



Vannkvalitet i bedøvelsesbadet

Key words: *Atlantic salmon, benzocaine, metacaine, anesthesia, water quality, CO2, aeration*

Arthur Lyngøy
ACD Pharmaceuticals AS
Serviceboks 9
6025 Ålesund

Forfatter som korrespondanse kan sendes til:

Arthur Lyngøy
ACD Pharmaceuticals AS
Serviceboks 9
6025 Ålesund
Telefon 70 32 92 38
Mobil 992 24 992
e-post: arthur@acdpharma.com

Sammendrag

Laks (Salmo salar) utsettes for en rekke stressorer i tilslutning til

injeksjonsvaksinering, og en av disse er dårlig vannkvalitet i bedøvelsesbadet.

Fisken vil selv over tid forårsake dårlig vannkvalitet i badet, ved å forbruke O_2 og

tilføre CO_2 og NH_4^+/NH_3 . Type bedøvelse påvirker også vannkvalitet i

bedøvelsesbadet. Metacaine bedøvelse og bikarbonat (vannets naturlige alkalitet

eller tilsatt buffer) gir høye CO_2 nivå i badet allerede før fisken har tatt badet i

bruk, ved de doser som benyttes under praktisk vaksinasjon. Ved bruk av

benzocaine ser en ikke denne CO_2 produksjonen. Hos laks gir metacaine bedøvelse

med høy CO_2 mengde kortere oppvåkningstid, enn metacaine bedøvelse med lav

CO_2 . Fiskens adferd forårsaket av de aktuelle CO_2 mengdene, uten bruk av

bedøvelse, varierer fra letargi, uro, panikk og snapping av luft i vannoverflate.

Vannkvalitetsparametere i bedøvelsesbadet diskuteres i forhold til hvilke kjente

effekter dårlig vannkvalitet har på fiskens fysiologi. Artikkelen forklarer samspillet

mellom fisk, vann, bedøvelse og lufting, og beskriver hvordan en kan skape god og

stabil vannkvalitet (O_2 , CO_2 , pH og NH_3) i bedøvelsesbadet ved hjelp av

lufteteknikk.

Innledning

Laks (*Salmo salar*) utsettes for en rekke stressorer i tilslutning til vaksineringsprosessen, herunder senking av vannstand i kar, trengning i karet over lang tid, pumping/transport i slange, sortering, opphold i holdekar med ny trengning, tidvis dårlig vannkvalitet i bedøvelsesvann, stikkvaksineringsprosessen og videre transport til nytt kar. Hvert av disse trinnene representerer en stresspåvirkning, og tilrettelegger for en akkumulert stressrespons hos fisken. Gjennom systematisk arbeid søker en å minske stressorene i hvert av trinnene ved hjelp av ulike metoder. Vannkvalitet i bedøvelsesbadet er et av de områdene som nå er kartlagt nærmere. En ønsker å oppnå stabil og god vannkvalitet under hele bedøvelsesprosessen, noe som bidrar til økt velferd for fisken og redusert biologisk risiko. Mål for god vannkvalitet er satt som 100 - 70 % metning av oksygen (O₂), <15 mg/l karbondioksyd (CO₂) og pH mellom 6-7.

I Norge (2010) er det to anestesipreparater til laks og ørret som har markedsføringstillatelse, Benzoak vet 200 mg/ml, stamløsning (aktiv substans *benzocaine*) og Finquel vet 100 %, pulver til bad (aktiv substans *metacaine*) ([Felleskatalogen, 2010](#); [ScanVacc, 2010](#)). I tillegg finnes også et uregistrert metacaine preparat, MS 222 vet 100 % pulver til bad ([Pharmaq, 2010](#)). Metacaine blir i Norge benyttet i kombinasjon med natriumbikarbonat (NaHCO₃) buffer, siden metacaine i vann gir lav pH. For å øke pH til ca 7 etter metacaine tilsetning, tilsettes bedøvelsesvannet bikarbonat buffer i samme mengde som metacaine ([ScanVacc, 2010](#)).

Under praktisk bruk av bedøvelsesbadet vil en etter en tid få lav O_2 , høyt innhold av CO_2 , senkning i pH som følge av økning i CO_2 (ved fravær av bikarbonat buffer), samt en økende mengde av total ammonium nitrogen (TAN). Vi har hittil antatt at det er utelukkende fisken selv som skaper dårlig vannmiljø i bedøvelseskaret. Imidlertid er det kjent at kombinasjonen av syre og natriumbikarbonat skaper CO_2 (Wikipedia, 2010). Siden metacaine er en syre (ScanVacc, 2010), ønsket en å undersøke hvordan forholdet mellom vannets naturlige alkalitet, tilsatt bikarbonat og økende metacaine dose, påvirket vannets innhold av CO_2 . Tilsvarende ønsket en å undersøke CO_2 nivå i bedøvelsesvann ved bruk av økende dose benzocaine. Videre ønsket en å se på hvilken betydning CO_2 under bedøvelse har på fiskens oppvåkningstid. En ønsket også å undersøke hvilken effekt de relevante CO_2 nivåene har alene, uten bedøvelse, på adferd hos laks. Siden dårlig vannkvalitet generelt kan være et problem ved langvarig bruk av benzocaine og metacaine bedøvelse, ønsket vi også å undersøke effekten av lufting av bedøvelsesvannet.

Materiale og metoder:

Biologisk materiale

Atlantisk laks klekket 2009 (0-åring og 1-åring). Vekt fra 30 – 100 g

Råvannskvalitet

Forsøk med bikarbonat/metacaine og benzocaine, relatert til CO_2 mengde:

Vanntemperatur var 1,9 – 4,7 °C. Råvanns pH var 7,6. Oksygen nivå varierte mellom 92,4 – 103,7 % metning og CO_2 i råvann var 3 - 4,3 mg/l.

Forsøk med metacaine/bikarbonat og benzocaine med og uten bruk av lufter, under praktisk vaksinasjon:

Vanntemperatur 6 °C (1.åring):

Råvanns pH var 6,4 - 6,6. CO₂ nivå i råvann var mellom 4-5 mg/l og oksygen nivå var mellom 100 – 102 % metning.

Vanntemperatur 14 °C (0-åring):

Driftsvann pH var fra 6,23 - 6,91. Oksygen nivå var mellom 99,6 – 101,3 % metning. CO₂ nivå var ikke kjent.

Dosering av bedøvelsesmidler

Forsøk med bikarbonat/metacaine og benzocaine, relatert til CO₂ mengde:

Som benzocaine kilde ble det benyttet Benzoak vet 200 mg/l, stamløsning (ACD Pharmaceuticals AS). Som kilde til metacaine ble det benyttet Finquel vet 100 %, pulver (ScanVacc AS). Som kilde til natriumbikarbonat ble det benyttet Natriumbikarbonat EP 100 %, pulver (Europharma). Benzocaine ble dosert med 0.5, 1, 1.5 og 2 g/10 liter vann. Metacaine ble dosert med 0.8, 1.5, 2.5, 3.5 og 4,5 g/10 liter vann. Dosene er valgt i henhold til Summary of Product Characterization (SPC) og praktisk dosering av bedøvelsesmidlene under stikkvaksinerings av laks.

Forsøk med benzocaine og metacaine i kombinasjon med og uten lufter under praktisk vaksinasjon:

Benzoak ble dosert mellom 8 – 10 ml / 10 liter vann (benzocaine 1,6 -2g/10 liter vann), Finquel ble dosert med 2 g/10 liter vann i kombinasjon med tilsvarende mengde bikarbonat

Lufter

Det ble bygget en prototype lufter ved Melbu Systems AS, dimensjonert med tanke på å håndtere små vannmengder i et bedøvelsesbad (bilde 1). Vann ble pumpet opp fra bunnen av bedøvelseskar og opp på toppen av lufteren ved hjelp av en pumpe som leverte ca 20 – 50 l/min, avhengig av løftehøyde. Lufteren hadde en høyde på 1,75 meter. Innvendig i lufteren var det plassert luftesubstrat som fordeler vannet og lager stor overflate, hvorpå gassutveksling kan skje mellom vann og luft. I tillegg møtte vannet en motgående luftstrøm fra en vifte som blåste luft inn i lufteren. Vannet hadde naturlig fall tilbake i bedøvelsesbadet.

Prototype lufteren ble utprøvd ved NIVA sin stasjon i Drøbak før den ble tatt i bruk, for å undersøke effektiviteten med tanke på å fjerne CO₂ og ta opp O₂ i vannet. Diagram 1A viser effekt på CO₂ og oksygen ved bruk av lufteren. Det foreligger en egen rapport vedrørende denne undersøkelsen (Niva, 2009).

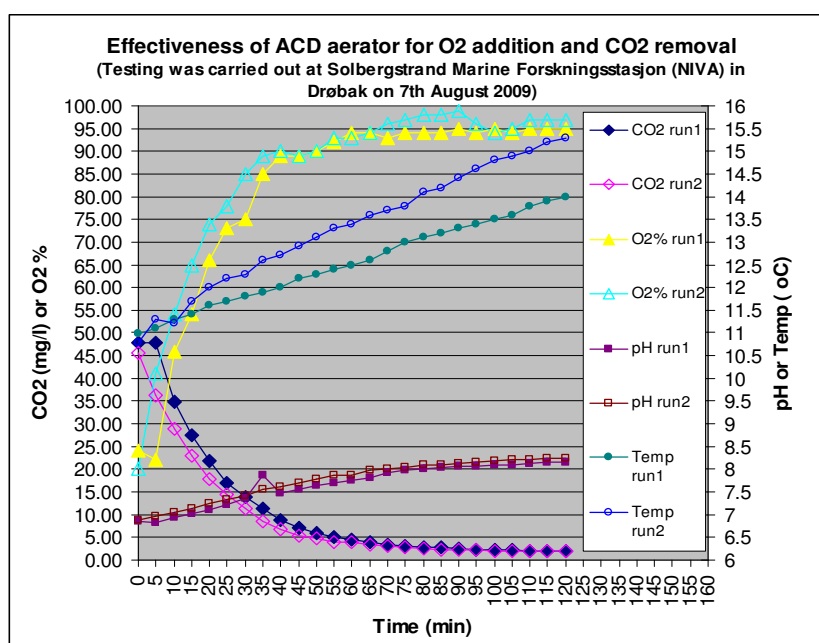


Diagram 1A. Effekt på oksygen og CO₂ ved bruk av ACD prototypelufter på bedøvelsesvann.



Bilde 1: ACD prototype kolonne lufter til bruk på bedøvelsesvann

Gjennomføring

Forsøk med bikarbonat/metacaine og benzocaine, relatert til CO₂ mengde:

For å undersøke hvilken pH og CO₂ mengde som ble dannet ved tilsetning av metacaine og bikarbonat til råvann, ble 10 liter råvann tilsatt 0,8 g/10 liter metacaine, deretter 0,8 g bikarbonat/10 liter vann. pH og CO₂ ble målt før tilsetning av metacaine, etter tilsetning av metacaine og etter tilsetning av bikarbonat. CO₂ ble målt ved hjelp av La Motte CO₂ kit (modell PCO-DR) og pH ved hjelp av WTW pH 315i pH-måler

For å undersøke sammenhengen mellom CO₂ og økende mengde metacaine/bikarbonat tilsatt vann, ble det gjort en titrering med ulike doser metacaine, 0,8, 1.5 , 2.5 , 3.5 og 4.5 g/10 liter vann i kombinasjon med tilsvarende mengde bikarbonat. CO₂ ble målt ved hjelp av La Motte CO₂ kit og

ved analyse av vannprøver innsendt til NIVA Lab i Oslo. Tilsvarende, ble benzocaine tilsatt vann i økende doser, med 0.5, 1, 1.5 og 2 g/10 liter vann. CO₂ mengde og pH ble registrert ved hver dose. CO₂ ble målt ved hjelp av La Motte CO₂ kit (modell PCO-DR) og pH ved hjelp av WTW pH 315i pH-måler

For å undersøke hvilken effekt CO₂ har på oppvåkningstid hos laks i kombinasjon med metacaine/bikarbonat anestesi, ble doser på 1.5g , 2.5g og 3.5g metacaine/bikarbonat kombinert med høy CO₂ (28-64 mg/l) og lav CO₂ (6-8 mg/l) i vannet. CO₂ ble fjernet ved hjelp av å helle vann fra en stamp til en annen gjentatte ganger, inntil CO₂ var luftet ut. For bad som ble luftet ble det foretatt pH justering ved hjelp av redusert mengde bikarbonat tilsatt, slik at pH var lik i luftet og uluftet metacaine bad ved start. CO₂ nivå, pH og oksygen ble undersøkt før fisk ble tilført badet. Når fisken mistet likevekt, tilsvarende bedøvelsesstadium II-III etter Stoskopf (1993), ble fisken overført til rent vann og oppvåkningstid ble registrert. Som positiv kontroll ble det benyttet Benzoak med dose 10 ml/10 liter vann, som tilsvarer en høy dose benyttet under praktisk vaksinerings på lave temperaturer. Det ble benyttet 3 fisk i karet ved hver dose, og oppvåkningstid ble registrert på første og siste fisk. Gjennomsnitt av disse to blir benyttet i resultatpresentasjonen. For bestemmelse av CO₂ mengde i uluftet metacaine/bikarbonat bad, ble det benyttet analyseresultater fra NIVA Lab i Oslo som referansenivå ([Niva, 2009 II](#)), mens for luftet metacaine/bikarbonat og benzocaine bad ble det benyttet La Motte CO₂ kit (modell PCO-DR).

CO₂ sin betydning for fiskens adferd, ble observert ved å tilsette CO₂ til vann uten kombinasjon med bedøvelse. CO₂ ble tilført ved hjelp av CO₂ flaske levert fra AGA (Tess Møre AS) og løst i vannet ved hjelp av en diffusorstein. Det ble

valgt 25 - 30 mg/l og 80 mg/l CO₂, samt en kontrolldose på 4 mg/l. CO₂ dose ble bestemt ved hjelp av LaMotte CO₂ test kit. Eksponeringstiden for fisken var 60 – 70 sekunder, tilsvarende oppholdstiden i et bedøvelsesbad. Fiskens adferd ble filmet gjennom eksponeringstiden og adferd beskrevet.

Forsøk med benzocaine og metacaine/bikarbonat i kombinasjon med og uten lufter under praktisk vaksinasjon:

Forsøkene foregikk under praktisk vaksinerings ved Lerøy Vest AS, avd Tau i Rogaland høsten 2009. Lufter ble koblet til eksisterende bedøvelsesbad ved settefiskanleggets vaksinasjonslinje. Det ble benyttet Finquel/bikarbonat og Benzoak anesthesi med og uten bruk av lufter (ACD Pharmaceuticals prototype). Ved 6 °C registrerte en mengde O₂ og CO₂, når 0 fisk, 2500 fisk, 5000 fisk og 8000 fisk hadde gått gjennom hver type bedøvelsesbad. Det ble gjort tre måleserier ved hver type registrering. O₂ ble registrert ved hjelp av Oxiguard O₂ måler, CO₂ ble registrert ved hjelp av La Motte CO₂ test kit (modell PCO-DR).

Ved 14 °C registrerte en mengde O₂ og pH når 0 fisk, 2300 fisk, 4600 fisk og 7000 fisk hadde gått gjennom hver type bedøvelsesbad. Total ammonium nitrogen (TAN) ble bare analysert for benzocaine bedøvelsesbad, ved hjelp av vannprøver innsendt til NivaLab AS. Det ble gjort tre måleserier ved hver type registrering, med unntak av pH registrering i metacaine/bikarbonat bad, hvor det bare ble gjort en måleserie. O₂ ble registrert ved hjelp av Oxiguard O₂ måler og pH målt ved hjelp av WTW pH 315i pH-måler.

Resultater

pH og CO₂ mengde dannet ved tilsetning av metacaine og bikarbonat til råvann.

Råvanns pH var før tilseting av metacaine på 7,56 og CO₂ mengden var 3 mg/l.

Ved tilseting av metacaine 0,8 g/10 liter vann falt pH til 5,21 og CO₂ mengde i vannet økte til 13 mg/l. Ved tilseting av bikarbonat 0,8 g/10 liter vann økte pH til 6,88. CO₂ mengde i vannet forble uforandret på 13 mg/l (diagram 1B).

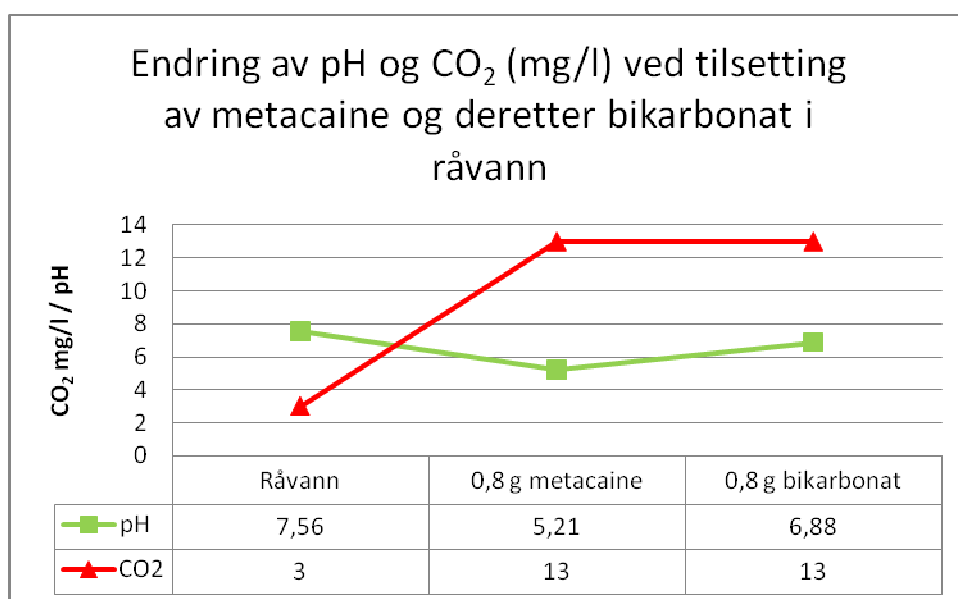


Diagram 1B: Endring av pH og CO₂ (mg/l) ved tilsetning av metacaine og deretter bikarbonat i råvann (n=1 pr målepunkt)

Mengde CO₂ i vann ved tilsetning av økende doser metacaine/bikarbonat i vann

Råvann uten tilsatt metacaine/bikarbonat hadde et innhold av CO₂ på 3,58 mg/l. Ved tilsetning av økende dose metacaine/bikarbonat opptil 4,5g/10 liter vann økte vannets innhold av CO₂ til 84,4 mg/l (Niva, 2009 II).

Bruk av LaMotte CO₂ test kit gav lavere verdier målt enn ved laboratorie analyse. Mengde CO₂ ved ulike doser metacaine/bikarbonat, samt sammenlikning av målt CO₂ ved hjelp av laboratorie analyse og bruk av LaMotte CO₂ test kit, er beskrevet i tabell 1 og diagram 2.

g metacaine/bikarbonat per 10 l vann	Råvann/0	0,8	1,5	2,5	3,5	4,5
CO ₂ mg/l Måleserie 1	4,4	16,9	28,6	46,2	65,6	87,2
CO ₂ mg/l Måleserie 2	2,9	15,8	27,5	44,3	63,4	82,8
CO ₂ mg/l Måleserie 3	3,4	16,9	28,6	45,8	63,4	83,2
CO ₂ mg/l Niva Lab gj.snitt (n=3)	3,6	16,5	28,2	45,4	64,1	84,4
CO ₂ mg/l La Motte test kit (n=1)	3	13	25	39	52	75

Tabell 1: CO₂ i bedøvelsesbad ved tilsetning av økende dose med metacaine/bikarbonat

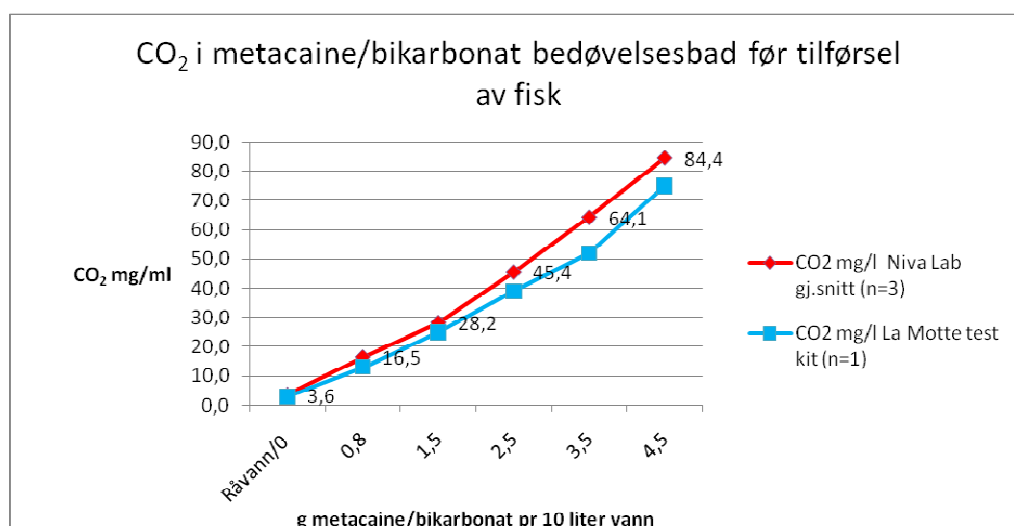


Diagram 2: CO₂ i bedøvelsesbad ved tilsetning av økende dose med metacaine/bikarbonat – før tilførsel av fisk.

Titring av CO₂ og pH ved økende doser benzocaine i vann

Råvann uten tilsatt benzocaine hadde et innhold av CO₂ på 4 mg/l og pH ble målt til 7,7. Ved tilsetning av økende dose benzocaine opptil 2 g /10 liter vann varierte vannets innhold av CO₂ mellom 3-4 mg/l og pH forble uforandret, 7,7. Mengde CO₂ og pH ved ulike doser benzocaine, er beskrevet i diagram 3.

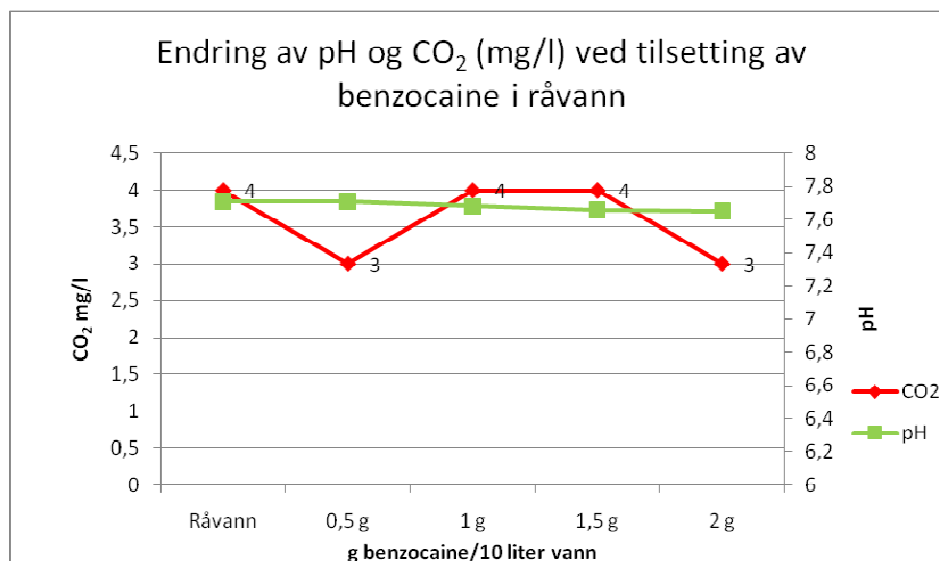


Diagram 3: Endring i pH og CO₂ i vann tilsatt benzocaine i økende dose (n=1/dose)

Effekt av høy og lav CO₂ på oppvåkningstid hos laks ved bruk av økende doser metacaine/bikarbonat.

Oppvåkningstiden hos laks ved bruk av metacaine/bikarbonat 1,5 g/10 liter vann, kombinert med høy CO₂, var 2,5 minutter. Ved fjerning av CO₂ og samme dose metacaine/bikarbonat, økte oppvåkningstiden til 5,5 minutter.

Tilsvarende fant en at metacaine/bikarbonat 2,5 g/10 liter vann, kombinert med høy CO₂, gir 4 minutter oppvåkningstid. Samme dose kombinert med lav CO₂, øker oppvåkningstiden til 6,75 minutter. Ved bruk av metacaine/bikarbonat 3,5 g/10 liter vann, kombinert med høy CO₂, var oppvåkningstiden 6,5 minutter.

Samme dose kombinert med lav CO₂, holdt oppvåkningstiden uforandret, 6,5 minutter. Ved bruk av benzocaine 2 g/10 liter vann, kombinert med lav CO₂, var oppvåkningstiden på 6 minutter. Resultatene fremkommer i tabell 2 og grafisk i diagram 4.

	An tall fisk	Dose g/10 liter vann	CO ₂ mg/l	Vann- tempera- tur °C	pH	Oksygen % metn.	Første og siste fisk sin oppvåkningstid i minutter	Gj.snitt av første og siste oppvåkningstid i minutter
Metacaine bad	3	1,5	28	2,2	7,39	99,6	2-3	2,5
	3	2,5	45	2,1	7,38	100,3	3,5-4,5	4
	3	3,5	65	2,6	7,12	100,6	5-6	5,5
Metacaine bad luftet	3	1,5	6	3,7	7,32	99,1	5-6	5,5
	3	2,5	8	3,7	7,36	99,5	6,5 - 7	6,75
	3	3,5	8	3,9	7,18	99,7	5,5-7,5	6,5
Benzocaine bad	3	2	3	1,9	7,52	100	6-7	6,5

Tabell 2: Oppvåkningstid hos laks med metacaine/bikarbonat og benzocaine anestesi, ved ulike mengder

CO₂

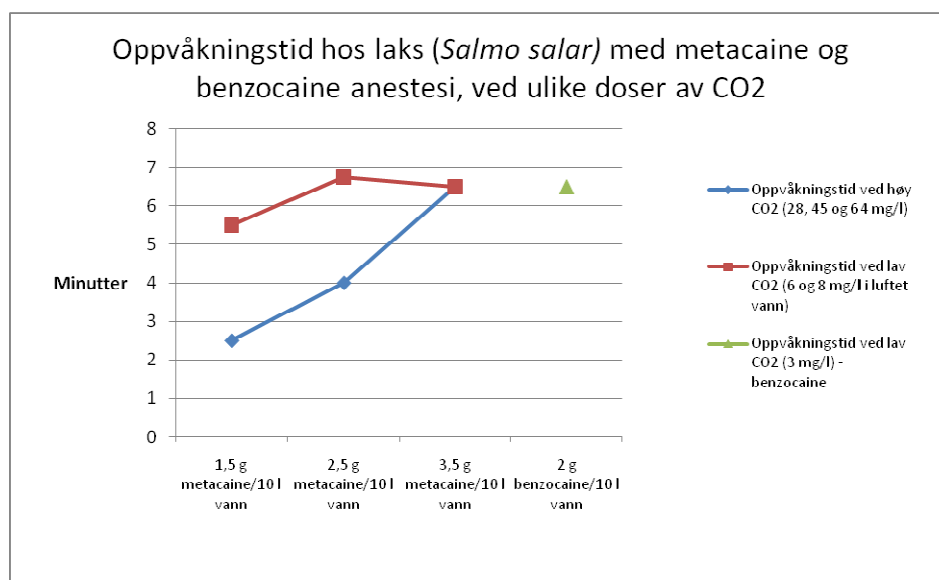


Diagram 4: Oppvåkningstid hos laks med metacaine/bikarbonat og benzocaine anestesi, ved ulike mengder CO₂

Adferd hos laks eksponert for vann med forhøyet CO₂ mengde, uten anestesi.

Bad tilført 25-30 mg/l CO₂, tilsvarende metacaine/bikarbonat 1,5-2 g/10 liter vann eller benzocaine bad brukt til stort antall fisk:

Ved tilførsel av laks, viste fisk uro om lag 5-10 sekunder etter overføring til badet. Etter 15 sekunder var det mulig å fange den første fisken ved hjelp av en

hånd. Etter 30-70 sekunder kunne en uproblematisk fange fisk med en hånd.

Fisken var tydelig letargisk, men med likevekten inntakt.

Bad tilført 80 mg/l CO₂, tilsvarende metacaine/bikarbonat 4,5 g/10 liter vann:

Fisken viste umiddelbar høy grad av uro, panikk og snapping av luft i vannoverflate. Likevekt ble opprettholdt.

Bad naturlig tilført 4 mg/l CO₂:

Fisken svømmer rolig i vannet og orienterer seg mot bunn i badet. Ved forsøk på å fange fisk med en hånd, skjer det en umiddelbar flukt reaksjon, og forsøket feiler.

Filmer kan sees på www.acdpharma.com

Oksygen nivå i bedøvelsesbad med og uten bruk av lufter

Resultater ved vanntemperatur 6 °C

Oksygenverdiene som det refereres til her, er gjennomsnittlige verdier.

Oksygen metning i ubrukt benzocaine bad og metacaine/bikarbonat bad variert fra 97,3 – 100,3 % metning. Etter 8000 fisk var oksygenmetning i uluftet benzocaine bad redusert til 78,7 %. Tilsvarende for uluftet metacaine/bikarbonat bad var 52,7 %. Ved bruk av lufter var oksygenmetning etter 8000 fisk i luftet benzocaine bad redusert til 96 %. Tilsvarende for luftet metacaine/bikarbonat bad var 88,7 %. Uten bruk av lufting faller oksygen metningen kontinuerlig i begge typer anestesi bad, ettersom økende antall fisk går gjennom løsningen. Resultatene fremgår av tabell 3 og er fremstilt grafisk i diagram 5

	Antall fisk	Måleserie 1	Måleserie 2	Måleserie 3	Gj.snitt (n=3)
Benzocaine bad	0 fisk	101	100	100	100,3
	2500 fisk	86	85	85	85,3
	5000 fisk	84	82	83	83,0
	8000 fisk	79	77	80	78,7
Benzocaine bad luftet	0 fisk	100	103	101	101,3
	2500 fisk	97	96	95	96,0
	5000 fisk	97	96	95	96,0
	8000 fisk	96	96	96	96,0
Metacaine bad	0 fisk	100	93	99	97,3
	2500 fisk	79	73	77	76,3
	5000 fisk	66	61	66	64,3
	8000 fisk	55	50	53	52,7
Metacaine bad luftet	0 fisk	101	100	100	100,3
	2500 fisk	94	91	92	92,3
	5000 fisk	93	90	90	91,0
	8000 fisk	89	86	91	88,7

Tabell 3: Oksygen metning % i benzocaine- og metacaine/bikarbonat anestesibad ved 6 °C med og uten bruk av lufter

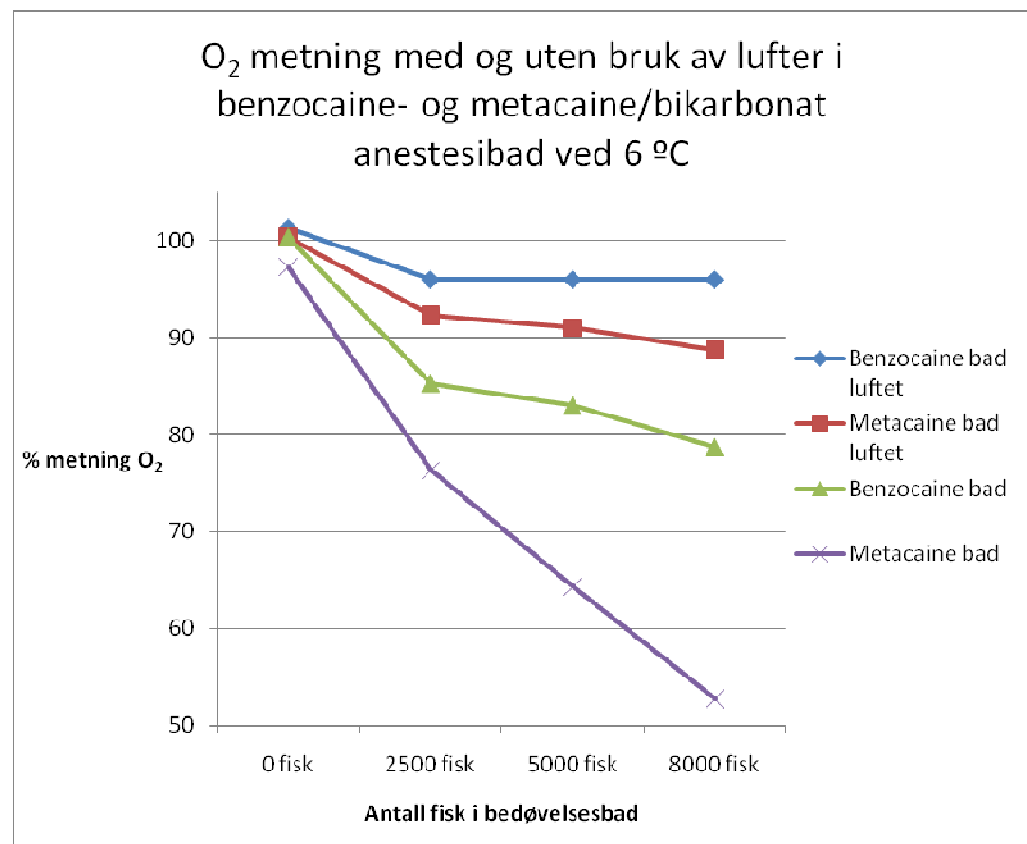


Diagram 5: Oksygen metning i benzocaine- og metacaine/bikarbonat anestesibad ved 6 °C med og uten bruk av lufter

Resultater ved vanntemperatur 14 °C

Oksygenverdiene som det refereres til her, er gjennomsnittlige verdier.

Oksygen metning i ubrukt benzocaine bad var 101,3 % og 99,6 %. Ved sluttbruk av bad (7000 fisk) var oksygenmetning i uluftet benzocaine bad redusert til 74,3 %. Tilsvarende i luftet benzocaine bad var 95 %. Uten bruk av lufting faller oksygen metningen kontinuerlig ettersom økende antall fisk går gjennom løsningen. Resultatene fremgår av tabell 4 og er fremstilt grafisk i diagram 6.

	Antall fisk	Måleserie 1	Måleserie 2	Måleserie 3	Gj. Snitt (n-3)
Benzocaine bad	0 fisk	101	107	96	101,33
	2300 fisk	84	88	83	85,00
	4600 fisk	75	81	79	78,33
	7000 fisk	72	76	75	74,33
Luftet benzocaine bad	0 fisk	103	102	94	99,67
	2300 fisk	95	91	95	93,67
	4600 fisk	94	90	95	93,00
	7000 fisk	94	94	97	95,00

Tabell 4: Oksygen metning i benzocaine anestesibad ved 14 °C med og uten bruk av lufter

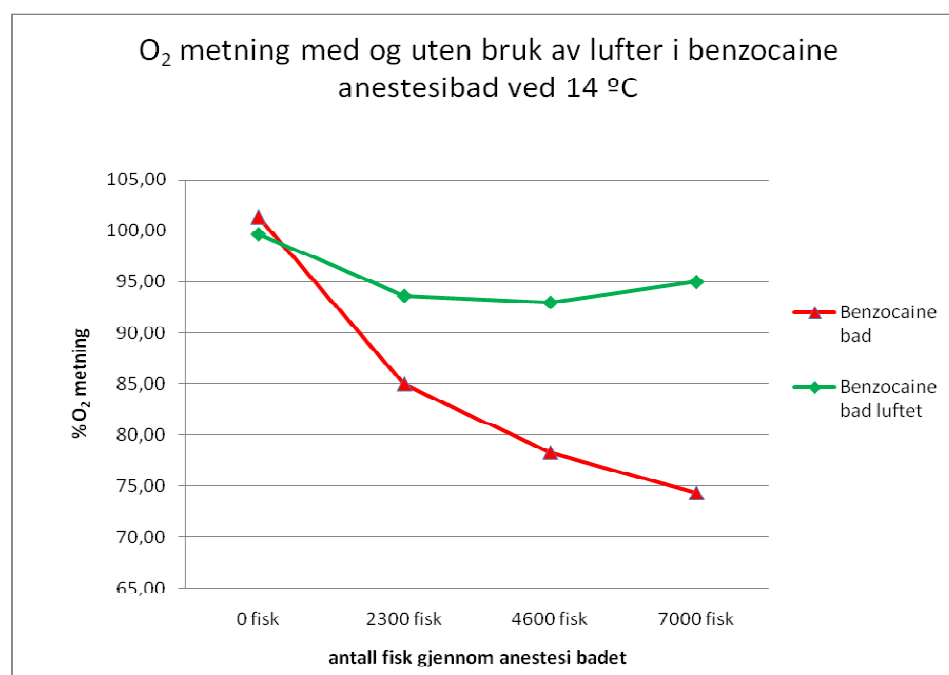


Diagram 6: Oksygen metning i benzocaine anestesibad ved 14 °C med og uten bruk av lufter (n=3)

CO₂ nivå i bedøvelsesbad med og uten lufter

Karbondioksid verdiene som det refereres til her, er gjennomsnittlige verdier.

CO₂ innhold i ubrukt benzocaine bad varierte fra 3,7 – 4,3 mg/l. Etter 8000 fisk var CO₂ mengden i uluftet benzocaine bad økt til 11,3 mg/l. CO₂ innhold i ubrukt metacaine/bikarbonat bad var 28,3 mg/l. Etter 8000 fisk var CO₂ mengden i uluftet metacaine/bikarbonat bad redusert til 20 mg/l.

Ved bruk av lufter var CO₂ mengden etter 8000 fisk i benzocaine bad økt fra 3,7 til 6 mg/l. Tilsvarende for luftet metacaine/bikarbonat bad var CO₂ mengde redusert til fra 28,3 til 6,3 mg/l. Resultatene fremgår av tabell 5 og er fremstilt grafisk i diagram 7 (Niva, 2009 III).

	Antall fisk	Måleserie 1	Måleserie 2	Måleserie 3	Gj.snitt (n=3)
Benzocaine bad	0 fisk	4	4	5	4,3
	2500 fisk	8	6	7	7,0
	5000 fisk	10	9	10	9,7
	8000 fisk	12	10	12	11,3
Benzocaine bad luftet	0 fisk	3	4	4	3,7
	2500 fisk	5	4	8	5,7
	5000 fisk	5	6	9	6,7
	8000 fisk	5	5	8	6
Metacaine bad	0 fisk	30	25	30	28,3
	2500 fisk	30	25	25	26,7
	5000 fisk	25	20	15	20
	8000 fisk	25	15	20	20
Metacaine bad luftet	0 fisk	25	30	30	28,3
	2500 fisk	7	7	9	7,7
	5000 fisk	6	6	6	6
	8000 fisk	7	6	6	6,3

Tabell 5: CO₂ mg/l i benzocaine- og metacaine/bikarbonat anestesibad ved 6 °C med og uten bruk av lufter

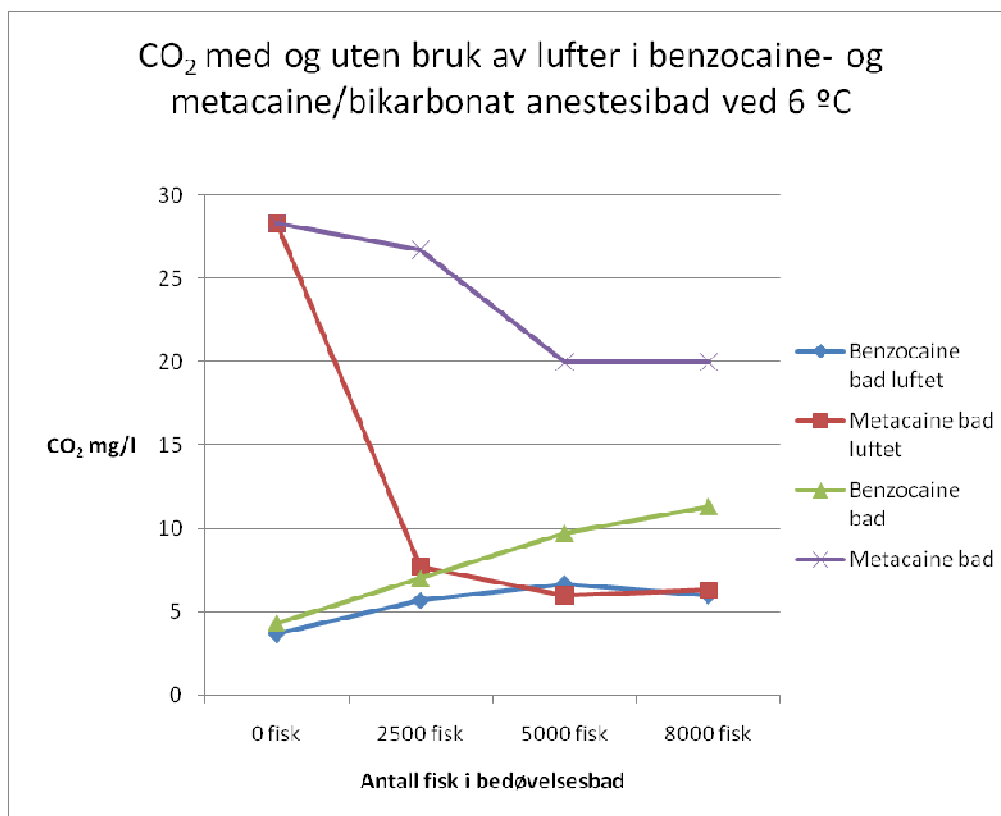


Diagram 7: CO₂ mg/l i benzocaine- og metacaine/bikarbonat anestesibad ved 6 °C med og uten bruk av lufter (n=3)

pH i bedøvelsesbad med og uten bruk av lufter

pH verdiene som det refereres til er gjennomsnittlige verdier for benzocaine.

For metacaine er det bare foretatt en måleserie.

pH i ubrukt benzocaine bad var henholdsvis 6,61 og 6,41. Etter 7000 fisk var

pH i uluftet benzocaine bad redusert fra 6,61 til 6,12. Ved bruk av lufter økte

pH fra 6,41 – til 6,51. Tilsvarende for ubrukt metacaine/bikarbonat bad var pH

på henholdsvis 6,86 og 6,76. Etter 7000 fisk var pH i uluftet

metacaine/bikarbonat bad redusert fra 6,86 til 6,7. Ved bruk av lufter økte pH

fra 6,76 først til 7,56 og sluttverdi ble 7,38. Resultatene fremgår av tabell 5 og

er fremstilt grafisk i diagram 8

	Antall fisk	Måleserie 1	Måleserie 2	Måleserie 3	Gj.snitt (n=3 og 1)
Benzocaine bad	0 fisk	6,58	6,35	6,91	6,61
	2300 fisk	6,1	6,33	6,6	6,34
	4600 fisk	5,99	6,29	6,25	6,18
	7000 fisk	6	6,21	6,14	6,12
Benzocaine bad luftet	0 fisk	6,75	6,23	6,26	6,41
	2300 fisk	6,33	6,25	6,54	6,37
	4600 fisk	6,45	6,3	6,65	6,47
	7000 fisk	6,56	6,32	6,65	6,51
Metacaine bad	0 fisk	6,86	IM	IM	6,86
	2300 fisk	6,67	IM	IM	6,67
	4600 fisk	6,75	IM	IM	6,75
	7000 fisk	6,7	IM	IM	6,7
Metacaine bad luftet	0 fisk	6,76	IM	IM	6,76
	2300 fisk	7,45	IM	IM	7,45
	4600 fisk	7,59	IM	IM	7,59
	7000 fisk	7,38	IM	IM	7,38

Tabell 5: pH i benzocaine- og metacaine/bikarbonat anestesibad ved 14 °C, med og uten bruk av lufter.

(IM - ingen måling foretatt)

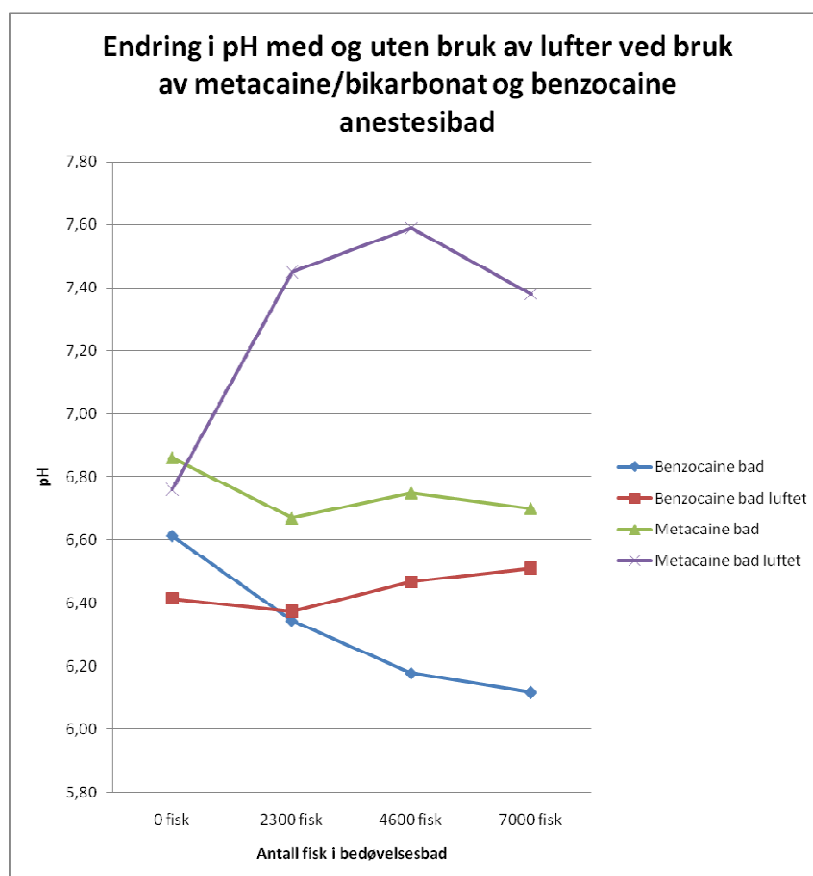


Diagram 8: pH i benzocaine- og metacaine/bikarbonat anestesibad ved 14 °C, med og uten bruk av lufter

(n=3 for benzocaine og n=1 for metacaine/bikarbonat)

TAN i bedøvelsesbad med og uten lufter

TAN verdiene som det refereres til er gjennomsnittlige verdier for benzocaine bad.

TAN i ubrukt benzocaine bad var henholdsvis 0,23 og 0,18. Etter 7000 fisk var TAN verdi i uluftet benzocaine bad økt fra 0,18 til 0,87. Ved bruk av lufter økte TAN verdi fra 0,18 til 1,43. Resultatene fremgår av tabell 6 og er fremstilt grafisk i diagram 9 (Niva, 2009 IV).

	Antall fisk	Måleserie 1	Måleserie 2	Måleserie 3	Gj.snitt (n=3 og 2)
Benzocaine bad	0 fisk	0,135	0,21	0,355	0,23
	2300 fisk	0,375	0,38	0,504	0,42
	4600 fisk	0,73	0,64	0,69	0,69
	7000 fisk	IM	0,88	0,86	0,87
Luftet benzocaine bad	0 fisk	0,071	0,38	0,1	0,18
	2300 fisk	0,7	0,78	0,91	0,80
	4600 fisk	1,2	0,93	0,5	0,88
	7000 fisk	1,9	1,2	1,2	1,43

Tabell 6: TAN verdier (mg/l) i benzocaine anestesibad ved 14 °C, med og uten bruk av lufter

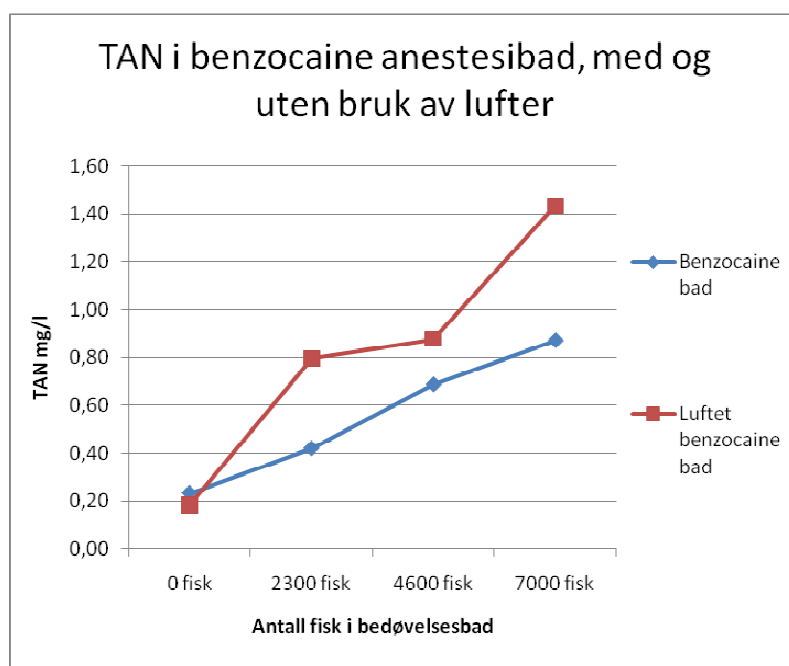


Diagram 9: TAN verdier i benzocaine anestesibad ved 14 °C, med og uten bruk av lufter (n=3 og 2)

Diskusjon

Definisjonen av god vannkvalitet er gjort i med tanke på å sikre godt vann under ulike betingelser gjennom driftsåret i et settefiskanlegg.

Bakgrunn for valg av oksygen nivå mellom 70 – 100 % metning, beror på at enkelte settefiskanlegg har sommertemperaturer opp mot 20 °C under vaksinerings av 0-åring. For å opprettholde tilfredsstillende oksygenivå på mellom 6-7 mg/l (Rosseland, 1999) ved 20 °C, 10 meter over havet, må en ha 70 % metning av oksygen i vannet (Buhner, 2010). Ved lavere temperaturer vil en kunne redusere metningen til 60 % og samtidig ha 6-7 mg/l, men en ønsker samtidig å ha en sikkerhetsmargin for å være bedre rustet til å møte evt utfordringer under praktisk vaksinerings. En ønsker heller ikke at oksygen metningen skal overstige 100 % da dette øker risikoen for det skadelige frie radikalet O_2^- (Steffansson *et al*, 2007; Rosseland, 1999).

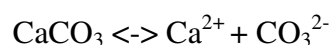
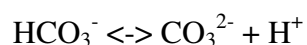
Rosten *et al* (2004) angir optimum for CO_2 mellom 1-10 mg/l. Mattilsynet (2005) oppgir CO_2 grense på < 15 mg/l. Tatt i betraktning kort eksponeringstid i bedøvelsesbadet for CO_2 , har vi lagt til grunn at Mattilsynets krav for CO_2 eksponering er tilfredsstillende. Imidlertid ser vi at lufting av bedøvelsesvann ikke har problem med å oppnå optimumsverdier gjennom hele bedøvelsesprosessen (< 10 mg/l CO_2).

Valget av pH mellom 6-7 er relatert til mengde TAN (NH_4^+/NH_3) som utskilles fra fisken og akkumuleres i badet etter som det blir brukt. Ved høyere pH enn 7 øker risikoen for toksiske verdier av NH_3 , mens pH intervallet mellom 6-7 er langt sikrere med tanke på uheldige konsentrasjoner av NH_3 (Steffansson *et al*, 2007; Rosseland, 1999).

For begge bedøvelsespreparatene avviker doseringene i forhold til hva som er beskrevet i SPC (Summary of Product Characterization) ([Felleskatalogen, 2010; ScanVacc, 2010](#)). Under storskala vaksinasjon av fisk ønskes en innsovningstid på 45 – 60 sekunder. Ved å benytte doseringsanbefalinger som beskrevet i SPC vil en enten få mye lenger innsovningstid, eller varigheten av kort innsovningstid er kortvarig og en må etterfylle bedøvelse. Dette gjør at det har etablert seg en praksis med høyere dosering enn det som er beskrevet i SPC.

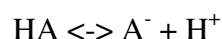
Sentral i diskusjonen er bikarbonat likevekten som en finner i vann og i fiskens blod ([Steffansson et al, 2007; Skjelkvåle et al, 2007; Brix, 1992](#)). Alkalitet i vann er i hovedsak et mål for vannets innhold av bikarbonat (HCO_3^-) og karbonat (CO_3^{2-}). Bikarbonat kommer fra oppløst CO_2 i atmosfæren som står i likevekt med berggrunnens innhold av kalsiumkarbonat (CaCO_3) ([Skjelkvåle et al, 2007](#)).

Slik er likevektene:



Ved tilsetning av CO_2 vil likevekten forskyves mot høyre og det dannes H^+ (syre) og bikarbonat (HCO_3^-). Det motsatte skjer når en tilsetter syre eller bikarbonat, da vil likevekten forskyves mot venstre og det dannes CO_2 og vann.

Denne likevekten forklarer generelt hvordan syrer (HA) vil løse seg i vann fra udissoisert (HA) til ioneformene A^- og H^+ som er dissoisert:



Når syrer skal passere cellemembraner, eksempelvis gjeller og hud, er det den fettløselige udissoiserte formen (HA) som har størst evne til dette. Dissoiserte former (A^- og H^+) forblir i større grad oppløst i vann eller blod (Timbrell, 1982). Eksempelvis vil pH i fiskens blod påvirke i hvor stor grad metacain (syre) vil foreligge som dissoisert eller udissoisert. Acidose betegner en tilstand med lavere pH enn normalt i fiskens blod (Blood & Studdert, 1988).

pH og CO₂ mengde dannet ved tilsetting av metacaine og bikarbonat til råvann.

pH i råvann før tilsetting av metacaine var 7,56. Ved tilsetting av 0,8 g metacaine/10 liter vann sank pH til 5,21. Dette illustrerer at metacaine oppfører seg som en syre siden pH beregnes av $-\log[H^+]$ (negativ logaritme av H^+ konsentrasjon) (Blood & Studdert, 1988 II). Vannet har naturlig bikarbonat tilgjengelig (alkalitet). Syre og bikarbonat reagerer med hverandre og det dannes CO₂, jmf bikarbonat likevekten. CO₂ nivå i vannet øker da fra 3 til 13 mg/l etter tilsetting av metacaine. Det er verdt å merke seg at bruk av en alternativ buffer enn bikarbonat ikke vil endre dette bilde, så lenge det er bikarbonat (alkalitet) tilgjengelig i råvannet. Ved tilføring av 0,8 g/10 liter vann bikarbonat øker pH til 6,88. Dette betyr at H^+ har reagert med bikarbonat og dannet CO₂ og vann. Imidlertid gav dette ikke utslag på målt CO₂ mengde i vannet, den var uforandret 13 mg/l. Dette kan skyldes at endringen i CO₂ var så liten at dette ikke lot seg registrere ved denne målemetoden for CO₂.

Ved bruk av La Motte CO₂ test kit titreres vannprøver for mengde CO₂ ved hjelp av phenolphtalein indikator (1%). Ved avlesning observeres en distinkt lilla farge i vannprøven. Fargeintensiteten gir rom for en subjektiv tolkning av mengde CO₂ i prøven. En valgte derfor i det videre arbeidet å benytte laboratorieanalyse ved Niva Lab i kombinasjon med LaMotte CO₂ testkit, og oppnådde på denne måten en kalibreringskurve for bruk av La Motte test kit (Niva, 2009 II).

Mengde CO₂ i vann ved tilsetning av økende doser metacaine/bikarbonat i vann. Titrering av CO₂ og pH ved økende doser benzocaine i vann

Ved tilsetning av metacaine og bikarbonat i vann ser en at CO₂ mengden vannet øker etter som en øker dosen av metacaine/bikarbonat i vannet. 1,5 – 4,5 gram metacaine/10 liter vann er doser som blir benyttet under stikkvaksinering, avhengig av vanntemperatur og volum på bedøvelsesløsningen. Dette gir CO₂ nivåer på 28 – 84 mg/l (Niva, 2009 II). Titreringskurven viser også at ved bruk av la Motte CO₂ test kit vil en måle lavere dose enn ved bruk av vannprøve innsendt til Niva Lab. Kurven kan derfor benyttes som en kalibreringskurve for La Motte CO₂ testkit.

For benzocaine ser vi ikke noen endring i pH av betydning, etter tilsetning i vann. Benzocaine oppfører seg derfor ikke som en syre. CO₂ endres ubetydelig etter som en øker dosen av benzocaine (0,5 – 2 g/10 liter vann), varierende mellom 3-4 mg/l.

Rosseland (1999) beskriver akutt toksiske verdier for CO₂ i vann mellom 20 – 100 mg/l. Dagens praktiske bruk av metacaine vil gi tilsvarende CO₂ nivåer

som dette. Steffanson *et al* (2007) beskriver at brå endringer i CO₂ nivå kombinert med stress er mer problematisk enn gradvis økning. Videre er CO₂ mest toksisk ved lave temperaturer (Steffansson *et al*, 2007). Under stikkvaksinering påføres fisken stressorer i flere trinn, og CO₂ nivåene som måles er på nivå med akutt toksiske verdier beskrevet av Rosseland (1999). Fra praktisk bruk er det kjent at de høyeste dosene med metacaine, som gir de høyeste CO₂ verdiene (84 mg/l), blir benyttet under de laveste vanntemperaturene. CO₂ er mest toksisk for fisken ved lave vanntemperaturer. (Steffansson *et al*, 2007). Høye CO₂ nivåer kan også oppnås ved uforsvarlig bruk av benzocaine bad hvor en sjelden skifter ut vannet, selv om nivå på > 80 mg/l ansees som usannsynlig høye. Effekten av dette vil være tilsvarende som for metacaine, men forskjellen ligger i at metacaine bad starter med høye nivå av CO₂ forårsaket av bedøvelsestype, mens benzocaine bad må få tilført CO₂ fra fisken som går gjennom badet.

Effekt av høy og lav CO₂ på oppvåkningstid hos laks ved bruk av økende doser metacaine/bikarbonat.

CO₂ i vann påvirker oppvåkningstiden til fisken etter bruk av metacaine. Ved lavt innhold av CO₂ øker oppvåkningstiden, mens den er kortere ved høyt innhold av CO₂. Når en fjerner CO₂ fra metacaine vil fisken få tilsvarende oppvåkningstid som ved bruk av en høy dose benzocaine (benzocaine 2g/10 liter vann). Høy CO₂ mengde i bedøvelsesbad gir acidose (surt) i fiskens blod. Derved foreligger mer av metacaine på udisosiert form (Timbrell, 1987). Dette gir hurtigere membranpassasje for metacaine og derved hurtigere transport ut av fisken og derved raskere oppvåkning i friskt vann.

Ett annet forhold er at 25 – 30 mg/l CO₂ viste seg å ha en ”sedativ” eller kvelende effekt på fisken. Ved overføring til friskt vann skjer gassutveksling raskt og den ”sedative” effekten av CO₂ opphører.

Adferd hos laks eksponert for vann med forhøyet CO₂ mengde, uten anestesi.

Forsøket viste at CO₂ på 25 -30 mg/l i 50 – 70 sekunder gav en fisk som var tydelig beroliget. Umiddelbart etter overføring til vann viste fisken tegn til uro for så å bli mer og mer letargisk (sløv/svimate). Tilstanden kan oppfattes som en delvis kvelning av fisken. Dette nivået av CO₂ tilsvarer bruk av metacaine på 1,5 g/10 liter vann eller et velbrukt benzocaine bad hvor fisken selv har lastet opp vannet med CO₂. Ved bruk av 80 mg/l CO₂ viste fisken enda større grad av uro, panikk og snapping av luft i overflate. CO₂ dosen tilsvarer bruk av metacaine 4,5 g/10 l vann. ”Sleeping disease” hos fisk er beskrevet i sammenheng med CO₂ produksjon fra alger når det er natt, og oppvåkning av fisken med økende O₂ produksjon fra alger når det er dag (Steffanson *et al*, 2007; Rosseland, 1999).

Adferdsbilde indikerer sterkt at dette ikke er forsvarlig fiskevelferd, spesielt tatt i betraktning at det finnes kunnskap om lufting av vann og hvordan en kan ivareta vannkvaliteten tilfredsstillende (Liltved *et al*, 2007). I all biologisk produksjon har det vært ansett som god praksis å prøve å redusere biologisk risiko i produksjonen. I dette tilfellet vil det være fornuftig å forbedre vannmiljøet for å redusere biologisk risiko, redusere stress og forbedre fiskevelferden.

Oksygen nivå i bedøvelsesbad med og uten bruk av lufter

Det har lenge vært vanlig praksis å oksygenere bedøvelsesvannet ved hjelp av oksygen tilsatt ved hjelp av diffusorsteiner, eller ved å bruke superoksygenert driftsvann. Denne type praksis gir ofte overmetning av oksygen, gjerne opp mot 200 % metning. Overmetning av oksygen vil gi risiko for dannelsen av det frie oksygen radikalet superoksid (O_2^-) som påvirker fisken negativt gjennom oksidasjonsprosesser rettet mot cellemembranlipider, transportproteiner og proteinsyntese (Steffanson *et al*, 2007). I tillegg vil respirasjonen styres av blodets O_2 verdier. Høy CO_2 kombinert med superoksygenering reduserer respirasjonen og blodets innhold av CO_2 øker (Steffansson *et al*; 2007).

Kombinasjonen av høy CO_2 og superoksygenering er typisk for metacaine badet, men kan også forekomme for et velbrukte benzocaine bad. Ved bruk av råvann (95 – 100 % oksygen metning), ser en at metacaine badet har en betydelig raskere reduksjon i oksygen nivå enn tilsvarende for benzocaine bad. Dette er trolig relatert til det høye CO_2 nivået i metacaine badet. CO_2 skaper acidose som påvirker hemoglobinetts evne til å binde O_2 negativt, også kalt Root/Bohr effekten (Sigholt & Staurnes, 1992), og dette prøves kompensert ved økt opptak av O_2 . Imidlertid synes det ikke som fisken er i stand til å distribuere oksygenet til muskelvevet tilfredsstillende, slik at en normal fluktreaksjon kan gjennomføres, jmf adferdsbilde ved CO_2 eksponering alene. Benzocaine badet har etter endt bruk fortsatt 78 % oksygen metning og dette er ikke kritisk lavt. Imidlertid er en godt kjent med at vannkvalitet, fiskehelse og lengde på bruk av bedøvelsesbad under vaksineringsprosedyrer, kan variere mye gjennom året. Lufting er et godt egnet tiltak for å stabilisere oksygen nivået i bedøvelsesbadet på rundt 95 % metning, og skape forutsigbarhet under ellers

vekslende forhold. Ved bruk av lufter på bedøvelsesbadet ble det ikke tilsatt ekstra oksygen til vannet, noe som viser at oksygenering er mulig uten tilsetning av oksygen ved hjelp av diffusorstein.

CO₂ nivå i bedøvelsesbad med og uten lufter

Uluftet metacaine bad starter på 28,3 mg/l CO₂ før det er tilsatt fisk i bedøvelsesbadet. Etter endt bruk er CO₂ mengden redusert til 20 mg/l. Dette er fortsatt for høyt i forhold til hva som oppfattes som god vannkvalitet, < 15 mg/l CO₂. Fisken bidrar med eget CO₂ til vannet, men samtidig forbruker fisken den udisosierte formen av metacaine og derved forbrukes det også H⁺ ioner fra vannet. Dette medfører at bikarbonat likevekten drives mot høyre og det forbrukes CO₂ fra vannet til å danne mer H⁺ og bikarbonat. Slik reduseres CO₂ mengden i vannet.

Dersom en skal opprettholde god vannkvalitet under hele bedøvelsesprosessen må metacainebadet luftes før det tas i bruk. Med ACD prototype lufter vil denne prosessen ta ca 10 – 15 minutter for en dose på metacaine 1,5 g/10 liter vann (28 mg/l CO₂). For høyere doser blir det laget mer CO₂ og luftingen vil ta lenger tid (Niva, 2009). For CO₂ belastningen på 28 mg/l vil ca 20 -25 % av biomassen som en bedøver bli eksponert for CO₂ nivå som er høyere enn 15 mg/l, dersom en ikke lufter metacaine badet før bruk. Etter dette varierer CO₂ mengden i badet mellom 6 – 9 mg/l CO₂, noe som er tilfredsstillende vannkvalitet.

For uluftet benzocaine bad ser en at CO₂ starter på 4,3 mg/l og øker til 11,3 mg/l. Dette er fortsatt en tilfredsstillende vannkvalitet, men også her gjelder det at vannkvalitet, fiskehelse og lengde på bruk av bedøvelsesbad under

vaksinering, kan variere mye gjennom året. Resultatene på CO₂ lufting viser at en kan stabilisere CO₂ nivået på et sikkert lavt nivå, i dette tilfellet med en maks verdi på 9 mg/liter CO₂, og slik skape forutsigbart godt vannmiljø. Resultatene viser samlet at lufting er et effektivt tiltak for å stabilisere CO₂ mengden på et lavt nivå (< 15 mg/l) for begge typer bedøvelse.

pH i bedøvelsesbad med og uten bruk av lufter

For benzocaine bad har det ikke vært vanlig å benytte ekstra bikarbonat buffer i vannet, slik som ved metacaine bad. Men det vil være mulig å benytte tilsatt bikarbonat i mengder som gir pH ca 7, som middel til å stabilisere pH, slik en gjør ved metacaine bedøvelse. Når CO₂ tilføres vannet fra fisken vil bikarbonat likevekten forskyves mot høyre og det dannes H⁺ ioner (syre) og pH synker. Dersom en har en råvanns pH på omlag 6,1 – 6,2 før bruk av bedøvelsesbadet, vil en etter endt bruk kunne se pH på ca 5,6 til 5,7. pH fall på uluftet benzocaine bad var i dette tilfellet 0,5 pH enheter. pH på 5,6 – 5,7 kan ved aluminiums forekomst i vannkilden øke risiko for skader på gjeller da en større andel av aluminiumet kan foreligge på toksisk labil form (Stefansson *et al*; 2007; Skjelkvåle *et al*, 2007)). Lufting vil stabilisere pH ved at CO₂ fjernes og bikarbonatlikevekten i vannet forskyves mot venstre, slik at det forbrukes bikarbonat og H⁺, derved øker eller stabiliseres pH i vannet.

For uluftet metacaine vil tilsatt bikarbonat i overskudd fungere som buffer også for tilført CO₂ fra fisken. pH vil derfor ikke endre seg vesentlig etter som en bruker bedøvelsesbadet. pH i luftet metacaine bad derimot, øker vesentlig ettersom en lufter vannet. Ved tilsetning av like mengder bikarbonat som metacaine vil pH i bedøvelsesbadet nå ca 7,6 i dette forsøket. Etter dette ble det

observert en uventet reduksjon i pH helt på slutten av bruken av badet. Dette skyldes at avløp fra bedøvelseskar og inn til lufter ble tettet av en fisk, og slik opphørte lufteren å fungere. CO₂ mengde steg angivelig og pH ble igjen redusert. Økningen i pH kan forklares med at en fjerner CO₂ fra bikarbonat likevekten og derved skyves likevekten til venstre og det forbrukes bikarbonat og H⁺, noe som medfører at pH stiger. Det ble også forsøkt redusert mengde bikarbonat (2/3 av normaldose) og dette medførte at luftingen startet på pH 6,2 og endte på pH ca 7. For høy pH er aktuelt å diskutere i forbindelse med mengde TAN i vannet, da ammoniakk (NH₃) konsentrasjonen øker ettersom pH og temperatur økes (PetGoldFish, 2010; Steffansson *et al*; 2007).

TAN i bedøvelsesbad med og uten lufter

Høyeste verdi TAN registrert er 1,9 mg/l. Ved å omregne TAN til ammoniakk under varierende pH og temperatur vil en se at 1,9 mg/l vil gi ulikt nivå av NH₃ (PetGoldFish, 2010). Dette er beskrevet i diagram 10. Mellom pH 6-7 vil en ha NH₃ nivå som enten er optimale (< 2 µg/l) eller ligger under grense for tålbare NH₃ belastning (2-25 µg/l) for fisken uavhengig om vanntemperaturen er mellom 2- 20 °C i følge (Rosten, 2004). Dersom pH økes til intervallet 7-8 vil NH₃ konsentrasjonen i vannet øke eksponentielt, og for de høyeste vanntemperaturene vil en da nå NH₃ verdier som er knyttet til dødelighet under langtids eksponering (25 – 300 µg/l) (Steffansson *et al*, 2007). NH₃ verdier mellom 25 – 70 µg/l omtales som ”betinget maksimalverdi for NH₃” av Rosten (2004). Dette illustrerer at valget av pH mellom 6-7 er et sikkert område å benytte for bedøvelsesbad med hensyn på NH₃. Videre illustrerer det at en ikke kan lufte bedøvelsesvann for lenge når det er høyt nivå av bikarbonat naturlig

eller tilsatt i vannet, siden pH øker ved lufting og TAN øker ved lengre tids bruk av bedøvelsesvannet, og kombinasjon av høy TAN og høy pH gir høye konsentrasjoner av NH_3 . Dette forhold forsterkes ytterligere ved høye vanntemperaturer. En må derfor skifte badet regelmessig slik at en unngår for høy TAN/pH i vannet. En rettleidende praksis er å skifte badet når det er benyttet til 2 kg biomasse/l bedøvelse (ACD Pharmaceuticals, 2010). Imidlertid kan høye temperaturer og ugunstig pH være grunn for å skifte bedøvelsesløsningen oftere. Ved bruk av bikarbonat og metacaine kan en redusere bikarbonat mengden noe slik at pH i badet starter like i overkant av 6. Under lufting vil en da ikke nå så høye pH verdier i badet som en gjør dersom en starter på pH 7.

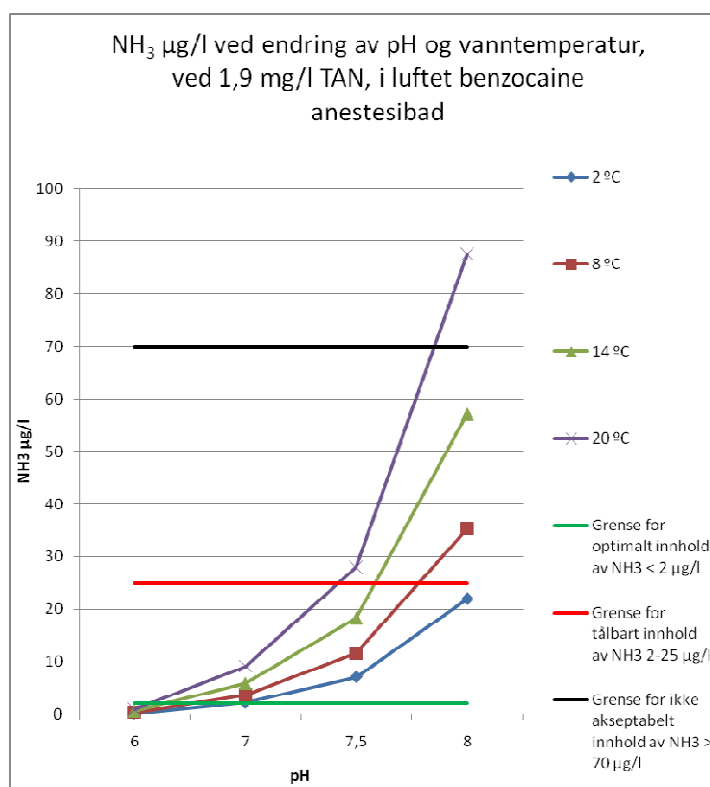


Diagram 10: NH_3 konsentrasjon i benzocaine anestesibad ved varierende vanteperatur og pH og konstant TAN konsentrasjon (beregnet ved hjelp av NH_3 kalkulator)

Oppsummering - Konklusjoner ved bruk av lufter i bedøvelsesbad

Metacaine

- Bedøvelsesvann med metacaine bør luftes før bruk pga høye CO₂ nivå. Lengden på luftetiden varierer med mengden av metacaine. For doser under 2 g/10 liter vann ca 15-20 min. For høyere doser må luftetiden forlenges.
- Vær oppmerksom på bikarbonat i badet. Dersom badet blir bufret til pH 7 etter tilsatt metacaine, vil lufting gi pH > 7,5. I kombinasjon med høy TAN/temp kan det dannes NH₃ av betydning. Skift badet i tide.
- Reduser bruken av bikarbonat slik at pH er ca 6,2. Ved luftig vil da pH ende på ca 7

Benzocaine

- Koble til lufteren og start opp bedøvingen
- Ingen behov for bikarbonat buffer

Begge bedøvelsestyper

- Lufting er en utmerket måte sikre CO₂ lavere enn 10-15 mg/l og O₂ på rundt 95 % gjennom hele bedøvelsesprosessen
- Lufting sikrer en forutsigbar vannkvalitet, optimalisert fiskevelferd og lavere biologisk risiko

Praktisk tilnærming ved bruk av lufter

- Plugg i lufteren
- Mål O₂, CO₂ og pH i bedøvelsesbadet noen ganger, kombinert med vanlig skiftetid av bedøvelsesbadet. Undersøk både vinter og sommer bruk av bedøvelsesbadet.

O₂, CO₂ og pH skal være innenfor definert god vannkvalitet. Justering om nødvendig.

- Etablere Standard Operasjons Prosedyre (SOP)

Takk til

ACD Pharmaceuticals retter stor takk til samarbeidspartnere:

Willy Skålevik, Jesper Økland, Kristian Straume Lie ved Lerøy Vest AS, avd

Tau

Lennart Lillestøl, Villa Smolt AS

Martin Iversen, Robert Eliassen, Høgskolen i Bodø

Summary

Atlantic salmon (*Salmo salar*) is exposed to several stressors in connection with injection vaccination, and one of these stressors can be poor water quality in the anesthetic bath. The fish will on its own create poor water quality due to consumption of oxygen and excretion of CO₂ and NH₄⁺/NH₃. Anesthetic product has an impact on water quality as well. Metacaine anesthesia and bicarbonate (natural water alkalinity or added bicarbonate buffer) will give high CO₂ levels in the bath, even before the fish is exposed to the bath, given doses suitable for practical vaccination. Comparable, benzocaine anesthesia does not produce such CO₂ levels. In Atlantic salmon, metacaine anesthesia combined with high CO₂ levels will give shorter recovery time, compare to metacaine anesthesia combined with low CO₂ levels. Fish behavior caused by the relevant CO₂ levels, without anesthesia, vary from lethargy, uneasy behavior, panic and “air snapping” in the water surface. Water quality parameters are discussed in

relation to what known impact poor water quality has on the fish physiology. The article also explain the interaction between fish, water, anesthesia and aeration, and describe how to create good and stable water quality (O₂, CO₂, pH and NH₃) in the anesthetic bath by taking advantage of aeration technology.

Referanser

ACD Pharmaceuticals, 2010. Best practice. Anbefalt skiftetid på bedøvelsesvann

Blood D., Studdert V., 1988. Acidosis. Robert CJ (ed). Bailliers Comprehensive Veterinary Dictionary. London, Bailliere Tindall 1988: 9

Blood D., Studdert V., 1988 II. pH. Robert CJ (ed). Bailliers Comprehensive Veterinary Dictionary. London, Bailliere Tindall 1988: 693

Brix O., 1992. Transport. Karbondioksyd. Syre-base regulering. Regulering av kroppsvæsker. Kap 5: Døving K og Reimers E (eds). Fiskens Fysiologi. Oslo: John Grieg Forlag 1992:222-223.

Buhrer H., 2010. <http://www.hbuehrer.ch/Rechner/O2satur.html>

Felleskatalogen over preparater i veterinærmedisinen, 2010. Benzoak. Anestetikum. Konsentrat til bad til laks og ørret. Fagbokforlaget 2010: 21. utgave: 27

Liltved H., Rosseland BO., Vogelsang C., Åtland Å., 2007. Kap. 5. Vannbehandling. Lufting av vann og fjerning av CO₂. Bjerknes V. (red) *et al.* Vannkvalitet og smoltproduksjon. Trondheim: Juul Forlag 2007: 175-177

Mattilsynet, 2005. Merknader til Forskrift 22. desember 2004 nr. 1785 om drift av akvakulturanlegg (akvakulturdriftsforskriften). Til § 21 Vannkvalitet i landbaserte akvakulturanlegg. Fiskeri- og kystdepartementet. Oslo, 2005: 24-25

Norsk Institutt for Vannforskning, 2009 II. Analyserapport for ACD Pharmaceuticals AS. Niva ref. Jnr. 1912/09. 2009, desember

Norsk Institutt for Vannforskning, 2009 III. Analyserapport for ACD Pharmaceuticals AS. Niva ref. Jnr.1977/09 . 2009, desember

Norsk Institutt for Vannforskning, 2009 IV. Analyserapport for ACD Pharmaceuticals AS. Niva ref. Jnr.1452/09 . 2009, september

Norsk Institutt for Vannforskning, 2009. Project 29310 Report. Evaluation of Aerator for anesthetic bath from ACD Pharmaceuticals AS. Niva ref 1120/2009: 3

Pet Gold Fish, 2010. <http://www.petgoldfish.net/ammonia-calculator.html>

Pharmaq, 2010, desember. <http://www.pharmaq.no/Products/Therapy/index.html>.

Rosseland BO.,1999 Vannkvalitetens betydning for fiskehelsen. Del 9, Ikke infeksjose sykdommer. Ammoniakk/ammonium. Poppe T. (red) *et al.* Fiskehelse og fiskesykdommer. Oslo: Universitetsforlaget 1999. 2. opplag 2002: 244-245

Rosseland BO.,1999 Vannkvalitetens betydning for fiskehelsen. Del 9, Ikke infeksjose sykdommer. Karbondioksid. Poppe T. (red) *et al.* Fiskehelse og fiskesykdommer. Oslo: Universitetsforlaget 1999. 2. opplag 2002: 243-244

Rosseland BO.,1999 Vannkvalitetens betydning for fiskehelsen. Del 9, Ikke infeksjose sykdommer. Oksygen. Poppe T. (red) *et al.* Fiskehelse og fiskesykdommer. Oslo: Universitetsforlaget 1999. 2. opplag 2002: 241

Rosten T., Åtland Å., Kristensen T., Rosseland BO., Braathen B., 2004. Vannkvalitet relatert til dyrevelferd. Angivelse av grenseverdier. OPPDRAG NR.: 200440 / 11 88 67 ved KPMG for Mattilsynet. Trondheim 2004: 21

Scan Vacc, 2010, desember. <http://www.scanvacc.com/scanvacc/andre-terapeutika/finquel>.

Sigholt, T., Staurnes, M., 1992. Hypoxi. Ulike stressfaktorer. Stress. Miljørelatert fysiologi kap 10: Døving, K og Reimers, E (eds). Fiskens Fysiologi. Oslo: John Grieg Forlag 1992: 388-389

Skjelkvåle BL., Bjerknes V., Hindar A., Kaste Ø., Kristensen T., Rosseland BO., Salbu B., Teien HC., Åtland Å., 2007. Kap. 2. Vannkjemi. Ustabile blandsoner og tilstandsformer av aluminium, jern og mangan. Aluminiums tilstandsformer. Bjerknes V. (red) *et al.* Vannkvalitet og smoltproduksjon. Trondheim: Juul Forlag 2007: 85-86

Skjelkvåle BL., Bjerknes V., Hindar A., Kaste Ø., Kristensen T., Rosseland BO., Salbu B., Teien HC., Åtland Å., 2007. Kap. 2. Vannkjemi. Ioner og ionebalanse. Syre-base forhold (pH, alkalitet, ANC). Bjerknes V. (red) *et al.* Vannkvalitet og smoltproduksjon. Trondheim: Juul Forlag 2007: 58-59

Steffanson S., Bjerknes V., Bjørn PA., Bæverfjord G.; Finn N., Finstad B., Fivelstad S., Handeland S., Hosfeld CD., Kristensen T., Kroglund F., Nilsen T., Rosseland BO., Rosten T., Salbu B., Teien HC., Toften H., Åtland Å., 2007. Kap. 3. Fysiologiske egenskaper ved rogn yngel og smolt. *Karbondioksid*. Bjerknes V. (red) *et al.* Vannkvalitet og smoltproduksjon. Trondheim: Juul Forlag 2007: 110-111

Steffanson S., Bjerknes V., Bjørn PA., Bæverfjord G.; Finn N., Finstad B., Fivelstad S., Handeland S., Hosfeld CD., Kristensen T., Kroglund F., Nilsen T., Rosseland BO., Rosten T., Salbu B., Teien HC., Toften H., Åtland Å., 2007. Kap. 3. Fysiologiske egenskaper ved rogn yngel og smolt. *Oksygen*. Bjerknes V. (red) *et al.* Vannkvalitet og smoltproduksjon. Trondheim: Juul Forlag 2007: 114

Steffanson S., Bjerknes V., Bjørn PA., Bæverfjord G.; Finn N., Finstad B., Fivelstad S., Handeland S., Hosfeld CD., Kristensen T., Kroglund F., Nilsen T., Rosseland BO., Rosten T., Salbu B., Teien HC., Toften H., Åtland Å., 2007. Kap. 3. Fysiologiske egenskaper ved rogn yngel og smolt. *Oksygenopptak*. Bjerknes V. (red) *et al.* Vannkvalitet og smoltproduksjon. Trondheim: Juul Forlag 2007: 105

Steffanson S., Bjerknes V., Bjørn PA., Bæverfjord G.; Finn N., Finstad B., Fivelstad S., Handeland S., Hosfeld CD., Kristensen T., Kroglund F., Nilsen T., Rosseland BO., Rosten T., Salbu B., Teien HC., Toften H., Åtland Å., 2007. Kap. 3. Fysiologiske egenskaper ved rogn

yngel og smolt. *TAN – Totalamonium-nitrogen*. Bjerknes V. (red) *et al.* Vannkvalitet og smoltproduksjon. Trondheim: Juul Forlag 2007: 112-113

Stoskopf M., 1993. *Fish Medicine*. W.B Saunders. Philadelphia

Timbrell JA., 1982. The degree of ionization. Factors affecting toxic responses: disposition. *Principles of biochemical toxicology*. London: Taylor and Francis Ltd 1982: 25

Wikipedia, 2010, desember. <http://no.wikipedia.org/wiki/Natron>