STANDARD OPERASJONSPROSEDYRE FOR MANUELL LUSETELLING TIL VALIDERING AV AUTOMATISK TELLING

Samantha Bui, Ole Folkedal (HI), Ingar Stian Nerbø (Optoscale Norway)
og Luke T Barrett (Deakin University Australia)



RAPPORT FRA
HAVFORSKNINGEN
NR. 2024-56

Tittel (norsk og engelsk):

Standard operasjonsprosedyre for manuell lusetelling til validering av automatisk telling

A Standard Operating Procedure for validation of automatic louse counts

Rapportserie:	År - Nr.:	Dato:
Rapport fra havforskningen	2024-56	18.12.2024
ISSN:1893-4536		

Forfatter(e):

Samantha Bui, Ole Folkedal (HI), Ingar Stian Nerbø (Optoscale Norway) og Luke T Barrett (Deakin University Australia)

Forskningsgruppeleder(e): Lars Helge Stien (Dyrevelferd)
Godkjent av: Forskningsdirektør(er): Geir Lasse Taranger
Programleder(e): Robin Ørnsrud

Distribusjon:

Åpen

Prosjektnr:

15997

Oppdragsgiver(e):

Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering (FHF)

Oppdragsgivers referanse:

901881

Program:

Fremtidens havbruk

Forskningsgruppe(r):

Dyrevelferd

Antall sider:

26

Samarbeid med

Deakin University Australia

Sammendrag (norsk):

Automatisk telling av lus i på fisk i merder er under stadig utvikling. Men mangel på standardisering av prosedyrer for validering av teknologien hindrer fremdriften mot å erstatte manuell telling med automatisk. Basert på systematisk undersøkelse av variasjon og avvik mellom manuelle og automatiske lusetellinger, har dette dokumentet som mål å gi veiledning og anbefalinger for standardiserte manuelle lusetellinger. Veilederen er ment for å skape et robust datasett fra manuelt telling av infestasjonsnivåer og/eller validere et hvilket som helst automatisk tellesystem.

Sammendrag (engelsk):

Automatic detection and estimation of salmon lice using submerged camera technology in sea cages is a rapidly developing field, however the push for these systems to replace manual louse counts is impeded by the lack of standardisation of detection validation procedures. Following the systematic investigation of variability and divergence of manual versus automatic salmon louse counts, this document aims to provide guidance and recommendations for standardised manual louse counts to any party that wishes to create a robust dataset of manually-assessed infestation levels and/or validate any automated detection system.

Innhold

N1 - Introduksjon 5
1.1 *Bakgrunn* 5
1.2 *Hensikt* 5
1.3 *Omfang* 5
N2 - Retningslinjer for gjennomføring av lusetellinger 7
2.1 *Fangst og håndtering av fisken* 7
2.2 *Utvalg og antall av fisk for lusetelling* 7
2.3 *Kompetanse hos luseteller* 8
2.4 *Standarder for datakvalitet* 8
N3 - Betraktninger for evaluering av automatiske tellesystemer 10
3.1 *Systembeskrivelse* 10
3.2 *Posisjonering av automatiske tellesystemer i merder* 10
3.3 *Metode for validering* 10
3.4 *Miljødata* 11
3.5 *Statistisk metode* 11
3.6 *Reevaluering* 12
N4 - Sluttnotat 13
N5 - Mal for lusesamling 14
E1 - Introduction 15
1.1 *Background* 15
1.2 *Purpose* 15
1.3 *Scope* 15
E2 - Guidelines for conducting louse counts 17
2.1 *Collection method* 17
2.2 *Sampling design and sample size* 18
2.3 *Assessor qualifications* 18
2.4 *Data quality standards* 18
E3 - Considerations for validation of automated technology 21
3.1 *System description* 21
3.2 *Deployment strategy* 21
3.3 *Validation strategy* 21
3.4 *Environmental data* 22
3.5 *Statistical validation* 22
3.6 *Re-validation* 23
E4 - Final note 24
E5 - Template for louse collection 25

N1 - Introduksjon

1.1 - Bakgrunn

Vekst i den norske oppdrettsnæringen for laks og ørret er begrenset av lovgivning som bla. setter grenser for tillatt biomasse basert på nivåer av lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) og smitte til bestander av villfisk. Til tross for dette er overvåkningen av lakselus i merder fortsatt relativt primitiv, der oppdrettere fysisk samler inn fisken for å visuelt inspisere og telle lus. Disse manuelle tellingene er obligatoriske, og regelmessig rapportering av lusetall er lovpålagt. Men måten tellingene utføres på er antatt å variere betydelig mellom ulike lokaliteter og selskaper, noe som fører til varierende deteksjonsrater og svakt datagrunnlag.

For å redusere arbeidsmengde og løse utfordringene knyttet til manuelle tellinger, har flere leverandører utviklet systemer for maskinsyn som automatisk kan oppdage og telle lakselus på frittsvømmende laks i merder. Disse systemene bruker fortrinnsvis undervannskameraer med kontinuerlig overvåkning av fisken, og gir oppdrettere sanntidsdata om infeksjonsnivåer av lus. Det er imidlertid nødvendig å validere disse systemene for å sikre deres nøyaktighet og presisjon. For øyeblikket må oppdrettere som benytter disse systemene søke Mattilsynet om dispensasjon for å erstatte og rapportere lusetall fra manuelle tellinger med automatiserte tellinger.

Generelt har eksisterende dispensasjoner blitt gitt basert på høyt samsvar (korrelasjon) mellom automatiserte og manuelle tellinger som utført i samme merder. Imidlertid, gitt den lave presisjonen og skjevheten som naturlig forekommer i manuelle tellinger – noe som forsterkes av uensartede metoder for manuell prøvetaking på ulike lokaliteter og mellom selskaper – er det sannsynlig at automatiserte lusetellingssystemer, som er justert for å matche manuelle tellinger, også vil undervurdere de reelle lusetallene i varierende grad. Dette skjer fordi de manuelle tellingene som systemene sammenlignes med, også undervurderer de faktiske lusetallene. En standardisert prosedyre for manuell telling er derfor nødvendig for å kunne sammenligne ulike systemer for automatisert lusetelling med manuelle tellinger.

En slik standard vil kunne støtte implementeringen av automatiserte systemer og hjelpe bransjen med å redusere avhengigheten av manuelle tellinger. Dessuten, når flere oppdrettsanlegg tar i bruk automatisk og dermed kontinuerlig telling av lakselus vil overvåkningen av lus forbedres på tvers av geografiske skalaer. Dette vil ha betydelige fordeler for nøyaktigheten i modellene for spredning av lakselus, muligheten til å forutsi infeksjonstrykk, samt en dypere forståelse av smittedynamikken mellom produksjonsområder.

1.2 - Hensikt

Basert på felles interesser i næringen (både oppdrettere og teknologileverandører), myndigheter (særskilt Mattilsynet), fiskehelsepersonell og forskningsmiljøet, er målet med dette dokumentet å oppsummere tilnærming og vurderinger for å standardisere manuell telling av lusenivåer for teknologivalidering. En referansestandard basert på manuelle tellinger som benchmark vil: a) fremme sunn konkurranse blant leverandører uten behov for direkte sammenligning av konkurrerende produkter, b) støtte bruken av automatiserte tellesystemer ved å tydeliggjøre en vei til godkjenning på lokalitetsnivå, c) sikre like vilkår for oppdrettere når de skal registrere lusenivåer, enten nivåene er basert på manuelle tellinger eller et automatisert system, og d) legge til rette for videreutvikling av presisjonsoppdrett og kontinuerlig overvåking av lusemengder, noe som igjen vil hjelpe oppdretterne med å bedre forutse og raskere respondere ved utbrudd.

1.3 - Omfang

Informasjonen i dette dokumentet er basert på resultater fra prosjektet "Standard operasjonsprosedyre (SOP) for validering av automatisk lusetelling (AutoSOP)" (FHF prosjektnummer 901881, Standardisation of manual louse counts for validation of automatic camera systems — Final report), samt en bred data- og

litteraturgjennomgang. Ettersom utviklingen av automatiserte systemer skjer hurtig, er det hensiktsmessig at prosedyrene som presenteres her oppdateres jevnlig etter hvert som ny informasjon, erfaringer, utstyr og teknologier fremkommer.

Det vil ikke være mulig å fullstendig standardisere manuelle lusetellinger på tvers av alle lokaliteter og selskaper, da den mest hensiktsmessige metoden vil avhenge av anleggsinfrastruktur, lokale og sesongbaserte miljøforhold, samt andre faktorer. Variasjonen i kan imidlertid reduseres gjennom bruk av klare retningslinjer. Her fremheves også områder med usikkerhet som bør tas i betraktning ved gjennomføring av manuelle tellinger, samt hensyn for tolkning og validering av automatiserte estimater.

N2 - Retningslinjer for gjennomføring av lusetellinger

2.1 - Fangst og håndtering av fisken

Den mest hensiktsmessige teknikken for fangst av fisk fra oppdrettsmerder vil avhenge av flere operative faktorer som kan være unike for fiskegruppen eller utforming og utstyr for lokaliteten, og kan derfor ikke standardiseres fullt på tvers av bransjen. Metoden for å fange inn fisken kan ha betydelig påvirkning på representativiteten av utvalget (for eksempel ved fangst av fisk henholdsvis over eller under dybden til hovedstimen), noe som igjen kan påvirke lusetallet. Selv om en rigid standardisering av innsamlingsmetoden er urealistisk, kan visse forhold registreres slik at de kan tas i betraktning under valideringen. Tabellen nedenfor viser noen faktorer som kan påvirke representativiteten til fiskene som telles for.

Vi anbefaler, som et minimum, å registrere tid på dagen, metode benyttet for å fange fisk fra merden (f.eks. orkastnot, glip eller håndfôring og håving), vanskelighetsgrad for å fange fisk (f.eks. antall kast med not for å oppnå tilstrekkelig antall fisk), og varighet av trenging og selve lusetellingen per merd. Eventuelle andre merknader om avvik eller kilder til variasjon (Tabell 1) vil være informativt.

Tabell 2.1. Kilder til variasjon ved lusetelling, og om disse påvirker representativiteten til de innsamlede fiskene eller det endelige antallet lus som telles.

Faktor	Detaljert beskrivelse	Påvirker utvalget av fisk	Påvirker tap av lus og/eller deteksjonsrate
Fangst og håving	Fangstredskap inkl. størrelse og maskevidde av not, metode og dyp, og om håndfôring ble benyttet.	X[a]	X[b]
	Varighet av trenging for fisken		X
	Størrelse og maskevidde for håndholdt håv		X
Bedøvelse	Antall fisk per håv til bedøvelse		X
	Tid i bedøvelse		X
	Bedøvelsesmiddel, spesielt om ikke benzokain (Benzoak) eller trikainmesilat (Finquel) benyttes		X
Fiskens tilstand	Atferd inkl. svømmedyp og om atferd er som forventet gitt miljø og værforhold	X	
	Helsestatus	X	
Tilpassede forhold i merd	Bruk av teknologi som skjørt, Tubenot, oksygenering, luftbobling/pumping, og rensefisk	X	
Værforhold		X	X[c]
Tid på dagen	F.eks. før, under eller etter fôring	X[a]	

[a] Forskningsresultater tyder på at tid fisken er trengt og tidspunktet for prøvetaking ikke påvirker lusemengden på de prøvetatte fiskene, så dette er kun en anbefaling. Dataene bør analyseres for å avgjøre om dette stemmer for det aktuelle utvalget. På en annen side kan tidspunktet på dagen påvirke vurderingsfeil hvis arbeidsdagen er lang.

[b] Kun standard orkastnot vs. catchLICE- har blitt kvantifisert, og selv om forskjellen mellom not-typene var ubetydelig, kan det i enkelte tilfeller oppstå store forskjeller.

[c] Avhengig av hvordan fangst og lusetelling er innrettet, kan dårlig vær skape problemer med fangst av fisk og medføre feil i tellingen (f.eks. at tellingen blir forhastet eller utføres på båt med stor bølgebevegelse).

2.2 - Utvalg og antall av fisk for lusetelling

Et representativt utvalg av fisk for lusetelling oppnås bedre ved å vurdere mange små utvalg (relativt få fisk i hvert) enn få men større utvalg (mange fisk). Innsatsen bør derfor fordeles tidsmessig og over flere merder, og helst over flere sesonger for å dekke et bredt spekter av forhold på lokaliteten.

Under normale forhold bør en utvalgsstørrelse på 30 fisk vurderes. Dette gir en god balanse mellom gjennomførbarhet og nøyaktighet/presisjon, samt reduserer innflytelsen fra avvikende individer (f.eks. individer med unormalt høye lusenivåer for merden). Imidlertid, hvis lusenivåene er veldig høye, kan tellingene bli tidkrevende, og et godt estimat av gjennomsnittet for merden kan oppnås med færre fisk, spesielt hvis prevalensen er høy (dvs. hvis alle eller de fleste fiskene har flere lus). I slike tilfeller kan det være bedre å redusere utvalgsstørrelsen til 20, fremfor å haste gjennom vurderingen av 30 fisk.

Generelt bør utmagrede/taperfisk ikke inkluderes i utvalget. Hvis det derimot er høy prevalens av utmagrede fisk i merden, kan de være representative og bør derfor inkluderes (og noteres) i utvalgsgruppen.

2.3 - Kompetanse hos luseteller

Personell som gjennomfører lakselustellinger, skal være opplært og ha erfaring med telling på laks av ulike størrelser. Veiledning bør gis under opplæring av mindre erfarne tellere. Den grunnleggende opplæringen bør være i form av et kurs som kan dokumentere kompetanse innen:

a. Biologi og livssyklus til lakselus
b. Identifikasjon av luse-stadier og skille mellom *Lepeophtheirus salmonis* og *Caligus elongatus*
c. Prosedyre for telling og kompetanse i deteksjon

For eksempel tilbyr Havforskningsinstituttet et kurs i luseidentifikasjon, som er en forutsetning for deltakelse som luseteller i det nasjonale overvåkingsprogrammet for lakselus på ville laksefisk (https://www.hi.no/hi/temasider/arter/lakselus/overvaking-av-lakselus). Dette kurset sikrer dokumentert kompetanse, og regnes som gullstandarden for tellere både i feltarbeid og i eksperimenter.

2.4 - Standarder for datakvalitet

2.4.1 - Observasjonsmetodikk

Standardiserte lusetellinger gir jevnt over høyere estimater (ofte dobbelt så høye) enn konvensjonelle ‘oppdretter’-tellinger. Standardiserte lusetellinger bør gjennomføres på følgende måte, som gir høyere deteksjonsrater uavhengig av lusens livs-stadium:

- Luseteller bør bruke en kunstig lyskilde, enten en hodelykt eller en bordlampe. Dette kan være unødig dersom tellingene utføres i direkte sollys, men en kunstig lyskilde bør være tilgjengelig på stedet i tilfelle lysforholdene endres. Tykke hansker bør unngås (bare hender eller tettsittende latex- eller nitrilhansker er å foretrekke), og hender/hansker bør inspiseres for lus etter at tellingen er fullført.
- Når fisken i bedøvelsesbadet er helt bevisstløs, bør den plasseres i en grunn, lys beholder med rent sjøvann, der vannivået dekker hele fiskens kropp (se bilde nedenfor).
- Kroppsoverflaten og alle finner bør inspiseres nøye og systematisk. Bevegelige lusestadier bør fjernes med pinsett og plasseres på et stykke hvitt papir (vått, vanntett papir er optimalt, men tørkepapir er et akseptabelt alternativ) for videre identifikasjon av lusens livs-stadium og kjønn, samt for å unngå dobbeltelling. Fastsittende stadier trenger ikke fjernes, kun registreres. En mal for et ID-dataskjema finnes i Vedlegg A.
- Anbefalte kategorisering av lus er i følgende grupper:

- Fastsittende lakselus (kopepoditter, chalimus 1 og 2)
- Bevegelige lakselus (pre-adult 1 hann og hunn, pre-adult 2 hanner, adulte hanner)
- Pre-adult 2 hunner lakselus
- Adulte hunner lakselus (med og uten eggstrenger)
- *Caligus elongatus* (adulte hanner og hunner)

- Når fisken er undersøkt og alle bevegelige lus er fjernet, kan fisken tas til oppvåkningskar (eller for målinger, hvis aktuelt), og beholderen bør sjekkes for lus på veggene og i vannet. Vannet bør skiftes med jevne mellomrom for å sikre at det forblir rent og klart.
- Når alle fiskene er talt lus for, eller når man bytter ut bedøvelsesvannet, bør bedøvelseskaret sjekkes for lus som har falt av fisk. Dette gjøres ved å filtrere vannet mens det renner ut (maksimalt 1 mm maskestørrelse) og deretter inspisere filteret for lus, samt for lus i karet. Bruk hodelykt for godt lys. Overfør lusene også her til et hvitt ark for identifikasjon av livs-stadium og antall. Bevegelige stadier, spesielt pre-adulte, men også de adulte, har større sjanse for å løsne i bedøvelseskaret enn fastsittende lus. Lus funnet i bedøvelseskaret vil tilføyes luseantallet talt på fisk, og således tas med i gjennomsnittet for antall lus per fisk.



2.4.2 - Informasjon om lokalitet, merd og fiskegruppe

Lokalitet, merdnummer og eventuelt nummer for fiskegruppe registreres (se også Seksjon 3b, 3c). Informasjon om fisken bør helst inkludere kroppsvekt, helsestatus (hvis ikke normal), samt eventuelle prosedyrer som ble utført før eller under valideringsperioden som lusebehandlinger, overføring mellom merder eller andre behandlinger.

N3 - Betraktninger for evaluering av automatiske tellesystemer

Selv om metodene for å samle inn manuelle telledata kan standardiseres til en viss grad, kan den anbefalte bruken et automatisert tellesystem være unikt i henhold til produsentens anbefaling og må benyttes der etter. I denne delen har vi ikke til hensikt å fastslå usikkerhet rundt denne bruken, men i stedet fremheve essensiell informasjon som kreves angående tellesystemer og viktige punkter som bør vurderes i valideringsarbeidet.

3.1 - Systembeskrivelse

Validering krever ikke omfattende detaljer om systemet for automatisk lusetelling, men det er viktig å inkludere bakgrunnsinformasjon og en generell beskrivelse av kameraet, bildebehandlings-programvaren og lusedeteksjons-algoritmen/modellen (objekt-deteksjonsmodell med maskinlæring og biologiske inngangsdata). For eksempel vil det være nyttig å oppgi om en sesongbasert algoritme/modell (tar høye for sikt i vannet) brukes, om algoritmer/modeller oppdateres underveis, om en korreksjonsfaktor er brukt for å ta hensyn til bilder som kun viser én side av fisken, kjent falsk deteksjons- eller ikke-deteksjonsrate, eller lignende forhold. Kvalitetskontrolltiltak for systemet bør også beskrives.

Selv om det ikke er avgjørende for valideringen av automatiserte mot manuelle tellinger, bør det inkluderes en risikovurdering som tar for seg fiskevelferd, helse, miljø og sikkerhet (HMS), samt utstyrsfunksjon.

3.2 - Posisjonering av automatiske tellesystemer i merder

Laksen posisjonerer seg i merdvolumet basert på sine miljøpreferanser, appetittnivå, størrelse og tilstand. Vanligvis oppholder fisken seg på den høyest tilgjengelige temperaturen (opp til ~17°C) på dagtid, svømmer grunnere når lyset avtar ved skumring, og tiltrekkes pellets som avhenger av fôringsstrategi og sultnivå. Laks tiltrekkes av kunstig lys om natten og kan derfor også bli tiltrukket av kameralyset. Særlig ved store fiskestørrelser, kan de større individene svømme dypere enn de mindre. Kameraets posisjon bør derfor tilpasses hvor fisken hovedsakelig oppholder seg for å fotografere en representativ del av stimen. Hver leverandør av tellesystemer har sitt eget utstyr og anbefalinger for utplassering av kamera, som bør følges og det bør beskrives hvorvidt dette regnes som tilstrekkelig for å oppnå et representativt utvalg. Bruk av ekkolodd eller kamerabaserte systemer for å overvåke romlig fordelingen av fisken vil være en fordel for å sammenligne hvor vidt tellesystemet er posisjonert korrekt.

3.3 - Metode for validering

Design av valideringsperioden

Datainnsamlingen fra det automatiske tellesystemet bør gjenspeile naturlige variasjoner som kan påvirke deteksjonssuksessen. Spesifikt bør varigheten av validerings-perioden inkludere:

- Tellinger fra dag og natt (dersom systemet samler data kontinuerlig).
- Valideringsperioden bør omfatte flere sesonger for å inkludere ulike vær- og vannforhold som turbiditet/sikt, sollys/skydekke, temperatur og bølgeaktivitet. Det er viktig å merke seg at manuelle tellinger kanskje ikke er gjennomførbare under kraftig vind og høye bølger, og det kan derfor være hensiktsmessig å utelate svært røffe forhold fra valideringssettet. Det er avgjørende å inkludere vår- og sommersesongen, når sikten sannsynligvis vil være dårligst på grunn av høye algekonsentrasjoner i sjøen.
- Varierende nivåer av lusemengde på fisken (f.eks. 0-5 bevegelige lus, 0-0.5 adulte hunnlus per fisk), og helst inkludere en lusebehandling der fisken vurderes både rett før og etter behandlingen.

- Relevante oppdrettsarter (laks/regnbueørret).
- Ulike fiskestørrelser (kategorisk sett, små og store fisk).
- Valideringsprosedyren bør fortrinnsvis inkludere et representativt utvalg av ulike lokalitetstyper (f.eks. kystnære områder, ytre og indre fjorder), regioner/produksjonssoner. Hele spekteret av miljøforhold er imidlertid viktigere å inkludere enn region dersom miljøet på en lokalitet er representativt for andre regioner.

Vi foreslår ikke en forhåndsbestemt varighet for overvåkingen her, men mener det er viktigere å sikre at flere av de nevnte faktorene blir inkludert i overvåkingsperioden, spesielt tilstrekkelige nivåer av lus.

Når det gjelder replikasjon, kan det være utfordrende å ha flere merder med kamera samtidig på grunn av kostnader. Det vil være da være mer verdifullt å validere systemet mot de ovennevnte faktorene, fremfor å øke replikasjonen på bekostning av disse viktige variablene.

Fordeling av innsats for lusetelling

Et passende design for telle-innsats kan innebære standardiserte tellinger annenhver uke i minst 4 merder over en periode på 6 måneder, som kan erstatte de vanlige manuelle tellingene i disse merdene. Dette tilsvarer en total innsats på 13 dager × 4 merder = 52 prøver, og hvis et utvalg på 30 fisk vurderes hver gang, vil totalt 1560 fisk telles lus for. Den samme innsatsen kan også fordeles over en lengre periode (f.eks. 12 måneder), noe som sannsynligvis vil fange et bredere spekter av forhold, inkludert sesongmessige endringer av miljøet, fiskestørrelser og lusetetthet. Det er viktigere å ha et tilstrekkelig antall tellinger under perioden for data-innsamling enn å øke antall fisk i hver prøve, ettersom den tidsmessige variasjonen er betydelig.

En støttefunksjon som kan bidra til systemvalidering, er verifikasjon av størrelsesfordelinger. Dersom systemet kan estimere fiskestørrelse, kan målinger fra de manuelle tellingene sammenlignes med de automatiserte estimatene for å vurdere hvor representativ bildeinnsamlingen er.

Systemstatus

Metoden for validering bør inkludere systeminformasjon, som en beskrivelse av bilde-kvalitetskontroll (og hvordan aksepterte bilder blir filtrert), minimum antall bilder som brukes for å frembringe daglige estimater, og grunnleggende prinsipper for objekt-deteksjon i bilder. Eventuelle pågående forbedringer av disse faktorene bør fremheves – for eksempel hvis filtreringen av akseptable bilder basert på lysforhold ofte oppdateres, og hvordan dette skjer. Bilder fra valideringsperioden må ikke benyttes til å trene/endre maskinlæringsmodellen som benyttes.

3.4 - Miljødata

Den vertikale miljøprofilen (temperatur, salinitet, oksygen) vil sannsynligvis ikke påvirke nøyaktigheten eller presisjonen til et automatisert system, men vil heller påvirke fiskeatferd og dermed deteksjonsraten (se avsnitt 3b). Likevel er temperatur en verdifull parameter å registrere, da den styrer utviklingshastigheten til lus.

Turbiditet/sikt er en betydelig faktor for deteksjonsraten. Naturlige lysforhold regnes ikke som problematisk ettersom de fleste systemer har en integrert lyskilde. Turbiditet bør måles (siktedyp med bruk av Secchi-skive/disc er en enkel metode), eller minst kvalitativt noteres.

3.5 - Statistisk metode

En statistisk analyse bør utføres for å kvantifisere graden av samsvar mellom manuelle og automatiserte estimater av lusenivå. Denne standard operasjonsprosedyren (SOP) vil ikke forlange en spesifikk statistisk

metode, men et eksempel på en passende metode er skissert nedenfor:

1. Manuelle telledata aggregeres på med-nivå ved å beregne gjennomsnittlig antall lus per fisk innenfor de registrerte klasser av lus.
2. Telledata fra automatisk telling hentes fra et relevant tidsrom (f.eks. et 3-dagers vindu sentrert rundt dagen for manuell prøvetaking) og sammenlignes med de manuelle telledataene. Med andre ord, for hver manuell telling finnes et tilsvarende datasett fra det automatiserte systemet. Hver av disse manuelle tellingene bidrar som en statistisk replikat.
3. En Pearson-korrelasjonstest utføres for å beregne p-verdi og en lineær korrelasjonskoeffisient (r) for forholdet mellom automatiserte og manuelle tellinger. En log-log-transformasjon kan brukes for å redusere innflytelsen av sjeldne, svært høye tellinger. Et alternativ er å tilpasse en lineær regresjonsmodell, som tillater vekting av replikater basert på deres underliggende utvalgsstørrelse (datatetthet), relative feil eller andre mål på usikkerhet.
4. Vi anbefaler at en Pearson-korrelasjonskoeffisient på minst $r = 0.80$ eller $R^2 = 0.64$ oppnås for hver luseklasse, med en statistisk signifikans på $p < 0.0001$, selv om dette kan være gjenstand for vurdering.
5. Hvis det er tilstrekkelig høy korrelasjon, men automatiserte tellinger har en tendens til å være høyere eller lavere enn de standardiserte manuelle tellingene, bør det gjøres en justering for fremtidige estimater fra det automatiserte systemet. For eksempel, hvis analysen viser at automatiserte tellinger for en bestemt luseklasse har en tendens til å være 20 % høyere enn manuelle tellinger, kan de automatiserte tellingene reduseres med 20 % før rapportering.

3.6 - Reevaluering

Det vil være nødvendig å gjenta valideringsprosedyren, inkludert innsamling av nye bilder og manuelle telledata, etter større maskinvareendringer. Periodisk revalidering anbefales også etter store programvareoppdateringer. Dersom rådataene (bilder) fra valideringsperioden lagres, kan den oppdaterte programvaren valideres ved hjelp av disse dataene, uten behov for å samle inn nye data.

N4 - Sluttnotat

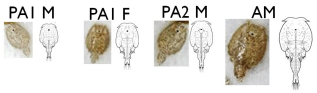
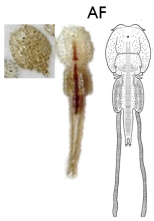
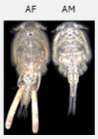
Dette dokumentet er ikke uttømmende, og mange av faktorene som presenteres her krever ytterligere forskning for å forstå hvordan de kan påvirke representativitet, lusenivåer eller systemnøyaktighet. Vi har gjennomgått: A) optimale prosedyrer for manuell telling (inkludert opplæringskrav for tellere), B) antall fisk som må telles lus for, og C) faktorer som påvirker gyldigheten av automatiserte tellinger. I tillegg identifiserer vi D) usikkerhetsområder som sannsynligvis vil vedvare selv med forsøk på standardisering av telleoperasjoner. Gitt den kontinuerlige utviklingen av automatiserte tellesystemer for lus er målet her å legge til rette for kontinuerlig verifisering av oppdaterte systemversjoner, snarere enn å begrense deres bruk i industrien.

Det vil være fordelaktig å også rette validering av automatiske tellesystemer for lus også mot nye merdteknologier, da disse kan medføre ulikhet i fiskeatferd og miljøforhold for deteksjon av lus.

N5 - Mal for lusesamling

Foreslått mal for utskrift på våt-papir til bruk ved innsamling av mobile lus under tellinger.

Fjern en mobil lus fra fisken og plasser den i den tilsvarende boksen i henhold til stadium og kjønn (PA = pre-adult, A = adult, M = hann, F = hunn, Cal = *Caligus*). Etter at alle mobile lus er fjernet, kan de sjekkes for stadiumsidentifikasjon og telles. Fastsittende stadier kan også tas av, men er vanskeligere å løsne.

Fisk#	Fastsittende (Cop, Ch1, Ch2)	Bevegelige (PA1 M&F, PA2 M, AM) 	PA2 F 	AF 	Cal- M & F 

E1 - Introduction

1.1 - Background

The Norwegian salmon farming industry has potential to expand, but is restricted by legislation that limits allowable biomass based on salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) infection levels and their impact on wild salmon populations. Despite its importance, surveillance of lice within sea cages is still relatively primitive, with farmers physically collecting the fish to visually inspect and count attached lice. These manual counts are obligatory, with regular reporting of louse levels mandated by law, yet the manner in which these counts are performed are quite varied among individual sites and companies, leading to varying detection rates and unrepresentative data.

To address the many issues associated with manual counts, a number of suppliers have developed computer vision systems that can automatically detect and count lice on salmon in sea cages, using submerged cameras with continuous monitoring of the school that can give farmers real time data on infection levels. However, there is a necessity for these systems to be validated, to ensure their accuracy and precision. Currently, farmers who buy these systems must apply for a dispensation from the Food Safety Authority (Mattilsynet) before being allowed to completely replace manual counts with automated counts.

Generally, existing dispensations have been granted on the basis of high agreement (correlation) between automated counts and manual counts conducted in the same cages. However, given the low precision and bias naturally present in manual counts, both of which are exacerbated by inconsistent methods for manual sampling at different sites and companies, automated louse counting systems that are tuned to match manual counts are likely to underestimate true louse levels to varying degrees, simply because the manual counts against which they are benchmarked also underestimate true louse levels. A standardised count procedure is needed for benchmarking of various systems of automated louse counts against manual counts.

Such a standard could support a rigorous adoption of automated systems and guide the industry away from reliance on manual counts. With more farms being permitted to use continuous monitoring systems, a greater surveillance effort will be possible across regions, with implications for accuracy of the louse dispersal model, the possibility of forecasting infection pressure, and understanding of infection dynamics among production zones.

1.2 - Purpose

Based on mutual interests among the industry (both farmers and technology suppliers), authorities (especially Mattilsynet), aquatic health personnel, and the research community, the goal for this document is to summarise steps and considerations to standardise manual counting of louse levels for technology validation. A reference standard based on manual counts as a benchmark will: a) promote healthy competition among suppliers without the need to directly compare competing products, b) support the use of automated counting systems by laying out a clear path to approval at the site level, c) ensure a level playing field for farmers when it comes time to register louse levels, whether levels are based on manual counts or an automated system, and d) facilitate the advancement of precision livestock farming and continuous monitoring of louse abundances, which in turn will assist farmers to anticipate and respond quickly to outbreaks.

1.3 - Scope

The information in this document was produced from results from the project ‘Standard Operating Procedure for validation of automatic lice counts’ (FHF project 901881, Standardisation of manual louse counts for validation of automatic camera systems — Final report), and a wider data and literature search. As the development of automated systems is rapidly progressing, we intend for the procedures presented here to be updated periodically as new information, experiences, equipment, and technologies become available.

It will not be possible to fully standardise manual lice counts among all sites and companies, as the most appropriate method will depend on site infrastructure, local and seasonal environmental conditions, and other factors. However, the variability may be reduced through the dissemination of guidelines. We also highlight areas of uncertainty that should be taken into account when conducting counts, as well as considerations for the interpretation and validation of automated estimates.

E2 - Guidelines for conducting louse counts

2.1 - Collection method

The most appropriate technique to prepare, crowd, and net fish from a commercial sea cage will depend on numerous operational factors unique to the fish group and locality, and therefore cannot be fully standardised across the industry. However, the method to crowd and net the fish may substantially influence the representativeness of the sample (for instance, by sampling above or below the depth of main school) and thus affect the final estimate of the cage mean. While rigid standardisation of the collection method would be unrealistic, some conditions can be recorded so that they can be taken into consideration when conducting the validation. The table below lists some factors that may affect the representativeness of the sampled fish.

We recommend, at a minimum, to record the time of day, sampling method from the cage (e.g. seine net or hand feeding and dip netting), whether fish were difficult to capture (e.g. number of hauls to attain full sample), crowding duration (if applied), and sampling duration. Any other notes of deviation or sources of variation (Table 1) would be informative.

Table 2.1. Sources of variation in the collection method, and whether these affect representativeness of sampled fish, or the final count of lice on those individuals.

Factor	Detail	Affects representativeness of sampled fish	Affects detachment and/or detection rate
Crowding and netting	Crowd net type and size, mesh size, deployment method including depth, use of feed to attract	X [a]	X [b]
	Duration of crowding		X
	Dip net mesh size		X
Anaesthesia	Number of fish netted at once, and in the sedation tub		X
	Time in sedation		X
	Sedation compound, if not benzokain (Benzoak) or trikainmesilat (Finquel)		X
Fish status	Behaviour, swimming depth with environment and weather	X	
	Health status	X	
Cage adaptions	Use of skirts, snorkels, oxygenation, pumps, clean fish	X	
Weather conditions		X	X [c]
Time of day	Time, and whether fish are fed or not	X [a]	

[a] Some evidence suggests that time in the crowd net, and time of day of sampling, does not affect the louse abundance on sampled fish, so this consideration is only a suggestion. The data should be explored to determine if this is true within a given sample. On the other hand, time of day might affect assessor error if working hours are long.

[b] Only standard vs. catchLICE crowding nets have been quantified, and while the difference in net type was negligible, some exceptions with large differences can occur (Geitung et al., in prep.)

[c] Depending on the execution of the overall operation by personnel, poor weather conditions can create issues with crowding/netting, or in counting with assessor error (i.e. counting is rushed or conducted on rocking platforms/boats).

2.2 - Sampling design and sample size

The aim of representative sampling is better achieved by assessing many small samples (relatively few fish in each sample) rather than a few large samples (many fish in each sample). Sampling effort should therefore be spread over many days and several cages, preferably spanning several seasons to encompass a full range of site conditions.

Under normal conditions, a sample size of 30 fish should be assessed. This provides a good balance of feasibility and accuracy/precision, and reduces the influence of outlier individuals (e.g. individuals with unusually high louse levels for the cage). However, if infestation levels are very high, counts can become very time-consuming, and a good estimate of the cage mean can be achieved with fewer fish, especially if prevalence is high (i.e., if all or most fish have some lice). In these situations, it may be preferable to reduce the sample size to 20, rather than rush the assessment of 30 fish.

Generally, moribund individuals should not be included in the sample. Emaciated (‘loser’) fish in the cage could be representative, and thus should be included (and noted) in the sample group for automatic louse detection system validation.

2.3 - Assessor qualifications

Personnel conducting the louse counts should be trained and experienced in identification, on salmon of various sizes. Supervision should be provided for those that are less experienced but learning. Training should come in the form of a course that can document competence in:

a. Biology and lifecycle of the salmon louse

b. Identification of louse stages, and distinguishing *L. salmonis* from *Caligus elongatus* and other sea louse species.

c. Procedure for counting and competence in detection

For example, Havforskningsinstituttet provides a certified course in louse identification as a cornerstone for the national monitoring program for salmon lice in wild salmonids (https://www.hi.no/hi/temasider/arter/lakselus/overvaking-av-lakselus). The structure of this training ensures demonstrated competency, and is considered a gold standard for counters in the field and in experiments.

2.4 - Data quality standards

2.4.1 - Assessment method

Standardised lice counts consistently produce higher estimates (often 2× higher) than conventional ‘farmer’ or ‘cage-side’ counts. Standardised lice counts should be conducted in the following manner, which appears to provide higher detection rates regardless of louse stage:

- Assessors should have an artificial light source, whether a head torch or a focused table lamp. This is perhaps unnecessary if counts are conducted outside in full sunlight, although an artificial light source should be kept on site in case conditions change. Thick gloves should be avoided (bare hands or close-fitting latex or nitrile gloves are optimal if temperatures allow), and hands/gloves should be inspected for lice after the count is completed.

- Once fish in the anaesthetic bath are fully unconscious, fish should be placed in a shallow, light-coloured container of clean seawater with the water level covering the body of the fish (see photo below)
- The body surface and all fins should be inspected closely and systematically. Mobile lice stages should be removed with forceps/tweezers and placed on a piece of white paper (wet waterproof paper is optimal, otherwise paper towel is an acceptable alternative), for further identification of stage and sex, and to avoid double-counting. Sessile stages do not need to be removed, just recorded. A template for an ID data sheet is provided in Attachment A.
- Currently, our recommendation is to categorise lice into the following 5 categories:
  - Sessile salmon lice (copepodid, chalimus 1 and 2)
  - Mobile salmon lice (pre-adult 1 male and female, pre-adult 2 male, adult male)
  - Pre-adult 2 female salmon lice
  - Adult female salmon lice (gravid and non-gravid together)
  - *Caligus elongatus* (adult males and females together)
- Once the fish has been examined and all mobile lice removed, the fish can be transferred onwards (for measurements, if applicable), and the container checked for lice on the walls or in the water. Water should be changed occasionally to ensure it remains clean and clear.
- A fter all fish have been processed, or when changing over the anaesthesia bath, the bath should be checked for any detached lice by filtering the water as it drains (maximum 1 mm mesh filter) and then inspecting the filter for lice, followed by the walls of the bath using an additional light source. Ideally, lice should be moved onto a white sheet for later stage identification and enumeration. Mobile stages, especially pre-adults but also adults, are more likely to fall off in the anaesthetic bath than sessile lice. Any lice found in the anaesthetic bath will contribute to the sample average.



2.4.2 - Site and cage information

A summary of site, cage, and fish details should be recorded (see also Section 3b, 3c). Information about fish should preferably include body weight, health status (if not normal), and any procedures applied prior to or during the validation period such as delousing treatments, transfers, or other treatments.

E3 - Considerations for validation of automated technology

This document will not prescribe specific camera positions or other decisions relating to the setup, deployment and operation of the automated systems. Instead, for optimal results, the system should be deployed and operated in line with the user manual. However, there are various procedures and considerations that will be common to all validation efforts. These are outlined below.

3.1 - System description

Validation does not require extensive details of the system to be provided, however some background and broad description of the camera itself, the image-processing software, and the louse detection model (object detection machine learning model, and biological inputs) should be stated. For example, it would be valuable to clarify if a seasonal model is applied, or if there is a correction factor applied to account for images using only one side of the fish, a known false detection or non-detection rate, or similar reasons. Quality control measures (of the system) should also be outlined.

Although not imperative for validation of automated against manual counts, a risk assessment should be included that addresses fish welfare, OH&S, and equipment function.

3.2 - Deployment strategy

Salmon will use the cage volume according to their environmental preferences, appetite level and own size and condition. Typically, the fish resides the depth of highest available temperature (up to ~17 C°) during daylight hours, swim shallower as the light fades at dusk, and are, dependent on feeding strategy and hunger level, attracted to where pellets are delivered. Salmon are attracted to artificial light during night and may therefore be attracted to camera light. At least for large fish sizes, larger individuals may swim deeper than smaller fish. Thus, the camera should be dynamically deployed in the vertical and horizontal plane that captures a representative portion of the school. Each supplier has their own recommendations and equipment for deployment, and this should be described to ensure it adequately accommodates the position of the school. An advantage would be to have echosounders or camera monitoring of the school distribution, to correlate to the camera's ability to detect and retain a representative dataset.

3.3 - Validation strategy

Designing the validation period

The deployment regime should reflect natural variations that might present different conditions for detection success. Specifically, the duration of the validation period should include:

- Daytime and nighttime monitoring (if the system collects data across the whole day).
- A range of seasons, which will therefore encompass a range of weather and sea conditions such as temperature, sunlight/clouds, turbidity/visibility, and wave action (but note that corresponding manual counts may not be feasible during high wind/wave conditions, and therefore it may be preferable to omit very rough conditions from the validation set). It is essential to include the spring/summer season when visibility is likely to be poorer due to the plankton bloom.
- Varying levels of louse abundance on the fish (e.g., 0–5 mobile lice, 0–0.5 adult female lice per fish), and preferably include a delousing treatment where fish are assessed immediately before and after treatment.

- Fish species (Atlantic salmon/rainbow trout).
- Fish sizes (a categorical range of small to large fish).
- The validation procedure should preferably include a representative range of site types (e.g. coastal, outer fjord and inner fjord), and regions/production zones. However, the full range of environmental conditions is more significant to include than region if the environment at a site is representative of what can be observed in other geographical locations, then location need not be a variable itself.

We do not propose a pre-determined monitoring duration here, but instead believe it is more important to ensure that a number of the above factors are included in the monitoring period, especially adequate louse levels.

With regards to replication, the feasibility of multiple cages running cameras simultaneously could be difficult due to running cost. It would be more valuable to validate the system against the above factors, rather than address fewer but increase replication.

Sampling effort

A suitable sampling design could involve fortnightly standardised counts in at least 4 cages over a 6-month period, which may replace the regular manual counts in those cages. This would equate to a total sampling effort of 13 days × 4 cages = 52 samples, and assuming the full sample size of 30 fish is assessed each time, a total of 1560 fish would be handled. The same sampling effort could also be spread over a longer duration (e.g., 12 months), which would likely capture a wider range of conditions, including seasonal changes, fish sizes and louse densities. It is more important to have an adequate number of sampling events during the deployment phase rather than to sample more fish, as the temporal variation is significant.

An additional element that can contribute to system validation is the **verification of size distributions** – if the system can estimate fish size (i.e. weight), then measurements of fish size from the manual counts can be compared to automated estimates, to determine its representativeness of image collection.

System status

The validation should include system information such as a description of image quality control (and how accepted images are filtered), the minimum number of images used to generate daily estimates, and basics of object detection within an image. Any ongoing refinement of these factors should be highlighted – for example, if filtration of acceptable images through lighting quality is often updated, and how. Images collected during the validation period must not be used to train machine learning models.

3.4 - Environmental data

Environment profile (temperature, salinity, oxygen) is not likely to affect the accuracy or precision of an automated system, but rather influence fish behaviour and thus detection quality (see Section 3b). Nevertheless, temperature is a valuable parameter to record as it plays a role in louse population development rate.

Turbidity/visibility is a significant factor that affect detection rates, whereas natural light conditions are less problematic as most systems have an integrated light source. Turbidity should be measured (a Secchi disc is a simple method), or at a minimum, qualitatively noted.

3.5 - Statistical validation

A statistical analysis should be performed to quantify the level of agreement between manual and automated

estimates. This SOP will not prescribe a specific statistical method, but an example of a suitable method is outlined below:

1. Manual count data are aggregated to cage-level by calculating the mean number of lice per fish, within louse classes.
2. Automated count data from a relevant timeframe (e.g., a 3-day window centered on the manual sampling day) are retrieved to match the manual count data. In other words, for each manual sampling event, there should be a corresponding dataset from the automated system. Each of these manual sampling events contribute one statistical replicate.
3. A Pearson correlation test is conducted, returning a p-value and a linear correlation coefficient (r) for the relationship between automated and manual counts. A log-log transformation may be applied to reduce the influence of rare, very high counts. An alternative is to fit a linear regression model, allowing for weighting of replicates according to their underlying sample size, relative error, or some other measure of confidence.
4. We recommend a Pearson correlation coefficient of $r = 0.80$ or a coefficient of determination of $R^2 = 0.64$ be achieved for each louse class, with a statistical significance of $p < 0.0001$, although this may be subject to review.
5. If there is a sufficiently high correlation but automated counts tend to be higher or lower than the standardised manual counts, an adjustment should be made to future estimates from the automated system. For example, if the above analysis finds that automated counts for a certain louse class tend to be 20% higher than manual counts, then the automated counts can be reduced by 20% before reporting.

3.6 - Re-validation

It will be necessary to repeat the validation procedure, including collection of new images and manual count data, following major hardware changes. Periodic re-validation is also recommended following major software updates, although if the raw data (images) from the validation period are stored, the updated software can be validated using those data, with no requirement to collect new data.

E4 - Final note

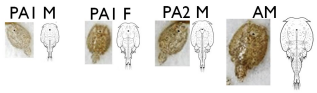
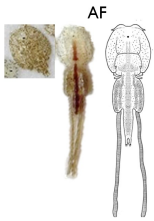
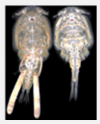
This document is not exhaustive, and many of the factors presented here require further research into how they could influence representativeness, louse abundance or system accuracy. Nevertheless we provide A) optimal manual count procedures (including training requirements of assessors), B) the number of fish required to be sampled, and C) factors that impact the validity of automated counts. In addition, we D) identify areas of uncertainty that are likely to persist even with attempted standardisation of procedures. With the continual development of automatic monitoring systems, the objective here is to facilitate continual verification of updated system versions, rather than restrict their adoption in the industry.

It would be advantageous to deploy with the test system in a new cage technology, as these are undoubtedly going to increase use across the industry and might present a different set of challenges (for detection, and also fish behaviour).

E5 - Template for louse collection

Suggested template, to print onto wet paper and use for collecting of mobile lice during counts.

Remove a mobile louse from the fish and place in the corresponding box according to stage and gender (PA = pre-adult, A = adult, M = male, F = female, Cal = *Caligus*). After all mobile lice are removed, they can be checked for stage identification and counted. Sessile stages can also be taken off, but it can be difficult.

Fish#	Sessile (Cop, Ch1, Ch2)	Mobiles (PA1 M&F, PA2 M, AM) 	PA2 F 	AF 	Cal- M & F 

HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

Postboks 1870 Nordnes
5817 Bergen
Tlf: 55 23 85 00
E-post: post@hi.no
www.hi.no