

# Sedasjon reduserer laksens systemiske opptak av lusemiddel

**Medikamentell badebehandling av laks mot lakselus følges i enkelte tilfeller av akutt eller subakutt dødelighet. Årsakene til dødelighet forblir ofte uavklarte, men er sannsynligvis varierende og multifaktorielle. Forgiftning etter høyt systemisk opptak av legemiddel beregnet på utvortes bruk antas å være en av faktorene. To kontrollerte studier indikerer at sedasjon med isoeugenol kan være et mulig tiltak for å redusere fare for forgiftning med deltametrin.**

**Lars A. Speilberg**

Scanvacc AS  
Postboks 233, 2151 Årnes  
lars.speilberg@scanvacc.com

**Jon Inge Erdal**

Scanvacc AS

**Ole Kristian Kaurstad**

Scanvacc AS

**Keywords:** Atlantic salmon *Salmo salar* L., *Lepeophtheirus salmonis*, sedation, isoeugenol, deltamethrin

## Innledning

### Avlusning

Infestasjon med lakselus (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer) er en betydelig utfordring for norsk oppdrett av laks og regnbueørret. Et økende antall mottakelige individer i merdene og stigende havtemperaturer de senere årene har lagt forholdene godt til rette for lusa, og skaper et betydelig smittepress både for oppdrettet og vill fisk (1, 2). Av hensyn til vill laksefisk har Mattilsynet fastsatt strenge grenser for maksimalt antall tillatte lus pr. individ, såkalte tiltaksgrenser. Dette utløser i sin tur hyppige avlusninger for å etterleve tiltaksgrensene.

Mye av avlusningen foregår i dag medikamentelt ved hjelp av bad i merd med lukket presenning eller i brønnbåt. Medikamentene som benyttes er deltametrin, cypermetrin, azametifos og hydrogenperoksid. Medikamentene benyttes fortrinnsvis alene, men bruk av azametifos sammen med enten deltametrin eller cypermetrin forekommer. Bruk av legemidler mot lakselus viser en klar stigning de siste 5 år beregnet som mengde aktiv substans. I 2008 ble det i Norge benyttet i alt 137 kg aktiv substans av de nevnte bademidlene, hydrogenperoksid ikke medregnet. Forbruket var i 2014 økt til 4950 kg (3). I resultatrapporten for 4. kvartal 2014 angir Marine Harvest at selskapets medikament-

kostnader forbundet med avlusning i Norge hadde økt med 70 % mot samme periode året før (4).

Parallelt med økende bruk av bademidler har man registrert nedsatt følsomhet hos lus for flere av midlene. Dette er beskrevet allerede i 2002 (5), og er igjen diskutert i 2012 (6). Spesifikk resistens mot deltametrin i norske populasjoner av lakselus er beskrevet allerede i 2003 (7). Dette fører i første omgang til behov for høyere doser for å oppnå ønsket effekt, slik at sikkerhetsmarginene opp til doser som kan være toksiske for fisken minker.

Tap etter badeavlusninger forekommer fra tid til annet, og er problematisk både ut fra dyrevelferd og økonomi. I et debattinnlegg om fiskevelferd i Norsk veterinærtidsskrift refereres det til at flere anlegg mistet mellom 100 og 200 tonn laks hver i forbindelse med behandlinger i 2013 og 2014 (8). Årsaken til dødeligheten forblir ofte uavklart, men er sannsynligvis sammensatt. Syk eller svekket fisk, lave oksygennivåer under behandlingen, stresspåkjenning og forgiftning med lusemiddelet spiller sannsynligvis en rolle i varierende innbyrdes grad, men det foreligger lite offentlig tilgjengelig statistikk på dette.

### Deltametrin

Akutt toksisitet av deltametrin i fisk er høy (9). LD<sub>50</sub> for fisk under laboratorieforhold er i området 1-10 µg/l (10). Toksisiteten påvirkes av dose, eksponeringstid og vanntemperatur. Symptomer ved høy dose og/eller for lang behandlingstid er likevektsforstyrrelser, atferdsendringer, fisken gisper etter luft i overflaten, pigmentforandringer og dødsfall. En lang rekke forhold øker faren for medikamentell forgiftning ved badebehandling; lave vanntemperaturer, fisk med store sårskader, bruk av urene nøter og strømstille (9).

Praktiske utfordringer ved gjennomføringen av behandlingen kommer på toppen av dette. Feilberegning av volum i presenning eller brønn, ujevn utdosering av stamløsningen og dårlig fordeling i vannvolumet kan føre til at fisk utsettes for høyere konsentrasjoner enn anbefalt av produsenten.

### Sedasjon

Sedasjon er en beroligende effekt som kan oppnås ved å gi lave doser av et anestesimiddel. Bevissthet og likevekt beholdes, men reaksjonen på sensoriske inntrykk reduseres og dermed innvirkningen på fiskens adferd og fysiologi. Fisken svømmer roligere og ventilerer mindre (11).

Aqui-S® vet. er et legemiddel med norsk markedsføringstillatelse for bruk til sedasjon av laks og regnbueørret ved håndtering. Det aktive virkestoffet er isoeugenol (540 mg/ml). Anbefalt dose for sedasjon er 2-5 mg isoeugenol/l (12), tilsvarende 4-10 ml Aqui-S pr. m<sup>3</sup>. Fra New Zealand foreligger det rapporter om gunstige effekter av sedasjon med isoeugenol ved behandlinger av fisk, blant annet mot Amoebic gill disease (AGD) forårsaket av *Paramoeba perurans* (13). Fisken viste lavere stressrespons, målt via kortisolnivåer i blod, og langsommere reinfestasjon med amøben.

For å undersøke hvorvidt redusert stress og forgiftningsfare kunne oppnås ved sedasjon under badebehandling mot lakselus ble det i september 2013 gjennomført et kontrollert forsøk ved Helgeland Havbruksstasjon på Dønna i Nordland. Deler av resultatene fra dette forsøket ble så verifisert ved et nytt forsøk på VESO Vikan i Namsos i desember 2013.

### Forsøk 1 - Helgeland Havbruksstasjon

#### Materiale og metoder

Det ble brukt to firkantede småmerder (5 x 5 meter). Hver merd inneholdt 150 Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) med snittvekt på 2 kilo. Vanntemperaturen var 12 °C. Det var svært lite lus på fisken, så avlusningseffekt ble ikke undersøkt.

Merdene ble linet opp til 4 meters dybde, og en spesialsydd presenning med volum på 100 m<sup>3</sup> ble satt umiddelbart før behandling.

Kontrollmerden skulle avluses etter vanlig regime for lokaliteten. Dette innebar samtidig bruk av deltamethrin 10 mg/ml konsentrat til behandlingsløsning (Alpha Max® vet. – Pharmaq) og azametifos 500 mg/g pulver til suspensjon (Salmosan® vet. - Fish Vet Group Ltd.), begge dosert etter produsentenes anbefaling på hhv. 0,2 ml konsentrat og 0,2 gram pulver per m<sup>3</sup>. Holdetiden var 30 minutter. Etter utdosering ble det imidlertid klart at presenningen ikke var optimalt fylt med vann. Volumet ble skjønnsmessig anslått til ca. 70 % av fullt volum, og effektiv konsentrasjonen dermed drøye 40 % høyere enn planlagt.

Testmerden skulle avluses på samme måte som kontrollmerden, med forskjell at det skulle tilsettes 4 ml Aqui-S® pr. m<sup>3</sup> etter at presenningen var satt. Etter 15 minutter skulle deretter merden avluses etter samme regime som for merd 1. På testmerden ble presenningen satt optimalt, slik at volumet var nær 100 m<sup>3</sup>. For å kompensere for volumavviket i merd 1 ble dosen av Alpha Max® øket med 50 %, til 0,3 ml/m<sup>3</sup>. Dosen av Salmosan® ble imidlertid holdt uforandret på 0,2 gram/m<sup>3</sup> på grunn av frykt for akutt forgiftning.

Det ble tatt prøver av 5 fisk per merd før behandling og 10 fisk per merd etter behandling. Fisken ble håvet fra merdkanten og straks overført til en stamp med høy konsentrasjon av Aqui-S® (100 ml/m<sup>3</sup>). Dette gir rask innsovning og minimal økning av kortisolnivåene som følge av bedøvelsen per se. Det ble deretter tatt ut blodprøver av hver fisk på hepariniserte glass. Laktatmåling ble gjort på stedet på fullblod ved hjelp av håndholdt måler (Lactate Scout, SensLab GmbH, Tyskland). Blodprøvene ble deretter sentrifugert, plasma frosset ved -20 °C og sendt Norges Veterinærhøgskole for analyse for cortisol (ELISA). Det ble til slutt tatt ut lever av de 20 individene som ble samlet etter endt behandling. Leverprøvene ble frosset ved -20 °C og sendt Eurofins Food Testing Norway AS for analyse (Metode: ASU L00.00-34) for innhold av deltametrin.

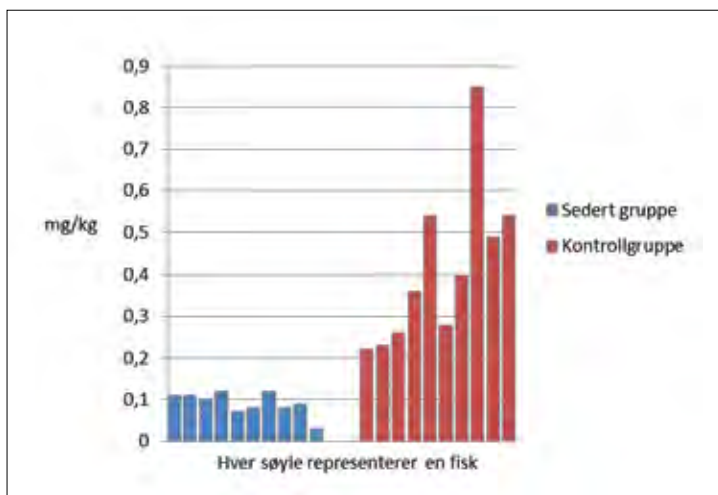
Analyseresultatene for gruppene ble behandlet i programmet IBM SPSS Statistics ver. 22 ved bruk av Students t-test for sammenlikning av gjennomsnitt (p = 0,05) og Levenes test for sammenlikning av varians (p = 0,05).

### Resultater

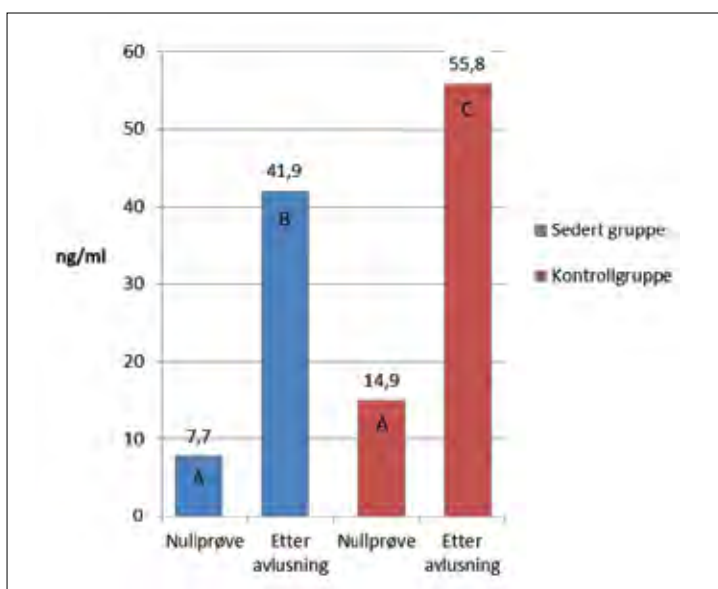
Fisken i kontrollmerden viste forgiftningstegn etter ca. 20 minutters behandling. Det ble observert hoderisting, gaping og apatisk oppførsel. I løpet av 1 døgn døde 12 fisk (9 %).

Fisken i testmerden viste lett hoderisting etter 20 minutter. Det var ingen dødelighet etter 1 døgn i denne merden.

Fisk fra testmerden, som var sedert med isoeugenol, hadde betydelig lavere innhold av deltametrin i lever ved avsluttet behandling (se Tabell 4). Forskjellen var statistisk signifikant. Det var også signifikant lavere



Figur 1. Individuelle registreringer – deltametrin i lever – Helgeland Havbruksstasjon.



Figur 2. Nivå av kortisol i blod – Helgeland Havbruksstasjon. Søylar med samme bokstav er ikke signifikant forskjellige.

variasjon i nivåene i sedert gruppe (se Tabell 1 og Figur 1).

Tabell 1. Innhold av deltametrin i lever – Helgeland Havbruksstasjon.

	Antall fisk	Gjennomsnitt (mg/kg)	Standardavvik
Sedert gruppe	10	0,09	0,02
Kontrollgruppe	10	0,42	0,20

Det var ikke signifikante forskjeller i kortisolnivå før behandling, men testgruppen, som var sedert under avlusningen, hadde signifikant lavere kortisolnivåer i blod etter endt behandling (Figur 2).

Gjennomsnittlige laktatnivåer målt etter avlusning indikerer også mindre stress i sedert gruppe (Figur 3), men forskjellen var her ikke signifikant ( $p=0,16$ ).

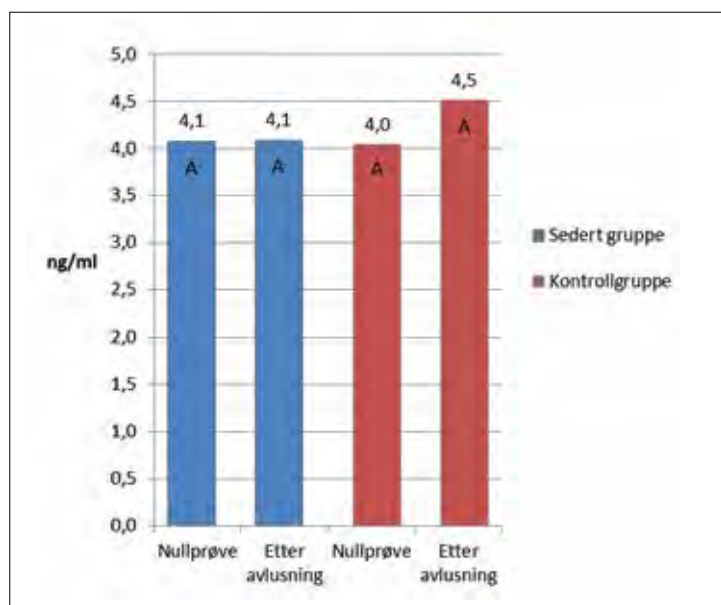
## Forsøk 2; VESO Vikan

Forskjellene i leverkonsentrasjonene av deltametrin fra Helgeland Havbruksstasjon var oppsiktsvekkende store. Avvikene rundt behandlingsvolum og dosering skapte imidlertid usikkerhet rundt legitimiteten av resultatene. Det ble derfor besluttet å kjøre et mindre oppfølgingsforsøk under kontrollerte forhold spesielt med tanke på å verifisere forskjellene i innhold av deltametrin i lever. Forsøket ble bestilt på VESO Vikan i Namsos, og ble gjennomført i april 2014.

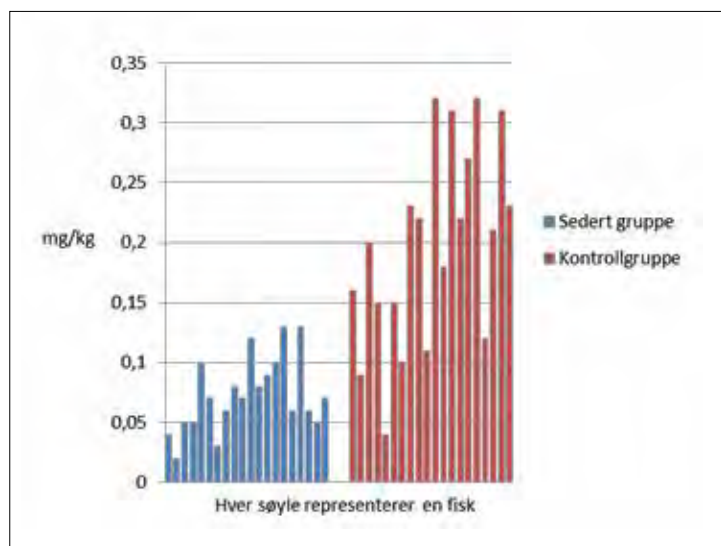
## Materiale og metoder

Det ble benyttet smolt av Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) med vekt 100-150 gram, holdt i sjøvann ved 12 °C. Det var ikke lus på fisken. Testgruppe og kontrollgruppe ble holdt i 2 separate tanker, hver med 20 fisk.

Kontrollgruppen ble behandlet med deltametrin (Alpha Max® vet.) uten forutgående sedasjon. Vann-



Figur 3. Nivå av laktat i blod – Helgeland Havbruksstasjon. Søylar med samme bokstav er ikke signifikant forskjellige.



Figur 4. Individuelle registreringer – deltametrin i lever – VESO Vikan.

strømmen til tanken ble stoppet, og vannet oksygenert. Etter 15 minutter med stabilt oksygenivå på over 70 % ble det tilsatt 0,4 ml Alpha Max® pr. m<sup>3</sup>. Det ble bevisst valgt å gå over produsentens doseanbefalinger, siden formålet med forsøket nettopp var å undersøke om sedasjon kunne redusere konsekvensene av høye konsentrasjoner.

Testgruppen ble først sedert med isoeugenol (Aqui-S® vet.) og deretter behandlet med deltametrin (Alpha Max® vet.) på samme måte som kontrollgruppen. Vannstrømmen til tanken ble stoppet, vannet ble oksygenert og tilsatt 5 ml Aqui-S® pr. m<sup>3</sup>. Etter 15 minutter med stabilt oksygenivå på over 70 % ble det tilsatt 0,4 ml Alpha Max® pr. m<sup>3</sup>.

I begge tanker ble fisken lett stresset umiddelbart etter utdosering av Alpha Max® ved å røre i tanken i to minutter med en håv. Etter 30 minutters behandlingstid

i deltametrin ble fisken avlivet ved slag mot hodet. Lever fra all fisk ble frosset individuelt ved -20 °C og sendt Eurofins Food Testing Norway AS for analyse (Metode: ASU L00.00-34) for innhold av deltametrin.

Analyseresultatene for gruppene ble behandlet i programmet IBM SPSS Statistics ver. 22 ved bruk av Students t-test for sammenlikning av gjennomsnitt ( $p = 0,05$ ) og Levenes test for sammenlikning av varians ( $p = 0,05$ ).

## Resultater

Det var ingen dødelighet eller forgiftningssymptomer på fisk i noen av gruppene i løpet av de 30 minuttene behandlingen med deltametrin pågikk. Fisk som var sedert med isoeugenol hadde igjen signifikant lavere innhold av deltametrin i lever ved avsluttet behand-

ling (se Tabell 2). Det var også denne gang signifikant lavere spredning i sedert gruppe (se Tabell 2 og Figur 4).

Tabell 2. Innhold av deltametrin i lever – VESO Vikan.

	Antall fisk	Gjennomsnitt (mg/kg)	Standardavvik
Sedert gruppe	20	0,07	0,03
Kontrollgruppe	20	0,20	0,08

## Diskusjon

Resultatene fra begge forsøkene viste betydelig lavere nivåer av deltametrin i lever etter 30 minutters badebehandling med Alpha Max® når fisken var sedert. Dette skyldes sannsynligvis lavere opptak fra vannet. I forsøk 1, ved Helgeland Havbruksstasjon, var nivåene nær 5 ganger så høye i kontrollgruppen, mens nivåene i forsøk 2, ved VESO, var nær 3 ganger så høye. Variasjonen mellom individuell fisk var dessuten betydelig lavere blant sedert fisk.

Forsøket på Helgeland Havbruksstasjon var beheftet med noen avvik, spesielt hva angår konsentrasjonen av azametifos som ble brukt sammen med deltametrin ved avlusningen. Det er derfor vanskelig å tilskrive hele den observerte forskjellen til bruk av sedasjon. Under oppfølgingsforsøket ved VESO var imidlertid alle andre betingelser identiske, og resultatene styrker hypotesen om at sedasjon reduserer uønsket opptak av lusemiddel fra vannet.

Deltametrin absorberes hovedsakelig over gjeller. Det fordeles til alle organer og vev og skilles ut via lever og galle. Det er dermed nærliggende å tenke seg at ulik grad av ventilering over gjellene kan være med på å forklare forskjellene i deltametrinkonsentrasjon i lever. Leverandøren opplyser at absorpsjon over gjellene skjer kun i liten grad ved kort behandling (30 minutter) (9). I våre forsøk var imidlertid absorpsjonen betydelig. Konsentrasjonen av deltametrin i vannet under behandlingen ved VESO-forsøket var 0,004 mg/liter, mens gjennomsnittlig innhold i lever i kontrollgruppen var 0,2 mg/kg, dvs. 50 ganger høyere, altså en betydelig oppkonsentrering i lever.

Stressreaksjon fører til økte nivåer av katekolaminer og kortikosteroider i fiskens blod (14, 15). Dette stimulerer til økt ventilering, økt hjerteaktivitet og større blodgjennomstrømning over gjellene (16, 17, 18). Badebehandling med formalin er vist å øke gjellefrekvensen betydelig hos regnbueørret (19). Det er derfor sannsynlig at det betydelige stresset forbundet med avlusning; trengning av fisken, setting av presenning, varierende oksygenivåer i vannet og tilførsel av lusemiddel, øker både ventilering og blodsirkulasjon over gjellene og dermed opptaket av deltametrin.

Sedasjon er en beroligende effekt, og kan betraktes som et lavt eller innledende stadium av anestesi. På fisk

er det vanlig å dele anestesidybden i fire nivåer, hvert nivå definert ut fra fysiologiske og atferdsmessige kriterier. Det letteste nivå er sedasjon, som blant annet er karakterisert ved langsommere respirasjon, samt mindre følsomhet for ytre stimuli (11, 20). Den nedsatte følsomheten under sedasjon er i tallrike forsøk vist å kunne redusere fiskens stressreaksjon ved håndtering (21, 22, 23, 24). Kortisolanalysene etter forsøket på Helgeland Havbruksstasjon peker i samme retning. Konsentrasjonen av azametifos var imidlertid ikke identisk i de to merdene, slik at resultatene må tolkes med et visst forbehold.

Samlet sett er det sannsynlig at sedasjon med isoeugenol senket fiskens opptak av deltametrin fra vannet gjennom stressreduksjon, som senket gjellefrekvensen og gav lavere blodsirkulasjon over gjellene enn i kontrollgruppen.

Forskjellene i deltametrinnivå i lever mellom sedert og usedert gruppe var størst i forsøket ved Helgeland Havbruksstasjon. Dette kan ha sammenheng med mer stress ved denne avlusningen. Opplining av merd, trening og setting av tett presenning antas å være en større påkjenning for fisken enn omrøringen med håv som ble gjort i forsøket ved VESO.

Redusert opptak av deltametrin vil øke den terapeutiske indeksen, dvs. forholdet mellom konsentrasjonen som gir forgiftning og konsentrasjonen som gir ønsket avlusningseffekt. Våre forsøk indikerer at sedasjon med Aqui-S kan være et mulig tiltak for å oppnå redusert opptak, og dermed lavere risiko for medikamentindusert forgiftning. Økt terapeutisk indeks er av spesiell verdi ved behandling av lus med nedsatt følsomhet, og i tilfeller med usikkert behandlingsvolum eller fare for hot-spots på grunn av dårlig fordeling av bademiddelet.

Samme mekanisme kan tenkes å gjelde også andre virkestoffer med liten terapeutisk indeks, og hvor det er erfart dødelighet i forbindelse med badebehandling, men dette er foreløpig ikke dokumentert.

## Sammendrag

Badebehandling mot lakselus innebærer stress for fisken og følges av og til av dødelighet. Forgiftning med lakselusmiddel antas å være en av grunnene til dødelighet. Det ble derfor gjennomført to kontrollerte forsøk for å undersøke om stress og fare for forgiftning med deltametrin kan reduseres ved å sedere fisken med isoeugenol under avlusningen.

Forsøkene viste lavere kortisolnivåer hos sedert fisk etter avlusning, og betydelig lavere innhold av deltametrin i lever på sedert fisk. Man antar at sedasjonen senket fiskens opptak av deltametrin fra vannet ved å redusere stressindusert økning i ventilering og blodsirkulasjon over gjellene.

Resultatene indikerer at sedasjon med isoeugenol kan være et aktuelt tiltak for å redusere risiko ved slik badebehandling.

## Summary

Bath treatments against lice lead to stress for the fish and are occasionally followed by mortality. Poisoning by the sea lice drug is believed to be one of the factors that may contribute to such losses. Therefore, two controlled trials were conducted to investigate whether stress and risk of poisoning may be reduced by sedating Atlantic salmon with isoeugenol during delousing with deltamethrin.

The experiments demonstrated that sedation reduced the cortisol response in salmon following delousing, and significantly lowered the content of deltamethrin in the liver. It is believed that sedation lowered uptake of deltamethrin from the water by mitigating stress-induced increase in ventilation and blood flow over the gills.

The results indicate that sedation with isoeugenol could be a relevant measure to reduce the risk of such bath treatments.

## Mulige interessekonflikter

Lars A. Speilberg

Er fast ansatt i ScanVacc AS og innehar aksjer i bedriften. Scan Aqua AS er et heleid datterselskap av ScanVacc AS og innehar markedsføringstillatelse for Aqui-S i Norge.

Jon Inge Erdal

Er fast ansatt i ScanVacc AS og innehar aksjer i bedriften. Scan Aqua AS er et heleid datterselskap av ScanVacc AS og innehar markedsføringstillatelse for Aqui-S i Norge.

Ole Kristian Kaurstad

Er fast ansatt i ScanVacc AS og innehar aksjer i bedriften. Scan Aqua AS er et heleid datterselskap av ScanVacc AS og innehar markedsføringstillatelse for Aqui-S i Norge.

## Referanser

- Gjelland KO, Serra-Llinares RM, Hedger RD, Arechavala-Lopez P, Nilsen R, Finstad B et al. Effects of salmon lice infection on the behaviour of sea trout in the marine phase. *Aquac Environ Interact* 2014; 5: 221-33.
- Torrissen O, Jones S, Asche F, Guttormsen A, Skilbrei OT, Nilsen F et al. Salmon lice : impact on wild salmonids and salmon. *J Fish Dis* 2013; 36: 171-94
- Grave K, Horsberg TE. Forbruket av lakselusmidler er høyt og øker fortsatt. Folkehelseinstituttet. <http://www.fhi.no/artikler/?id=114175> (6.3.2015)
- Marine Harvest Group. Quarterly Report Q4/2014. <http://hugin.info/209/R/1891569/669839.pdf> (4.2.2015)
- Denholm I, Devine GJ, Horsberg TE, Sevatdal S, Fallang A, Nolan DV et al. Analysis and management of resistance to chemotherapeutants in salmon lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Pest Manag Sci* 2002; 58: 528-36.
- Igboeli OO, Burka JF, Fast MD. *Lepeophtheirus salmonis*: a persisting challenge for salmon aquaculture. *Anim Front* 2002; 4: 22-32.
- Sevatdal S, Horsberg TE. Determination of reduced sensitivity in sea lice (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer) against the pyrethroid deltamethrin using bioassays and probit modelling. *Aquaculture* 2003; 218: 21-31.
- Poppe TT, Binde M, Skrudland A, Johnsen S. Fiskevelferden som forsvant. *Nor Vet Tidsskr* 2014; 126: 485-7
- ALPHA MAX. I: Felleskatalogen på nett - Legemidler til dyr. <http://www.felleskatalogen.no/medisin-vet/alpha-max-pharmaq-545966> (5.2.2015)
- EXTOXNET - Extension Toxicology Network. Pesticide information profiles, Deltamethrin. <http://extoxnet.orst.edu/pips/deltamet.htm> (5.2.2015)
- Ross LG, Ross B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008: 41-6.
- ScanAqua. Preparatomtale Aqui-S vet. <http://www.scanvacc.com/images/stories/aqui-s-preparatomtale-2013-05-14.pdf> (13.2.2015)
- Adams M. Effect of AQUI-S® anaesthesia during fresh-water treatment on AGD re-development. Launceston: University of Tasmania, 2011. [http://www.scanvacc.com/images/stories/aqui-s\\_report\\_agd\\_treatments\\_in\\_fresh\\_water.pdf](http://www.scanvacc.com/images/stories/aqui-s_report_agd_treatments_in_fresh_water.pdf) (13.2.2015)
- Barton, BA. Stress in fishes : a diversity of responses with particular reference to changes incirculating corticosteroids. *Integr Comp Biol* 2002; 42: 517-25
- Mommsen TP, Vijayan MM, Moon TW. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev Fish Biol Fish* 1999; 9: 211-68.
- Farrell AP. A review of cardiac performance in the teleost heart: intrinsic and humoral regulation. *Can J Zool* 1984; 62: 523-36.
- Graham MS, Farrell AP. The effect of temperature acclimation and adrenaline on the performance of a perfused trout heart. *Physiol Zool* 1989; 62: 38-61.
- Nilsson S, Sundin L. Gill blood flow control. *Comp Biochem Physiol A* 1998; 119: 137-47.
- Ross LG, Ross B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008: 11.
- McFarland WN. A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. *Publ Inst Mar Sci* 1959; 6: 22-55.
- Zahl IH. Anaesthesia of farmed fish with special emphasis on Atlantic cod (*Gadbus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Bergen 2011. PhD-avhandling – Universitetet i Bergen; 17-18.
- Iversen M, Eliassen RA, Finstad B. Potential benefit of clove oil sedation on animal welfare during salmon smolt, *Salmo salar* L. transport and transfer to sea. *Aquac Res* 2009; 40: 233-41.
- Iversen M, Finstad B, McKinley RS, Eliassen RA. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture* 2003; 221: 549-66.
- Small BC. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. *Aquaculture* 2004; 238: 469-81.