fcd84c012a/no/pdfs/et-hav-av-muligheter.pdf> (Hentet: 02.05.2022).
- OIE (2021a) *Aquatic Animal Health Code*. Tilgjengelig fra: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-og-manuals/aquatic-code-online-access/> (Hentet: 02.05.2022)
- OIE (2021b) *Terrestrial Animal Health Code*. Tilgjengelig fra: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-og-manuals/terrestrial-code-online-access/> (Hentet: 21.12.2022).
- OK Marine (u. å) *GOODeye Digital overvåkning*. Tilgjengelig fra: <https://www.okmarine.no/havbruk/goodeye-digital-overvåkning/goodeye> (Hentet: 15.05.2022).
- Olsen, A. B., Gulla, S., Steinum, T., Colquhoun, D. J., Nilsen, H. K. og Duchaud, E. (2017) 'Multilocus sequence analysis reveals extensive genetic variety within *Tenacibaculum* spp. associated with ulcers in sea-farmed fish in Norway', *Veterinary Microbiology*, 205, pp. 39-45, Tilgjengelig: Netherlands: Elsevier B.V. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.04.028.
- Olsen, A. B., Nilsen, H., Sandlund, N., Mikkelsen, H., Sørum, H. og Colquhoun, D. J. (2011) 'Tenacibaculum sp. associated with winter ulcers in sea-reared Atlantic salmon *Salmo salar*', *Diseases of Aquatic Organisms*, 94, pp. 189-199, Tilgjengelig: Inter-Research. DOI: 10.3354/dao02324.
- Ot.prp. nr. 15 (2008-2009) (2009) *Om lov om dyrevelferd* Det kongelige landbruks-og matdepartement. Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/no/dokumenter/otprp-nr-15-2008-2009-/id537570/?ch=1> (Hentet: 21.12.2021).
- Palacios, G., Lovoll, M., Tengs, T., Hornig, M., Hutchison, S., Hui, J., Kongtorp, R.-T., Savji, N., Bussetti, A. V., Solovyov, A., Kristoffersen, A. B., Celone, C., Street, C., Trifonov, V., Hirschberg, D. L., Rabadan, R., Egholm, M., Rimstad, E. og Lipkin, W. I. (2010) 'Heart og Skeletal Muscle Inflammation of Farmed Salmon Is Associated with Infection with a Novel Reovirus', *PLoS One*, 5(7), pp. e11487-e11487, Tilgjengelig: San Francisco : Public Library Science DOI: 10.1371/journal.pone.0011487.

- Pérez-Sancho, M., Cerdá, I., Fernández-Bravo, A., Domínguez, L., Figueras, M. J., Fernández-Garayzábal, J. F. og Vela, A. I. (2018) 'Limited performance of MALDI-TOF for identification of fish *Aeromonas* isolates at species level', *Journal of Fish Diseases*, 41(10), pp. 1485-1493, Tilgjengelig: England: Wiley Subscription Services, Inc. DOI: 10.1111/jfd.12837.
- Produksjonsområdeforskriften (2017) *Forskrift om produksjonsområder for akvakultur av matfisk i sjø av laks, ørret og regnbueørret* Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2017-01-16-61> (Hentet: 26.05.2022).
- Ramík, D. M., Sabourin, C., Moreno, R. og Madani, K. (2014) 'A machine learning based intelligent vision system for autonomous object detection og recognition', *Applied Intelligence*, 40(2), pp. 358-375, Tilgjengelig: Boston: Springer US. DOI: 10.1007/s10489-013-0461-5.
- Reith, M. E., Singh, R. K., Curtis, B., Boyd, J. M., Bouevitch, A., Kimball, J., Munholland, J., Murphy, C., Sarty, D., Williams, J., Nash, J. H., Johnson, S. C. og Brown, L. L. (2008) 'The genome of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* A449: insights into the evolution of a fish pathogen', *BMC Genomics*, 9(1), pp. 427-427, Tilgjengelig: England: BioMed Central Ltd. DOI: 10.1186/1471-2164-9-427.
- Sagebø, S. (2021) 'I dette området døydde over kvar fjerde oppdrettsfisk i fjor', *NRK.no*. Tilgjengelig fra: https://www.nrk.no/vestland/stor-auke-i-laksedod-pa-Vestlandet_-_slosing-av-ressursar-1.15408861 (Hentet: 15.05.2022).
- Salmon Group AS (2020) *Fiskevelferd i oppdrett - Kva er det?*, Bergen: Salmon Group AS. Tilgjengelig fra: https://salmongroup.no/wp-content/uploads/2020/09/SG_Fiskevelferd_NOR_Digital.pdf (Hentet: 26.05.2022).
- Småge, S. B. (2018) *Tenacibaculosis in Norwegian farmed Atlantic salmon*. Doktorgradsavhandling, Universitetet i Bergen [Online] Tilgjengelig fra: <https://bora.uib.no/bora-xmlui/handle/1956/19440> (Hentet: 28.05.2022).
- Småge, S. B., Brevik, Ø. J., Duesund, H., Ottem, K. F., Watanabe, K. og Nylund, A. (2015) '*Tenacibaculum finnmarkense* sp. nov., a fish pathogenic bacterium of the family Flavobacteriaceae isolated from Atlantic salmon', *Antonie Van Leeuwenhoek*, 109(2), pp. 273-285, Tilgjengelig: Cham: Springer International Publishing. DOI: 10.1007/s10482-015-0630-0.
- Sommerset, I., Jensen, B. B., Bornø, G., Haukaas, A. og Brun, E. (2021) *Fiskehelserapporten 2020*: Veterinærinstituttet (Veterinærinstituttet rapportserie nr 41a/2021). Tilgjengelig

- fra: <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2021/Fiskehelse rapporten-2020> (Hentet: 26.05.2022).
- Sommerset, I., Walde, C. S., Jensen, B. B., Bornø, G., Haukaas, A. og Brun, E. (2020) *Fiskehelse rapporten 2019: Veterinærinstituttet* (Veterinærinstituttet rapportserie nr 5a/2020). Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2020/Fiskehelse rapporten-2019> (Hentet: 26.05.2022).
- Sommerset, I., Walde, C. S., Jensen, B. B., Wiik-Nielsen, J., Bornø, G., Olivera, V. H. S. d., Haukaas, A. og Brun, E. (2022) *Fiskehelse rapporten 2021: Veterinærinstituttet* (Veterinærinstituttets rapportserie nr.2a/2022). Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2022/Fiskehelse rapporten-2021> (Hentet: 26.05.2022).
- Spilsberg, B., Nilsen, H. K., Tavoranpanich, S., Gulla, S., Jansen, M. D., Lagesen, K., Colquhoun, D. J. og Olsen, A. B. (2022) 'Tenacibaculosis in Norwegian Atlantic salmon (*Salmo salar*) cage-farmed in cold sea water is primarily associated with *Tenacibaculum finnmarkense* genomovar *finnmarkense*', *Journal of Fish Diseases*, 45(4), pp. 523-534, Tilgjengelig: England: Wiley Subscription Services, Inc. DOI: 10.1111/jfd.13577.
- St.meld. nr. 12 (2002-2003) (2003) *Om dyrehold og dyrevelferd* Det kongelige landbruksdepartement Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/no/dokumenter/stmeld-nr-12-2002-2003-/id196533/?ch=1> (Hentet: 21.12.2021).
- Sunde, L. M. (2014) *TEKMAR 2012 - Innovasjon i havbruk - Automatisert lakseoppdrett - løsninger for økt effektivitet og redusert dødelighet?* : SINTEF Fiskeri og Havbruk (9788214056549). Tilgjengelig fra: <https://sintef.brage.unit.no/sintef-xmlui/bitstream/handle/11250/2447640/A25821%2b-%2bTEKMAR%2b2012%2b-%2bInnovasjon%2bi%2bhavbruk-Leif%2bMagne%2bSunde.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Hentet: 26. 05. 2022).
- Taksdal, T., Olsen, A. B., Bjerkås, I., Hjortaas, M. J., Dannevig, B. H., Graham, D. A. og McLoughlin, M. F. (2007) 'Pancreas disease in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., og rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Norway', *Journal of Fish Diseases*, 30(9), pp. 545-558, Tilgjengelig: Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2007.00845.x.
- Tan, C. K. F., Nowak, B. F. og Hodson, S. L. (2002) 'Biofouling as a reservoir of *Neoparamoeba pemaquidensis* (Page, 1970), the causative agent of amoebic gill

- disease in Atlantic salmon', *Aquaculture*, 210(1-4), pp. 49-58. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00858-4.
- Teknologirådet (2018) *Kunstig intelligens : - muligheter, utfordringer og en plan for Norge*, Oslo: Teknologirådet (9788292447949). Tilgjengelig fra:
<https://teknologiradet.no/wp-content/uploads/sites/105/2018/09/Rapport-Kunstig-intelligens-og-maskinlaering-til-nett.pdf> (Hentet: 28.05.2022).
- Torralba, A. (2003) 'Contextual Priming for Object Detection', *International Journal of Computer Vision*, 53(2), pp. 169-191, Tilgjengelig: New York: Springer Nature B.V. DOI: 10.1023/A:1023052124951.
- Valheim, M., Håstein, T., Myhr, E., Speilberg, L. og Ferguson, H. W. (2000) 'Varracalbmi: a new bacterial panophthalmitis in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L', *Journal of Fish Diseases*, 23(1), pp. 61-70, Tilgjengelig: Oxford, UK: Blackwell Science Ltd. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2000.00209.x.
- Veterinærinstituttet (2022) *Statistikk over tap og dødelighet av laks og regnbueørret*. Tilgjengelig fra: <http://apps.vetinst.no/Laksetap/> (Hentet: 24. 04.2022).
- Veterinærinstituttet (u. å.-a) *Hjarte og skjelettmuskelbetennelse*. Tilgjengelig fra:
<https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/hjerte-og-skjelettmuskelbetennelse-hsmb> (Hentet: 26.05.2022).
- Veterinærinstituttet (u. å.-b) *Kardiomyopatisyndrom*. Tilgjengelig fra:
<https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/kardiomyopatisyndrom-cms> (Hentet: 26.05.2022).
- Veterinærinstituttet (u. å.-c) *Klassiske vintersår*. Tilgjengelig fra:
<https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/klassiske-vintersar> (Hentet: 25. 05 2022).
- Veterinærinstituttet (u. å.-d) *Lakselus*. Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/lakselus> (Hentet: 26.05.2022).
- Veterinærinstituttet (u. å.-e) *Pankreassykdom (PD)*. Tilgjengelig fra:
<https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/pankreassykdom-pd> (Hentet: 26.05.2022).
- Veterinærinstituttet (u. å.-f) *Tenacibaculose*. Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/tenacibaculose> (Hentet: 26.05.2022).
- Vogel, B. F., Venkateswaran, K., Satomi, M. og Gram, L. (2005) 'Identification of *Shewanella baltica* as the Most Important H₂S-Producing Species during Iced Storage of Danish Marine Fish', *Applied og Environmental Microbiology*, 71(11), pp. 6689-6697. DOI: 10.1128/AEM.71.11.6689-6697.2005.

- Walde, C. S., Jensen, B. B., Pettersen, J. M. og Stormoen, M. (2021) 'Estimating cage-level mortality distributions following different delousing treatments of Atlantic salmon (*salmo salar*) in Norway', *J Fish Dis*, 44(7), pp. 899-912, Tilgjengelig: England: Wiley Subscription Services, Inc. DOI: 10.1111/jfd.13348.
- Winter, U., Hognes, E. S., Jafarzadeh, S. og Ziegler, F. (2020) *Greenhouse gas emissions of Norwegian seafood products in 2017*: Sintef Ocean AS (Sintef report 2019:01505).
Tilgjengelig fra:
https://www.sintef.no/contentassets/25338e561f1a4270a59ce25bcbc926a2/report-carbon-footprint-norwegian-seafood-products-2017_final_040620.pdf/ (Hentet: 26.05.2022).
- Young, N. D., Crosbie, P. B. B., Adams, M. B., Nowak, B. F. og Morrison, R. N. (2007) 'Neoparamoeba perurans n. sp., an agent of amoebic gill disease of Atlantic salmon (*Salmo salar*)', *International Journal for Parasitology*, 37(13), pp. 1469-1481, Tilgjengelig: Oxford: Elsevier Ltd. DOI: 10.1016/j.ijpara.2007.04.018.
- Ziegler, F., Jafarzadeh, S., Skontorp, H. E. og Winther, U. (2021) 'Greenhouse gas emissions of Norwegian seafoods: From comprehensive to simplified assessment', *Journal of Industrial Ecology*, 2021, pp. 1-12. DOI: 10.1111/jiec.13150.