

Hälsöövervakning av vildlevande fisk, kräftdjur och blötdjur 2020

juni 2021



STATENS
VETERINÄRMEDICINSKA
ANSTALT

Diarienummer hos SVA: SVA AVTAL 2020/52

Diarienummer hos HAV: 803-20

Publiceringsdatum: 021-01-21

Revideringar: Denna version är grafiskt bearbetad. Inget innehåll ändrat.

Huvudförfattare: Charlotte Axén

Omslagsbild: Bengt Ekberg, SVA

Innehåll

Inledning	9
Bakgrund	9
Uppdrag	9
Del 1. Havslevande fisk	11
Övervakning av torsk och skädda	11
Sammanfattning	11
Introduktion	11
Syfte	12
Material och metoder	13
Provinsamling	13
Obduktion och provuttag	13
Laboratorieanalyser	14
Databearbetning	16
Resultat	16
Provinsamling	16
Obduktion och provuttag	17
Laboratorieanalyser	21
Diskussion	31
Slutsats	35
Referenser	36
BILAGA HF1 – Klassificering av utvärtes fynd	38
BILAGA HF2 – Klassificering av parasitbörda	39
Akutmedel	40
Fall 1. Makrill med extremt förstörd njure	40
Fall 2. Torsk med ett inflammerat öga	41
Rapportportalen	41
Histopatologiska undersökningar från SLU:s kustprovfiske i Hanöbukten 2019	42
Sammanfattning	42
Material och metoder	42
Resultat	42
Torsk	42
Skrubbskädda	43
Diskussion	43
Referenser	44

Del 2. Anadrom fisk.....	45
Sammanfattning	45
Introduktion.....	45
Syfte	46
Övervakning av <i>Gyrodactylus salaris</i>	47
Material och metoder.....	47
Provtagningspunkter	47
Provtagning.....	47
Laboratorieanalyser	47
Resultat	47
Förekomst av <i>Gyrodactylus</i> sp. i provtagna vattendrag och lokaler	47
Laboratorieanalyser	49
Diskussion	49
Slutsats.....	49
Referenser.....	50
Återvändande lax.....	51
Material och metoder.....	51
Provtagningspunkter och antal fiskar	51
Fångst och förvaring av fisk	51
Obduktion och provtagning	52
Blodanalyser	52
Resultat	53
Genomförande av provtagningar 2020	53
Obduktion och provtagning	54
Diskussion	59
Slutsats.....	60
Referenser.....	60
Övervakning av kameror.....	61
Syfte	61
Metod	61
Resultat	61
Diskussion och slutsats	61
Avelsfisket.....	62
Syfte	62
Metod	62

Resultat	62
Enkät om avelsfisket	62
Excelark avseende avelsfiskens hälsa	62
Diskussion	64
Inventering av leksträckor	65
Resultat	65
Kågeälven.....	65
Vindelälven	65
Öreälven.....	65
Ljungan.....	66
Mörrumsån	66
Örekilsälven	67
Diskussion	68
Akutmedel.....	69
Fall 1. Havsöring med hudblödningar	69
Fall 2. Havsöring med misstänkta blåsor i huden	69
Fall 3. Svampangripen lax från Ätran.....	70
Rapportportalen	70
Torneälvens vattensystem.....	71
Ume- och Vindelälvens vattensystem	71
Klarälvens vattensystem	71
Del 3. Katadrom fisk.....	72
Provtagningsprogram	72
Sammanfattning	72
Introduktion.....	72
Syfte	73
Material och metoder.....	74
Provinsamling	74
Obduktion och provuttag.....	74
Laboratorieanalyser	74
Databearbetning.....	74
Resultat	75
Provinsamling	75
Obduktion och provuttag.....	75
Laboratorieanalyser	75

Diskussion	79
Slutsats.....	80
Referenser.....	80
Rapportportalen	80
Del 4. Sötvattenslevande fisk.....	81
BKD-provtagningar.....	81
Sammanfattning	81
Introduktion	81
Syfte	82
Material och metoder.....	82
Provinsamling	82
Provuttag	85
Laboratorieanalyser	85
Databearbetning.....	86
Resultat	86
Provinsamling	86
Provuttag	86
Analyser	88
Diskussion	91
Många fiskar var positiva i ELISA men endast en var positiv i PCR.....	91
Vattentemperaturens inverkan på analysresultaten.....	92
Sik och harr var i högre grad ELISA-positiva än röding och öring	92
Nästan alla ELISA-positiva hittades i Ljungan	93
Enstaka ELISA-positiva fiskar hittades i uppströms provtagningspunkter.....	93
eDNA-metodiken behöver utvecklas om den ska kunna utvärderas fullt ut	93
Slutsats.....	94
Referenser.....	95
Bilaga SF – Tabell SF1, SF2 samt SF4-SF6	96
Akutmedel.....	101
Fall 1. Rödingar med kraftig maskförekomst.....	101
Fall 2. Harr med massiva granulom i buken.....	101
Fall 3. Gädda med tumör i bukålan.....	102
Fall 4. Uppföljning av harren med granulom (Fall 2)	102
Fall 5. Röding och regnbåge har försvunnit från en sjö	103
Fall 6. Sik med hudblödningar, sår och svamp.....	103

Rapportportalen	104
Del 5. Kräftdjur.....	107
Sammanfattning	107
Introduktion	107
Syfte	108
Material och metoder.....	108
Provinsamling	108
Obduktion och provuttag.....	108
Laboratorieanalyser	108
Resultat	108
Kräftor	109
eDNA-analyser	111
Diskussion	113
Slutsats.....	114
Referenser.....	114
BILagA HK/SK – Obduktionsprotokoll för kräftdjur	115
Bilaga 6. Blötdjur.....	117
Havslevande blötdjur.....	117
Sötvattenslevande blötdjur	117
BILAGA HB/SB – Obduktionsprotokoll för bivalver.....	118
Del 7. Rapportportalen	119
Planerade förbättringar 2020	119
Inför 2020 icke planerade aktiviteter som genomförts.....	121
Summering av inkomna rapporter 2020.....	121
Tids- och artmässig fördelning av rapporter	121
Typ av observationer	123
Diskussion	124
Del 8. Invasiva främmande arter.....	125
Sammanfattning	125
Introduktion	125
Syfte	125
Material och metoder.....	125
Provinsamling	125
Obduktion av platta ostron.....	125
Fixerade havsborstmaskar	125

Laboratorieanalyser	127
Resultat	127
Obduktion av platta ostron.....	127
Laboratorieanalyser	127
Diskussion	130
Slutsats.....	131
Referenser.....	132

Inledning

BAKGRUND

Övervakning av vilda djurs hälsa har pågått drygt 70 år i Sverige men har tidigare inte omfattat fisk, kräft- och blötdjur. Miljöövervakning och beståndsuppskattningar i vattenmiljö har pågått länge men hälsoövervakning har i de flesta fall endast skett i form av sporadiska projekt som löpt över en förhållandevis kort tidsperiod. Några få undantag finns där övervakningen pågått kontinuerligt under en längre tid, så som övervakningen av *Gyrodactylus salaris* i västkustmynnande älvar och den passiva övervakningen av *Aphanomyces astaci* som orsakar kräftpest hos sötvattenskräftor. Behovet av en rutinmässig och långsiktig hälsoövervakning av fisk, kräft- och blötdjur har uppmärksammats genom upprepade skrivelser, i rapporter samt regeringsuppdrag.

Hälsan hos vild fisk, kräftdjur och blötdjur är en viktig parameter för att bedöma tillståndet i våra vattenmiljöer. Systematisk insamling av data är grundläggande för att kunna upptäcka akuta förändringar såväl som långsiktiga trender. Under 2000-talet har flera fall av försämrad hälsa hos vild fisk uppmärksammats. Exempel på detta är sjuklighet och dödlighet på lax i Östersjöälvarna, torskar med sårskador i Hanöbukten, en ökad frekvens av parasiter hos torsk samt en generell försämring av torskbeståndens hälsa i Östersjön. Om det hade funnits ett fungerande övervakningsprogram hade dessa situationer sannolikt kunnat upptäckas och börja utredas i ett tidigare skede.

För främmande arter behövs proaktiv omvärldsspaning och bedömningar avseende introduktion av dessa samt riskvärdering avseende introduktion av nya smittor i svenska vatten. Viktigt är även att informationen blir tillgänglig för allmänheten samt personer som arbetar med frågor som kan kopplas till djurhälsa i vattenmiljöer.

UPPDRAG

Under 2019 gav Havs- och vattenmyndigheten (HaV) SVA i uppdrag att ta fram ett brett övervakningsprogram avseende vildlevande fisk, kräft- och blötdjur. Syftet med uppdraget var att utveckla tidigare framlagda förslag för att få ett mer heltäckande övervakningsprogram, och programmet påbörjades 2020. Övervakningen är av största vikt för att samla kunskap gällande effekter av smittsamma sjukdomar såväl som klimatförändringar, miljöföroreningar samt invasiva främmande arters introduktion och påverkan på ekosystemen. Kunskap om olika beståndshälsostatus behövs för att kunna utföra en ekosystembaserad och hållbar fiskförvaltning, övervaka miljöns tillstånd, tillse livsmedelsförsörjning samt för att förhindra smittspridning. Det gäller SVA kan i tillägg erbjuda resistensbestämning av isolerade bakterier såsom vi i dagsläget gör i samband med sjukdom och antibiotikabehandling av odlad fisk. På vild fisk är detta inte viktigt ur ett behandlingsperspektiv, men eftersom resistens kan spridas även via vilda djur är det viktigt att få en bild av hur vanligt förekommande antibiotikaresistens är hos sjukdomsframkallande bakterier eller miljöbakterier i vilda populationer och kunna följa trender i dessa populationer.

Övervakningsprogrammet syftar även till att stödja HaV med relevanta underlag, analyser och metodutveckling som bland annat bidrar till att uppfylla:

- Kraven i den nationella förordningen (1994:1716) om fisket, fiskerinäringen och vattenbruk
- Målen i de nationella åtgärdsprogrammen för flodkräfta och flodpärlmussla
- Målen i EU:s miljödirektiv

- art- och habitatdirektivet (92/43 EEG)
- vattendirektivet (2000/60/EG)
- havsmiljödirektivet (2008/56/EG)
- Kraven i EU:s förordning (1143/2014) om förebyggande och hantering av introduktion och spridning av invasiva främmande arter.

Programmet omfattar delområden inom miljö kvalitetsmålen *Ett rikt växt- och djurliv, Levande sjöar och vattendrag, Hav i balans samt levande kust och skärgård*.

Övervakningsmetodik inklusive provtagningar och analyser måste anpassas utifrån djurslag och livsmiljö, eftersom ekologiska och fysiologiska utmaningar skiljer mellan dessa. Programmet har därför delats upp i specifika områden som har anpassats efter de behov som identifierats:

- Havslevande fisk
- Anadrom fisk
- Katadrom fisk
- Sötvattenslevande fisk
- Havslevande kräftdjur
- Sötvattenslevande kräftdjur
- Havslevande blötdjur
- Sötvattenslevande blötdjur
- Invasiva främmande arter

Övervakningen inom respektive område är tänkt att vara relativt konstant från år till år för att få jämförbara data. Undantaget är "sötvattenslevande fisk" som genomförs i form av årsvisa projekt. SVA och HaV utvecklar programmet tillsammans och under det första året har stort fokus lagts på att pröva vilka metoder som ger bäst resultat och därmed är lämpliga att använda även framgent. Inom respektive område har olika externa resurser som länsstyrelser och SLU inkluderats i diskussioner kring lämplig struktur och övervakningsmetodik. Fokus har lagts på att undersöka indikatorarter med en internationellt använd metodik i marin miljö, bestånd med en känd hälsoproblematik, känsliga bestånd samt sjukdomar som sprids i andra länder och riskerar att introduceras i Sverige.

Förslaget har gått på remiss till SLU, SJV och Länsstyrelser för förankring. Ett mål var att programmet i möjligaste mån skulle samordnas med befintlig övervakning av fisk, kräft- och blötdjur (miljögifts- och beståndsövervakning) för att optimera provtagning och få synergistiska effekter mellan SLU Havsfiskelaboratoriums (H-lab) BITS/IBTS och SVA:s provtagningar. Övervakningen inkluderar både aktiv och passiv övervakning samt metodutveckling. Med aktiv övervakning avses att riktad provtagning genomförs av SVA eller annan aktör och data samlas in genom att SVA aktivt ber om rapporter och bearbetar data från olika aktörer. Med passiv övervakning avses omständigheter som noteras av utomstående och rapporteras in på frivillig basis, till exempel via rapportportalen.

Resultaten från varje område samt hur provtagningarna genomförts redovisas i denna rapport. I uppdraget ingår ett datavärdskap och data som produceras ska tillgängliggöras som öppna data. Öppna data kommer att finnas länkade till SVA:s hemsida: <https://www.sva.se/vilda-djur/fisk-kräftdjur-musslor-och-ostron/halsolage-for-vildlevande-fisk-kräftdjur-musslor-och-ostron/halsoovervakning-av-vildlevande-fisk-och-skaldjur/>

Rapportportalen, som funnits sedan 2016 redovisar redan öppna data. Sedan tidigare finns en kartfunktion där rapporter plottas ut (<https://rapporterfisk.sva.se/Fynd/Map>). Sedan slutet av 2020 finns även fyndlistan (anonymiserad avseende rapportör) som öppen data på <https://rapporterfisk.sva.se/Fynd/InrapporteradeFynd>

Del 1.

Havslevande fisk

Övervakning av torsk och skädda

SAMMANFATTNING

Internationella havsforskningsrådet (ICES) är en global organisation som arbetar för hållbart nyttjande av haven och SVA Fisk sitter med i arbetsgruppen för patologi och sjukdomar hos marina organismer (ICES WGPDMO). Länder kring Östersjön rapporterar årligen data från systematiska undersökningar avseende fiskhälsa, men Sverige har hittills inte kunnat producera motsvarande rapporter. Under 2020 påbörjades systematisk hälsoövervakning av torsk och skrubbskädda i Östersjön samt torsk, skrubbskädda och sandskädda i Västerhavet. Provtagningarna görs i samband med att Sveriges Lantbruksuniversitet, Havsfiskelaboratorium (SLU H-lab) genomför sina trålfisken för beståndsövervakning. Sammanfattningsvis sågs få yttre allvarliga förändringar, medan påverkan på gonader, lever samt tecken på inflammation kunde ses i fiskarnas blodbild.

INTRODUKTION

Internationella havsforskningsrådet (ICES) är en global organisation med forskare från mer än 700 marina institut i 20 medlemsländer. ICES arbetar för hållbart nyttjande av haven och SVA Fisk sitter med i arbetsgruppen för patologi och sjukdomar hos marina organismer (ICES WGPDMO). Flera länder kring Östersjön rapporterar årligen data från systematiska undersökningar avseende fiskhälsa, men Sverige har hittills inte kunnat producera motsvarande rapporter på grund av att systematisk övervakning inte genomförts här. Sedan 2010 har larmrapporter från fiskare om minskade fångster/bestånd och fångst av mager och sårskadad torsk (*Gadus morhua*) i Östersjön förekommit i media, framför allt från Hanöbuktsområdet. Det finns flera möjliga orsaker till dålig fiskhälsa, som intensivt fiske, syrefria bottnar, sårskador, samt ökad förekomst av lever- och muskelparasiter (torsk-/sälmask). Även på skrubbskädda (*Platichthys flesus*) har liknande sårskador noterats (SVA, 2016).

Hanöbukten har utretts i omgångar (HaV, 2013, 2018a, 2018b; SVA, 2016). För SVA:s del var detta ett startskott för övervakning av havslevande fisk. Sårskadorna hos torsk kategoriserades i tre grupper i SVA:s utredning, nämligen 1) bitskador (ff. a. säl), 2) fokala, välavgränsade runda sår, misstänkt orsakade av nejonöga, 3) generell inflammation (rodnader, fenröta och diffusa sår). Skrubbskädda uppvisade en fjärde typ av sår, som tidigare har associerats med infektion orsakad av *Aeromonas*-bakterier. Växt av *Aeromonas* sp. kunde dock bara påvisas hos en skrubbskädda (SVA, 2016).

Förekomst av torskmask/sälmask (*Contracaecum* sp. i levern och *Pseudoterranova decipiens* i muskulatur) samt spiralmask (*Anisakis simplex*, med tumlare som slutvärd) hos Östersjötorsk har undersökts både internationellt och nationellt (Buchmann & Kania, 2012; Mehrdana et al., 2014; Nadolna & Podolska, 2014, Lunneryd et al., 2015; Sokolova et al., 2018, SVA 2018, 2019). Båda parasitarterna kan potentiellt påverka fiskens kondition.

Hälsoövervakningen inkluderar fisk både i Östersjön och i Västerhavet. Längs västkusten är sandskädda (*Limanda limanda*) mer frekvent förekommande än skrubbskädda och därför inkluderas även den arten. En annan aspekt som föranleder valet är att ICES har tagit fram så kallade Fish Disease Index (FDI)-mallar för dessa tre arter. FDI är en metod för att bedöma hälsan hos vildlevande fisk (Lang & Wosniok, 2008). Metoden bygger på att data samlas in från provfisken

till havs, och inkluderar olika parametrar som bedöms vara viktiga för att avgöra fiskens hälsa. Parametrarna vikts utifrån en för respektive parameter förbestämd konstant och ett index-värde räknas ut. Avsikten är att få en objektivt uträknad parameter per fisk i stället för att man ska göra en subjektiv sammanställning utifrån de resultat som erhålls, och därifrån dessutom kunna räkna ut ett index för ett provfiskeområde. Detta bland annat för att möjliggöra en direkt jämförelse med andra länder och därmed en bredare användning av data än bara för svenska intressen. Utöver den aktiva övervakningen finns en passiv övervakning där det finns möjlighet att ta in sjuk/skadad/död fisk för undersökning på akutmedel. SLU:s kustlaboratorium har av denna anledning material för provuttag tillgängligt i samband med sina provfisken, och ytterligare fall kan identifieras via SVA:s rapportportal för fisk <https://rapporterafisk.sva.se>, via sociala medier eller genom att någon kontaktar fiskjouren.

Syfte

Syftet är att skapa ett övervakningsprogram där vi utöver att på ett nationellt plan följer hälsan hos torsk, skrubbskädda och sandskädda även ska kunna generera data som kan jämföras med internationell fiskhälsoövervakning.

MATERIAL OCH METODER

Provinsamling

Insamling och provtagning av fisk gjordes i samarbete med SLU:s Havsfiskelaboratorium, Lysekil, genom att SVA följde med på två av årets provfiske, Baltic International Trawl Survey i kvartal 1 (BITSQ1) och International Bottom Trawl Survey i kvartal 3 (IBTSQ3, Västerhavet).

SLU:s insamling av fisk sker genom ett antal hal (trålningar) på olika positioner inom ICES-områdena 24 – 28 (BITSQ1) och 21 (IBTSQ3) (**Bild HF1**). Målet var att provta totalt 100 torskar och 100 skrubbskäddor/sandskäddor per resa.

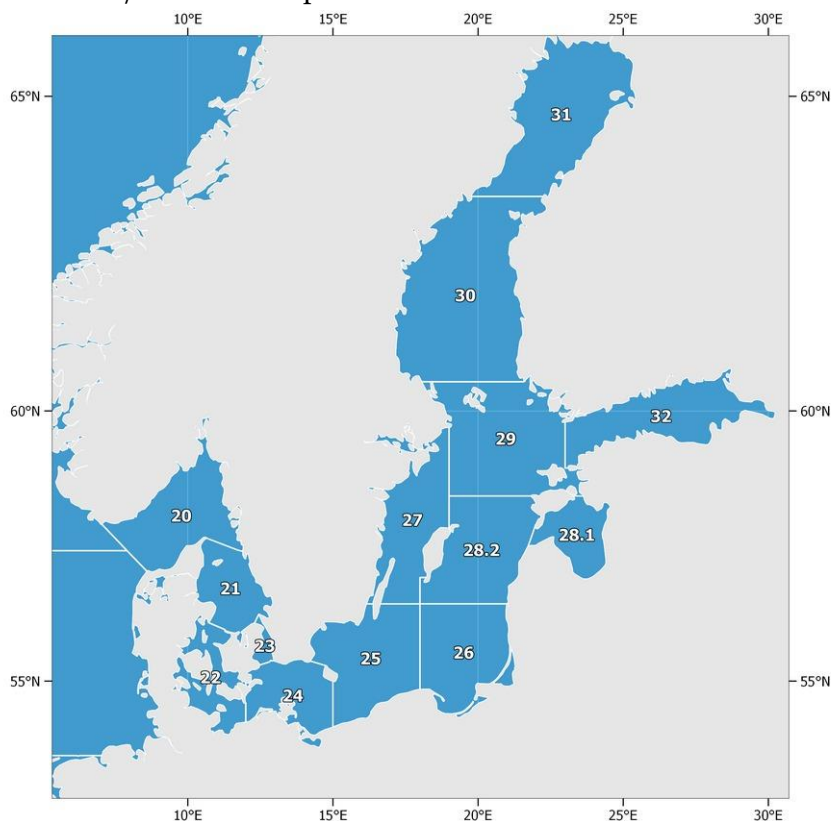


Bild HF1. ICES-områden (subdivisions) i Östersjön och västerhavet. Bilden är hämtad från FAO: <http://www.fao.org/fishery/area/Area27/en>

Obduktion och provuttag

Vid provtagningen fotograferades fisken och datum, drag, ICES-område, art, längd, vikt (total, lever samt gonad) och synliga yttre och inre förändringar noterades i en journal. De flesta torskarna undersöktes först av SLU, varför vissa morfometriska data inhämtats därifrån i efterskott. Utifrån längd och vikt räknades fiskens konditionsfaktor (CF) enligt Fulton ($\text{vikt(g)} \times 100 / \text{längd(cm)}^3$) ut. En förnyad bedömning av synliga skador har i efterhand gjorts utifrån foton, och förändringar har klassats enligt Bucke et al. (1996) samt kompletterande dokumentation avseende gradering av hudförändringar respektive parasiter (opubl., erhållna från Dr. Jörn Scharsack, Thünen Institute of Fisheries Ecology, Tyskland).

Rutinmässigt togs blodutstryk för cytologisk bedömning samt lever och könsorgan till formalin för histopatologisk undersökning. Vävnad från sårskador eller andra uppenbara yttre/inre förändringar togs också till formalin. Från fiskar med sår togs prov från njure för bakteriologisk

odling. Vid symptom som skulle kunna tyda på virusinfektion togs njure, hjärta och mjälte ut till virusmedium och frystes vid -20°C.

Från 50 torskar (>35 cm) från respektive resa skulle lever tas för digererering och räkning av torsk-/sälmask (*Contracaecum* sp.). För att öka på provmängden tog SLU under BITSQ1 ut ett antal leverar som SVA analyserade avseende *Contracaecum* sp. Analyserna av SLU:s torskleverar bekostades av stiftelsen Thureus Forskarhem med stöd av BalticSea2020, projekt PARACOD. SLU räknade antalet maskar på sina torskleverars yta (mot buksidan) och kategoriserade enligt en dansk manual (opubl). Leverarna klassas då enligt följande: 0 (inga maskar), 1 (1 – 10 maskar), 2 (11 – 20 maskar), 3 (21 – 30 maskar) eller 4 (>30 maskar). Manualen används av övriga länder som deltar i BITS (*pers. komm.* Maria Ovegård, SLU). Motsvarande kategorisering avseende synliga maskar på leverytan saknas för SVA:s torskar. Leverarna frystes inför transport och vidare analys.

Laboratorieanalyser

Contracaecum sp. hos torsk

Leverarna tinades och digererades i digestionsvätska (16 mL saltsyra och 10 g pepsin i 2 L ~45°C kranvatten) enligt metod från EU:s referenslaboratorium för parasiter ([Istituto Superiore di Sanità, Italien](#)) men med vissa modifikationer då metoden är framtagen för finfördelad fiskmuskulatur (SVA, 2019). Isolerade maskar konserverades i en blandning av etanol och glycerol, och räknades och artbedömdes därefter under lupp (SVA, 2019). Efter räkning gjordes även en kategorisering av leverarnas totala innehåll av *Contracaecum* sp. enligt den danska manual som används för kategorisering av antalet maskar på leverns yta.

Histopatologi och cytologi

Histopatologiska prover bäddades, snittades och rutinfärgades (Hematoxylin & Eosin). Blodutstryk fixerades i acetone samt färgades med Giemsa. Läsning gjordes vid 40 – 1000 x förstoring. FDI-mallar för klassifiering/gradering av förändringar i levern (ospecifika skador, tidiga icke neoplastiska toxiska skador, för-neoplastiska förändringar (foci of cellular alteration (FCA)), benigna och maligna tumörer) har inte erhållits. Bedömning har gjorts avseende vakuoliseringsgrad, degeneration/nekros, parasitförekomst, makrofagcentra, inflammation, cellödem, blödningar, FCA och tumörer. Hos skrubbskädda och sandskädda bedömdes även status på pankreas (bukspottskörteln) då denna ligger inbäddad i och runt levervävnaden. Klassning har gjorts utifrån påverkansgrad och utbredning enligt följande:

Påverkansgrad

- För vakuolisering: 0 = ingen till måttlig vakuolisering utan tecken på sjuklig förändring, 0.1=kraftig vakuolisering utan tecken på förfettning, 0.5 = ojämn vakuolisering och 1 = förfettning
- För degeneration/nekros, makrofagcentra, inflammation, blödningar, FCA, tumörer, enzympåverkan i pankreas samt inflammation i pankreas: 0 = ingen, 1 = försumbar, 2 = liten, 3 = måttlig, 4 = kraftig
- För parasiter, cellödem: 0=ingen förekomst, 1=förekomst

Utbredning

- För vakuolisering, degeneration/nekros, makrofagcentra, inflammation, blödningar: 0=avsaknad, 1 = <25%, 2 = 25 – 50%, 3 = 51 – 75%, 4 = >75%
- För parasiter: 0=inga parasiter, 0.5 = <3 parasiter, 1 = 3 – 10 parasiter, 2 = 11 – 30 parasiter, 3 = >30 parasiter

- För cellödem: % av undersökt yta där cellödem förekommer
- För FCA och tumörer: antal FCA/tumörer

Poängen avseende påverkansgrad och utbredning för respektive variabel multiplicerades därefter (de två pankreasvärdena adderades till varandra) och viktades med en faktor 10 (utom cellödem som inte viktades) och den totala leverpoängen räknades ut genom summering av alla variabler. Maximal poäng är 890 plus eventuella poäng för FCA/tumörer. Kategorisering avseende poäng gjordes också enligt: Låg (0 - 99 poäng), medel (100 - 199 poäng) och hög (≥ 200 poäng). Klassningssystemet har använts av SVA under 10 år vid undersökning av tånglake och abborre inom miljöövervakning, men har efter hand och inför årets undersökningar modifierats något för att anpassas till olika arter.

I gonaderna bedömdes mognadsgrad, förekomst av intersex, inflammation (påverkansgrad 0 - 4 och utbredning 0 - 4 enligt ovan nämnd skala) samt infektion (0=ingen, 1=infektion). Inflammationsgraden räknades ut genom multiplikation av påverkansgrad och utbredning och adderades till infektionsstatus för att skapa en sammanlagd sjuklighetsgrad som max kunde hamna på 17 poäng ($4 \times 4 + 1$ enligt ovanstående klassning). En kategorisering av poängen för sjuklighetsgrad gjordes också enligt: ingen, lindrig (1-4 poäng), måttlig (5-10 poäng) och grav (11-17 poäng). Intersex/outvecklade gonader räknades inte in i sjuklighetsstatusen utan bedömdes separat.

Cytologisk bedömning av blod inkluderade differentialräkning av vita blodkroppar (lymfocyter, monocyter/makrofager, neutrofiler, eosinofiler och trombocyter) samt bedömning av de röda blodkropparna (kärn-/formförändringar, inklusioner i cytoplasman samt procentuell förekomst av olika omogna stadier). I en "normal" vit blodbild bör lymfocyter utgöra $>80\%$ av de vita blodkropparna, neutrofiler ska utgöra $<10\%$, trombocyter (blodplättar) $<5\%$ och monocyter/makrofager $<2\%$. Eosinofiler noteras sällan i blod utan framför allt ute i kroppens vävnader. För att kompensera för potentiellt stresspåslag i samband med fångst, vilket kan öka andelen neutrofiler i blodet, sattes gränsen för normal mängd lymfocyter till $\geq 75\%$. Trombocyter inkluderades inte i räkningen, då de ibland har en tendens att aggregera och därmed kan utgöra en oproportionerlig del av de vita blodkropparna.

Virologisk odling

SVA Fisk följer EU-kommissionens föreskrifter avseende diagnostik genom virologisk odling (EU 2015:1554). Två parallella cellkulturer används - Bluegill fry (BF-2) samt Fathead minnow (FHM). Odling görs under två veckor, med subkultivering efter en vecka. Odlingsplattorna avläses regelbundet från dag 4 med slutavläsning dag 14. Vid förekomst av virus genomförs vidare diagnostik med ELISA eller direkt med Realtids-PCR beroende på misstanke. Vid positivt ELISA-test (IPN, IHN, VHS och SVC) konfirmeras diagnosen med Realtids-PCR samt för vissa virus en uppföljande sekvensering avseende genogrupp/genotyp. Vid virusförekomst där ELISA är negativ eller PCR-metodik för misstänkt virus saknas genomförs helgenomsekvensering för att identifiera viruset.

Andra cellkulturer finns att tillgå vid misstanke om specifika virus som inte växer på ovanstående celler, men detta är inte aktuellt för provtagningen av havslevande fisk.

Bakteriologisk odling

Vid förekomst av sår genomförs bakteriologisk odling, som standard på hästblod- och Tryptone Yeast Extracts Salts (TYES)-agar. Beroende på art, vattenförhållanden och misstanke om svårödlad bakterie kan även andra agarsorter användas. Detta inkluderar saltblod- och marinagar på

havslevande fisk samt cysteinagar vid misstanke om *Francisella* sp. Inkubering av agarplattorna görs standardiserat vid 20°C i 5 - 7 dagar, men temperatur och tid kan behöva modifieras utifrån misstanke. Plattorna bedöms utifrån mängd bakterier och utseende på bakterierna. Vid signifikant växt av bakterier (mer än enstaka oidentifierbara kolonier eller ospecifik blandflora) bekräftas misstanke genom MaldiTOF-analys eller biokemiska tester och resistensbedömning för antibiotika genomförs.

Databearbetning

För deskriptiv statistisk bearbetning överfördes data till Stata 15 (Stata Corp., 4905 Lakeway Drive, College Station, Texas, 77845 USA). Utöver ren deskriptiv statistik användes Wilcoxon's rangsummetest, χ^2 -test, Fisher's exact test samt enkel linjär regression för att undersöka samband. GPS-koordinater avseende drag lades in i statistikprogrammet R för generering av kartunderlag.

RESULTAT

Provinsamling

Provtagning inom BITSQ1 genomfördes 26 februari till 7 mars. Provtagning inom IBTSQ3 genomfördes 31 augusti till 4 september. De drag, totalt 39 för BITSQ1 och 19 för IBTSQ3 som ingick i SVA:s provtagning finns inkluderade i **Bild HF2 A-B**.

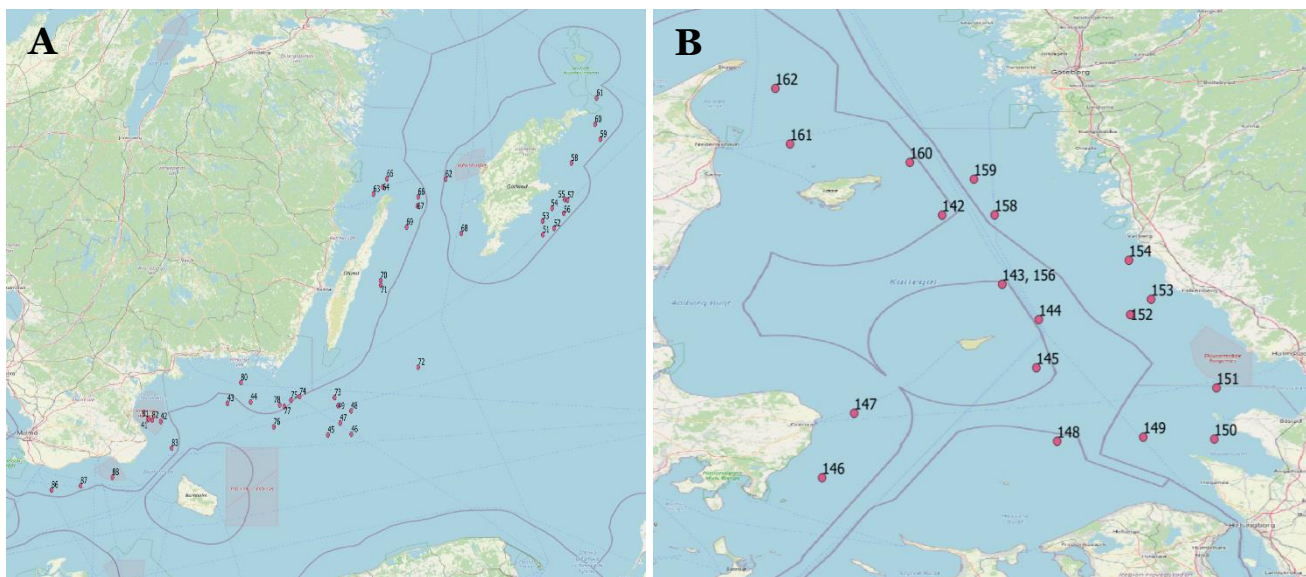


Bild HF2. Positioner för de drag inom A) BITSQ1 och B) IBTSQ3 varifrån fisk för SVA:s hälsoövervakning av havslevande fisk tagits.

Obduktion och provuttag

Totalt provtogs 200 fiskar (99 torskar och 101 skrubbskäddor) under BITSQ1 och 138 fiskar (42 torskar, 27 skrubbskäddor och 69 sandskäddor) under IBTSQ3. Morfometriska data presenteras i **Tabell HF1**.

Tabell HF1. Morfometriska data avseende fiskar provtagna inom hälsoövervakningen av havslevande fisk 2020, fördelat på respektive provtagning.

	Torsk		Skrubbskädda		Sandskädda
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	IBTSQ3
Totalt antal fiskar	99	42	101	27	69
Kön ¹					
hane	43	23	39	11	28
hona	53	19	61	16	41
kön oklart	3		1		
Ålder (år) ²					
hane	0, 0, 12, 23, 5, 1, 0, 1	1, 20, 0, 0, 0, 0, 0, 0			
hona	0, 2, 1, 25, 20, 2, 0, 1	0, 12, 1, 0, 1, 0, 0, 0	Ingen åldersbestämning av plattfisken		
kön oklart ¹	0, 0, 0, 2, 1, 0, 0, 0	-			
Längd (cm) ³					
alla	35 (18, 65)	23 (17, 73)	26 (16, 41)	29 (22, 38)	19 (16, 26)
hane	31 (23, 51)	22 (17, 29)	23 (16, 28)	26 (22, 31)	18 (16, 21)
hona	39 (18, 65)	24 (19, 73)	28 (18, 41)	31.5 (23, 38)	20 (17, 26)
kön oklart ¹	34 (31, 37)				
Vikt (g) ³					
alla	410 (52, 2 654)	119 (46, 3 860)	193 (58, 733)	287 (120, 710)	78 (44, 214)
hane	260 (96, 1 108)	116 (46, 258)	128 (58, 221)	177 (127, 311)	66 (44, 109)
hona	546 (52, 2 654)	129 (78, 3860)	256 (78, 733)	351 (120, 710)	90 (59, 214)
kön oklart ¹	406 (204, 436)		261		
Konditionsfaktor (CF) ³					
alla	0.88 (0.66, 1.24)	0.94 (0.78, 1.40)	1.15 (0.70, 1.79)	1.15 (0.91, 1.31)	1.13 (0.80, 1.41)
hane	0.90 (0.66, 1.08)	0.93 (0.82, 1.40)	1.02 (0.70, 1.62)	1.14 (0.92, 1.25)	1.14 (0.80, 1.36)
hona	0.88 (0.67, 1.24)	0.95 (0.78, 1.14)	1.22 (0.93, 1.79)	1.16 (0.91, 1.31)	1.11 (0.87, 1.41)
kön oklart ¹	0.84 (0.80, 0.86)		0.88		

¹ Avser könsbedömning vid provtagning. Kön oklart=misstanke om intersex eller data saknas; ² Sifforna visar antalet fiskar per ålderskategori enligt 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 år; ³ värden anges som median (min, max)

Yttre och inre fynd utom parasiter

Data avseende yttre och inre makroskopiska fynd exklusive parasiter presenteras i **Tabell HF2**.

Data avseende yttre och inre parasiter presenteras i **Tabell HF3**. Nycklar till kategoriseringen av yttre fynd respektive parasiter återfinns i **Bilaga HF1, Tabell HF4 & Bilaga HF2, Tabell HF5**.

Foton saknades för en torsk (BITSQ1) och 47 sandskäddor (IBTSQ3) och utöver en notering om inre parasiter för tre av sandskäddorna saknades journalnotering för samtliga dessa individer. Efterbedömning har därför inte kunnat göras och data saknas i tabellerna.

Merparten av torskarna - 129 av 140 (92%) bedömda uppvisade inga tecken på skada eller sjukdom. De vanligaste fynden var sårskador (n=10) och rodnader/hyperemier (n=7, klassat som "Övrigt yttre" i **Tabell HF2**). Utöver det noterades fensskador/fenröta (n=4), kletig beläggning på gälar (n=1, "Övrigt yttre"). Under "Övrigt inre" noterades en torsk med misstänkt intersex (stor

genomskinlig/vätskefylld gonad), en lever som var full av blåsor, en grönaktigt missfärgad lever, samt två leverar med en grön klump sammanbunden med levern via en tunn tråd.

Tabell HF2. Yttre och inre fynd utom parasiter hos fisk provtagen inom SVA:s hälsoövervakning av havslevande fisk 2020. Flera olika symptom kan förekomma hos samma fisk, varför summan av symptomfria och antalet noteringar för symptom kan överskrida antalet bedömda fiskar. Siffror i fet stil anger totalantalet fiskar med en typ av förändring där klassning i olika kategorier gjorts.

Fynd	Torsk		Skrubbskädda		Sandskädda	
	BITS	IBTS	BITS	IBTS	IBTS	
Totalt antal fiskar	99	42	101	27	69	
Varav bedömda ¹	98	42	101	26	22	
Symptomfria: antal (%)	80 (82)	39 (93)	26 (26)	6 (23)	8 (36)	
Yttre fynd						
<i>Sår</i>	Stadium ²	9	1	9	6	4
	UlcHaem	-	-	2	5	3
	Pap	5 (3,1,1) ³	-	-	-	-
	UlcAcu	3 (0,3,0) ³	-	2 (2, 0, 0) ³	-	-
	Chron	1 (1,0,0) ³	-	3 (0, 3, 0) ³	-	1 (1, 0, 0) ³
	UlcHe	-	-	1 (1, 0, 0) ³	-	-
	UlcAb	-	1	1	1	-
<i>Fenskada</i>	Akut	4 (3,1) ⁴	0	1 (1, 0) ⁴	1 (1, 0) ⁴	4 (4, 0) ⁴
<i>Avvikande pigmentering</i>	Hyperpig. ³	0	0	2	0	7
	1			2		6
	2					1
	3					
	Anomali ³	0	0	69	15	2
	1			62	7	-
	2			4	9	2
	3			3	-	-
<i>Lymfocystis</i>	Knölar ³	0	0	7	2	0
	1			3		
	2			4	2	
	3					
<i>Övrigt yttre</i>		8	0	6	0	0
Inre fynd						
<i>Granulom</i>		0	0	1	1	4
	Enstaka små			1	1	2
	Flertal små					
	Stora, många					2
<i>Övrigt inre</i>		4		2	0	1

¹ Där foton finns och efterbedömning kunnat göras; ² UlcHaem: små blödningar med nedsänkning i huden, Pap: små blödningar men huden har börjat bukta utåt, UlcAcu: akut öppet (kött)sår, Chron: äldre inflammerat sår, ibland med varbildning med var, UlcHe: sår under avläkning, UlcAb: avläkt sår, ofta med melanisering; ³ Antal fiskar i kategori 1, 2, 3 enligt **Tabell HF4, Bilaga HF1**; ⁴ (<1/4 av fenan, ≥1/4 av fenan)

Av skrubbskäddorna var 32 av 127 (25%) utan några fynd. Absolut vanligast var avvikelser i pigmentering (n=84). Alla dessa klassades som anomalier och två fiskar hade dessutom hyperpigmentering. En pigmenteringsanomali innebär ökad pigmentering på buksidan (**Bild HF3A, B**) och minskad pigmentering (albinism) på ryggsidan (**Bild HF3C**), medan hyperpigmentering karakteriseras av en kraftigare mörk pigmentering på ryggsidan och en ökad vit pigmentering på buksidan (**Bild HF3D**). De flesta av skrubbskäddorna med pigmenteringsanomali (n=76) hade runda olivgröna till bruna fläckar på buksidan som möjligen kan vara ärr från genomgången lymfocystis. Fem hade fält med mörkare pigmentering på buksidan. En skrubbskädda med depigmentering (något genomskinlig) buk klassades också som anomali. Två individer misstänktes

på grund av något ljusare pigmentering och röda fläckar vara hybrider skrubbskädda/rödspätta (**Bild HF3E**). Detta har dock inte noterats som en anomali. Utöver det noterades lymfocystis hos 9st (**Bild HF3F**), sårskador hos 15 st och fenskador hos 2 st skrubbskäddor. Under övriga yttre symptom noterades måttlig ryggradskrökning (n=1), unilateral linsgrumling (n=3), bilateral linsgrumling med deformerad iris (n=1) samt panoftalmit (inflammation i hela ögat, n=1). Alla "ögonfiskar" fångades under BITSQ1. Invändigt noterades enstaka små granulom (n=2), runda vita korn av okänt ursprung (n=1) samt en cysta i mag-tarmpaketet (n=1).

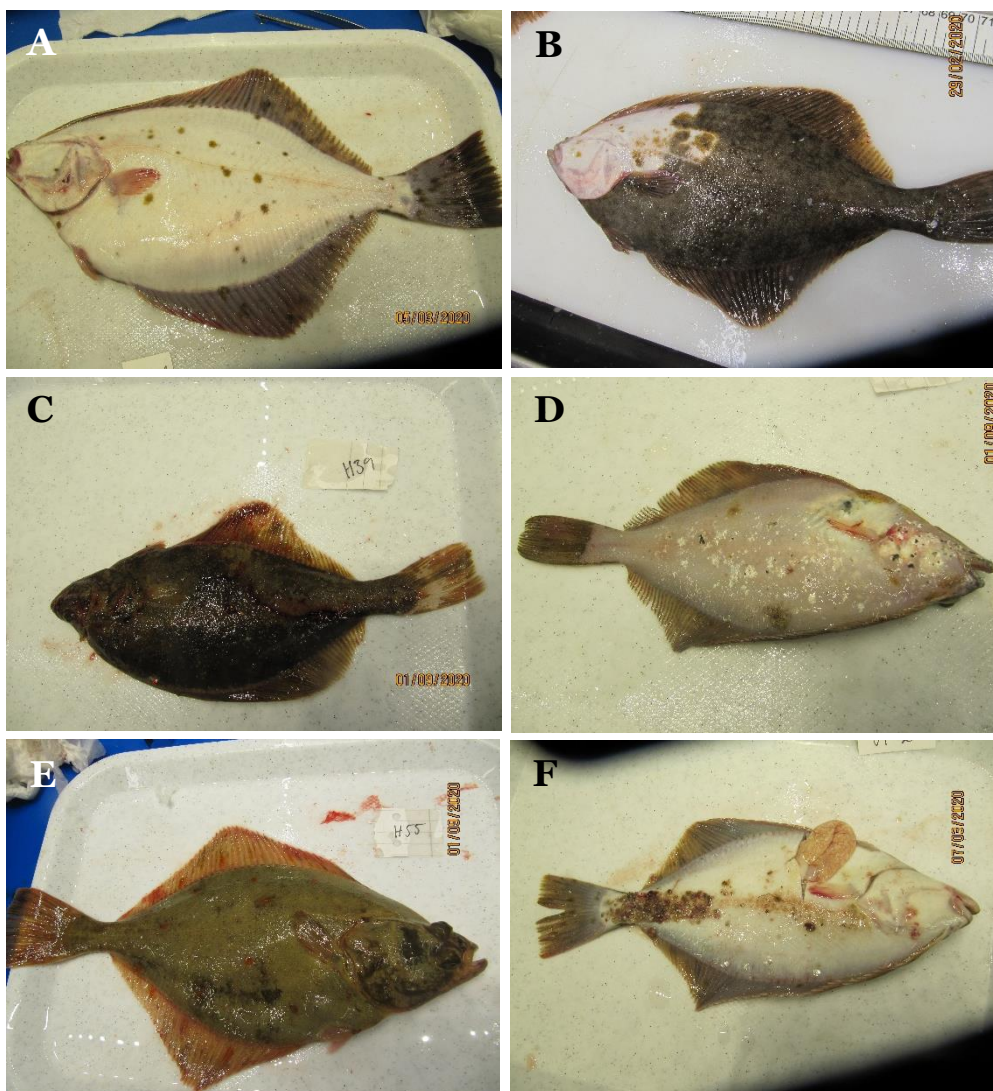


Bild HF3. A-C skrubbskäddor med A) lindrig pigmenteringsanomali på buksidan, B) kraftig pigmenteringsanomali på buksidan, C) Lindrig pigmenteringsanomali på ryggsidan (stjärtfena), D) sandskädda med måttlig hyperpigmentering av buk, E) misstänkt hybrid, F) skrubbskädda med måttlig lymfocystisinfektion.

Av de 22 sandskäddor som kunde bedömas var 8 (36%) helt symptomfria. Liksom hos skrubbskädda var avvikande pigmentering det vanligaste fyndet (n=9), men till skillnad från skrubbskäddorna var hyperpigmentering av buksidan vanligast (n=7, **Bild HF3D**). I övrigt noterades sårskador (n=4), fenskador (n=4). Inre fynd var granulom hos fyra individer och en sandskädda hade en mörk, ojämnt färgad lever.

Yttre och inre makroskopiska parasitfynd

Få individer var infekterade med externt synliga parasiter. Från BITSQ1 noterades infektion hos en torsk samt två skrubbskäddor och från IBTSQ3 hos sex skrubbskäddor. Av de sju ektoparasiter eller utifrån synliga parasiter som är upptagna för kategorisering (**Tabell HF5**) fanns tre arter samt en okänd variant representerade (**Tabell HF6**). De tre kända arterna tillhörde alla gruppen copepoder, där gällöss (*Acanthochondria cornuta*) och hudlöss (*Lepeophtheirus pectoralis*) fanns representerade hos skrubbskädda från både BITSQ1 och IBTSQ3 och *Lernaeocera branchialis* återfanns hos två torskar från IBTSQ3. Hos en torsk noterades parasitära sporecystor på stjärtenens bas, men parasitgrupp (ex Mikrosporidium, Myxosporidium) har inte kunnat bekräftas histologiskt då prov för detta ej togs.

Tabell HF6. Parasitfynd vid makroskopisk inspektion av torsk, skrubbskädda och sandskädda provtagen inom hälsoövervakningen av havslevande fisk 2020.

Fynd	Torsk		Skrubbskädda		Sandskädda
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	IBTSQ3
Totalt antal fiskar	99	42	101	27	69
Varav bedömda ¹	98	42	101	26	22
Yttre parasiter					
<i>Acanthochondria cornuta</i>	0	0	0	1	0
Gällöss					
1				-	
2				-	
3				1	
<i>Lepeophtheirus pectoralis</i>	0	0	1	5	0
Hudlöss					
1			-	1	
2			-	-	
3			1	4	
<i>Lernaeocera branchialis</i>	0	2	0	0	0
Gälparasit					
1		1			
2		1			
3		-			
Övrigt yttre	1	0	0	0	0
Inre parasiter					
<i>Anisakis</i> sp.	0	1	2	1	2
Bukhåla/inre organ					
1		1	1	1	2
2		-	1	-	-
3		-	-	-	-
Annan nematod ²	1 ³	0	7	1	2
Bukvägg/bukhåla/inre organ					
1	1		5	1	2
2	-		1	-	-
3	-		1	-	-
Achanthocephala ⁴	0	0	12	0	1
1			1		1
2			1		-
3			5		-
Okänt/bild saknas			5		-

¹ Avseende gälparasiter har foton endast funnits av fiskar där fynd noterats i samband med provtagning; ² Nematoderna kan inkludera *Contracaecum* sp., men i journalen har bara noterats ”larv” och säker klassning har inte kunnat göras utifrån foton; ³ Avser torskar från BITS där digestion av lever inte genomförts. ⁴ Enbart larv/cyststadier i bukålan noterade, insidan av tarmar har ej kontrollerats.

Invändigt noterades larver av olika nematoder som *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp.-liknande larver (ej arttypade) samt larver som var av helt okänd art hos alla tre provtagna fiskarter. Torskleverar som togs för digering och räkning av antal nematoder finns inte med i bedömningen avseende

”Annan nematod” i **Tabell HF6**. Avseende dessa torskars parasitbörda, se avsnittet ”Förekomst av *Contracaecum* sp. i torsk” nedan. Cystor med hakmasklarver (phylum Acanthocephala) hittades hos 12 skrubbskäddor från BITSQ1 och hos en sandskädda från IBTSQ3.

Laboratorieanalyser

Förekomst av *Contracaecum* sp. i torsk

Förutom en individ var alla SVA:s torsk i IBTSQ3 <35 cm. Förekomst av *Contracaecum* sp. i levern analyserades därför enbart för torsk från BITSQ1.

Totalt räknades parasiter från 129 torsk från ICES-områden 24, 25, 27 och 28. Fyrtiofyra torsk tillhörde SVA:s provmaterial och 85 st tillhörde SLU:s provmaterial. Median-, min- och maxvärden för längd, CF och ålder fördelat på alla provtagna torsk samt oinfekterade och infekterade individer finns i **Tabell HF7**. Åldersbestämning gjordes av SLU genom undersökning av otoliter.

Anisakida larver återfanns hos 81 (63%) av torskarna efter digestion. Hos 43 av dessa torsk fanns larver som delvis lösts upp och saknade *Contracaecum* sp:s karakteristiska ”svanstipp”.

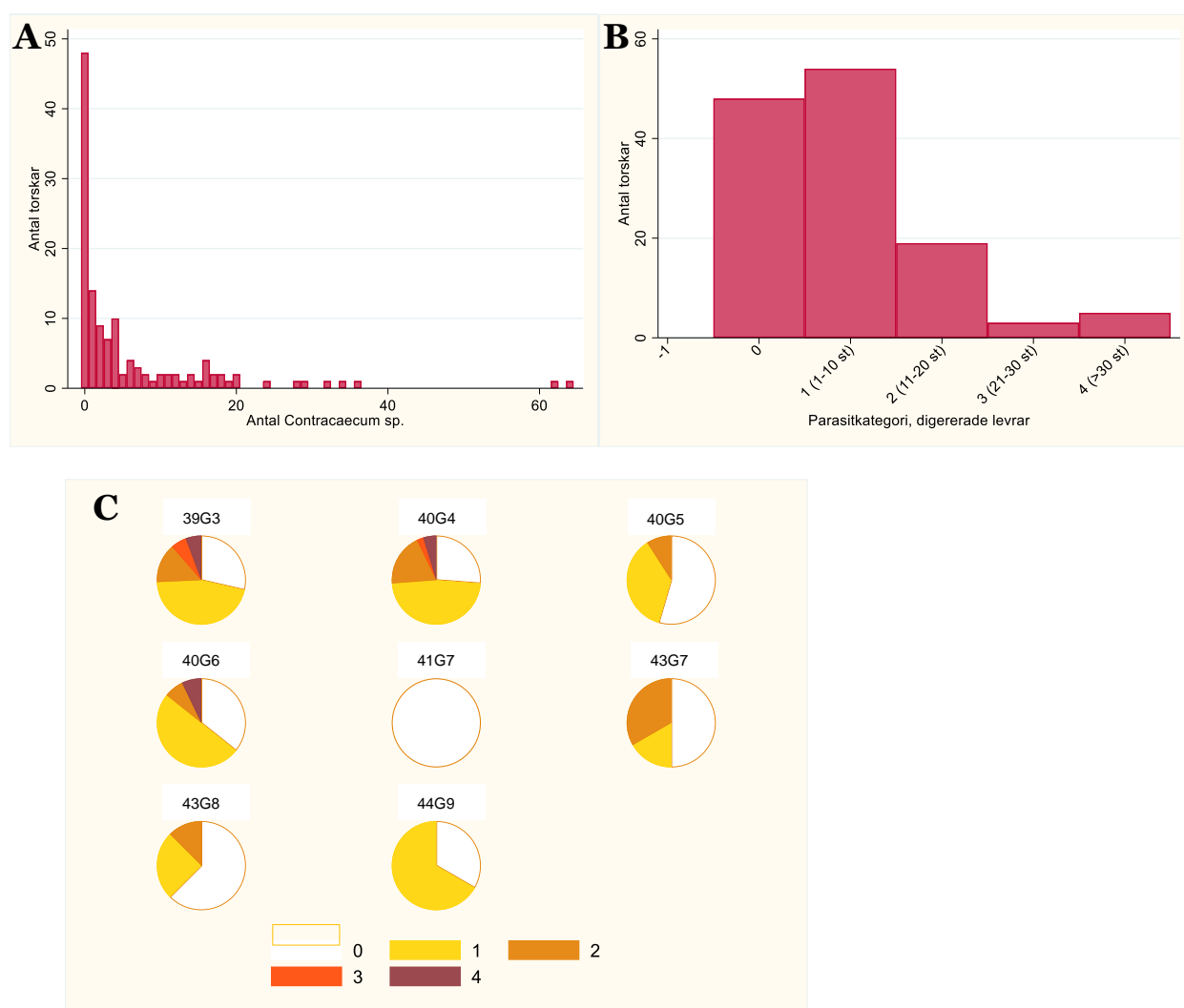
Karakteristiska *Contracaecum* sp. identifierades hos 34 av dessa 43 torsk. Hos torsk med mer än ~30 larver gjordes en noggrann inspektion av 10 larver och en överskådlig bedömning av övriga. I slutändan bedömdes alla dessa parasiter vara *Contracaecum* sp. Hos fyra torsk hittades 1 – 2 hårt hoprullade larver som sannolikt var *Anisakis simplex*. Dessa enstaka har inte tagits med i beräkningarna nedan. Alla oinfekterade individer återfanns i åldersgruppen 3 – 4 år, medan infekterade individer återfanns i alla åldersgrupper. Infekterade individer var signifikant äldre och längre än oinfekterade individer men det fanns ingen skillnad i CF mellan oinfekterade och infekterade individer (Wilcoxons rangsummetest, **Tabell HF7**).

Tabell HF7. Morfometriska data för torsk vars lever analyserats för förekomst av *Contracaecum* sp. samt jämförelse (Wilcoxons rangsummetest) mellan oinfekterade och infekterade individer.

Mått	Fiskar	Median (min, max)	Wilcoxons rangsummetest	
			Z	p
Längd (cm)	Alla (n=129)	40 (33, 57)		
	Oinfekterade (n=48)	38 (33, 51)	-3.19	<0.05
	Infekterade (n=81)	41 (35, 57)		
Konditionsfaktor (CF)	Alla (n=129)	0.90 (0.67, 1.24)		
	Oinfekterade (n=48)	0.90 (0.77, 1.24)	0.48	0.63
	Infekterade (n=81)	0.91 (0.67, 1.11)		
Ålder (år)	Alla (n=129)	4 (3, 7)		
	Oinfekterade (n=48)	3 (3, 4)	-4.94	<0.001
	Infekterade (n=81)	4 (3, 7)		

Antalet *Contracaecum* sp. i infekterade individer varierade från 1 till 64 st, där merparten var infekterade med ett fåtal larver (**Figur HF1A**). Kategorisering av alla 129 lever enligt det totala innehållet av *Contracaecum* sp. gav följande resultat 0: n=48 (37%), 1: n=54 (42%), 2: n=19 (15%), 3: n=3 (2%), 4: n=5 (4%) (**Figur HF1B**). Andelen torsk inom respektive kategori och per ICES-ruta ses i **Figur HF1C**.

Figur HF1. *Contracaecum* sp. i levern hos 129 torskar enligt A) totalantalet maskar, B) kategorisering samt C) andelen torskar inom respektive kategori fördelat över de ICES-rutor som provtagits



De 85 leverar som kom från SLU hade kategoriserats förekomst av *Contracaecum* sp. på ytan enligt 0: n=41 (48%), 1: n=42 (49%) och 2: n=2 (2%). En jämförelse mellan antalet synliga *Contracaecum* sp. på leverns yta och totalantalet *Contracaecum* sp. gjordes för att bedöma tillförlitligheten av yt-klassificeringen. **Tabell HF8** visar en matris över korrelationen för de två kategoriseringarna för SLU:s 85 leverar. Överensstämmelsen var 81% (21 av 26 leverar) för kategori 0; 53% (20 av 38) för kategori 1; 7% (1 av 15) för kategori 2; samt 0 % (0 av 3) för kategori 3 och 4.

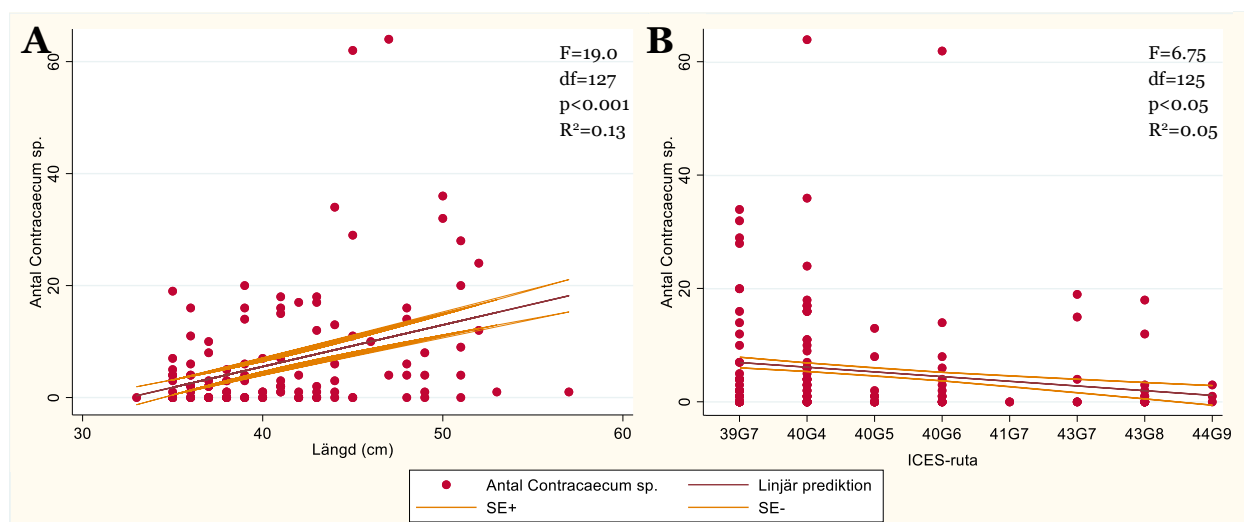
Tabell HF8. Kategorisering av antalet *Contracaecum* sp. på leverns yta jämfört med kategoriseringen av leverns totalinnehåll av *Contracaecum* sp. Vita rutor motsvarar överensstämmelse mellan kategorierna, ljusrosa visar viss avvikelse och mörkrosa visar total diskrepans.

<i>Contracaecum</i> sp. på leverns yta	Totalantal <i>Contracaecum</i> sp.				
	0	1 (1 – 10 st)	2 (11 – 20 st)	3 (21 – 30 st)	4 (>30 st)
0 (inga parasiter)	21	18	1	-	1
1 (1 – 10 st)	5	20	13	2	2
2 (11 – 20 st)	-	-	1	1	-

För att undersöka huruvida torskens längd/ålder, CF eller geografisk lokalisation (ICES-ruta) hade något samband med antalet isolerade *Contracaecum* sp. genomfördes enkel linjär regression. Tre- och fyraåriga torskars max-/minlängd var större/mindre än för fem- och sjuåringar, undantaget en femårig torsk men det fanns ändå ett signifikant linjärt samband ($F=50.7$, 127 df, $p<0.001$) mellan ökad längd och ökad ålder. Längd valdes i slutändan som mått på torskens exponering för *Contracaecum* sp. på grund av att det finns en viss osäkerhet i åldersbestämningen.

Det fanns ett signifikant positivt samband ($p<0.001$) mellan exponeringstid (längd) och antal *Contracaecum* sp. (**Figur HF2A**), och ett nära signifikant samband ($p=0.056$) mellan ICES-ruta och antal *Contracaecum* sp. (**Figur HF2B**). Två torskars stack ut gentemot övriga med >60 *Contracaecum* sp., i övrigt hade alla torskars <40 *Contracaecum* sp. Dessa två torskars var fyra respektive sju år gamla och kom från ICES-område 25, ruta 40G4 och 40G6 (Hanöbukten och söder om Öland). Sådana "outliers" kan påverka modellering avsevärt. Att plocka bort dem påverkade inte modellen för parasitbörda vs. längd, däremot blev modellen för parasitbörda vs. ICES-ruta signifikant ($F=6.75$, 125 df, $p<0.05$, $R^2=0.05$). Mängden *Contracaecum* sp. per torsk minskade med ökat värde på ICES-rutan, vilket innebär en minskad parasitbörda ju längre österut och norrut i Östersjön fisken var provtagen.

Figur HF2. A) Antal *Contracaecum* sp. vs. längd och B) Antal *Contracaecum* sp. vs. ICES-ruta. Den mörkröda linjen representerar den linjära prediktionen från regressionen, medan de omgivande linjerna representerar \pm SE. De två torskarna med extrem parasitbörda har plottats i båda diagrammen, men finns inte med i den linjära regressionen för diagram B).



Histopatologi och cytologi

Fixering av lever och gonad missades för en skrubbskädda från BITSQ1 samt en skrubbskädda och en torsk från IBTSQ3. Dessutom saknades fixerad gonadvävnad från ytterligare tre torskar, varav en från BITSQ1 och två från IBTSQ3, en skrubbskädda från BITSQ1 och en sandskädda från BITSQ3. Bedömning av båda organen kunde därför göras för 330 individer och enbart av levern för fem individer medan tre individer saknas helt.

Blodutstryk fanns för 98 torskar från BITSQ1 och 41 torskar från IBTSQ3, 100 skrubbskäddor från BITSQ1 och alla 26 skrubbskäddor från IBTSQ3 samt 65 sandskäddor från IBTSQ3.

Parasitförekomst

En sammanställning av parasitfynd i samband med den histopatologiska undersökningen av lever- och gonadsnitt finns i **Tabell HF9**. Parasiter som påvisades i levern eller på leverns yta hos torsk var larver av rundmask (n=37), trematoder/plattmaskar eller myxosporidier i gallgångarna (n=7), en lever med stora tomma parasitcystor och en med en stor trematod mellan leverloberna (båda registrerade under "Övrigt" i **Tabell HF9**) samt mikrosporidieliknande cystor i lever eller ovarie (n=1 vardera). En jämförelse av antalet påvisade *Contracaecum* sp. vid digererings vs. fynd av nematoder vid histopatologisk bedömning av samma leverar visade inte fullständig korrelation. För de 44 leverar som digererats avseende förekomst av *Contracaecum* sp. var 26 helt överensstämmande genom antingen frånvaro av nematoder (n=15) eller att det gjordes fynd av nematoder (n=11) vid båda undersökningarna. För 11 torskar noterades *Contracaecum* sp. efter digestion men inte i snitten, medan 7 torskar som var negativa för *Contracaecum* sp. efter digestion hade nematoder i snitten.

Även hos skrubbskädda och sandskädda förekom Anisakida nematoder i levern. Dessutom påvisades hakmasklarver (phylum Acanthocephala) hos sju skrubbskäddor och en sandskädda. Av dessa var det endast hos tre skrubbskäddor som hakmaskcystor noterats vid den makroskopiska undersökningen trots att merparten av cystorna som sågs i snitten låg på leverns yta (resterande låg mellan leverloben), och hos nio individer där cystor noterats makroskopiskt fanns parasiterna inte med i snitt. Hos sandskädda påvisades granulom med mycket små nematoder i hos tre fiskar. Vad det rör sig om för art är oklart. Hos en skrubbskädda hittades enstaka mikrosporidiecystor i levern och hos två sandskäddor hittades mikrosporidiecystor i gonaderna. Den ena gonaden saknade helt normal ovarievävnad, alla oocyter var invaderade av parasiter (**Bild HF4F**). Detta var också klart synligt makroskopiskt då denna fisk hade massiv förekomst av stora granulom i de inre organen.

Tabell HF9. Parasitfynd vid histopatologisk undersökning av leverar och gonader hos fiskar ingående i hälsoundersökningarna av havslevande fisk 2020. Siffror i fet stil på parasitgruppens första rad anger totalantalet individer med påvisad infektion. Om endast en siffra anges avser det infektion i eller i anslutning till levern. Där infektion påvisats i gonad anges siffror som lever/gonad.

Fynd	Torsk		Skrubbskädda		Sandskädda
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	IBTSQ3
Totalt antal fiskar	99	42	101	27	69
Varav bedömda (lever/gonad)	99/98	41/39	100/99	26/26	69/68
Antal parasiter					
Nematoder (Anisakidae)	32	5	4	3	3
1-2	11	2	4	3	2
3-10	16	2	-	-	1
11-30	4	1	-	-	-
>30	1	-	-	-	-
Granulom med mindre nematoder	0	0	0	0	4
1-2					3
3-10					-
11-30					1
>30					-
Achanthocephala	0	0	7	0	1
1-2			5		1
3-10			2		-
11-30			-		-
>30			-		-
Övriga ¹	1	1	2		2
1-2	-	1	2		2
3-10	-	-	-		-
11-30	1	-	-		-
>30	-	-	-		-
Gallgångsparasiter ²	2	5	0	0	0
1-2	1	-			
3-10	-	1			
11-30	1	3			
>30	-	-			
Mikrosporidier	1	0/1	0	1	0/2
1-2	1	-		1	-
3-10	-	0/1		-	0/1
11-30	-	-		-	-
>30	-	-		-	0/1 ³

¹ en lever full av tomma parasitcystor (torsk BITSQ1), en stor trematod (torsk IBTSQ3), en lever med förkalkat parasitgranulom och en lever med granulom (skrubbskädda BITSQ1) samt en lever med granulom och en lever med en tom parasitcysta i anslutning till pankreasvävnad (Skrubbskädda, IBTSQ3); ² en del degenererade parasiter av oklart ursprung (myxosporidier eller trematoder) samt en del tydliga trematoder; ³ Helt genomsatt av mikrosporidiegranulom, ingen normal ovarievävnad

Lever

Den totala leverpoängen och poäng per parameter har inte jämförts mellan torsk och plattfiskar, däremot har skrubbskädda och sandskädda jämförts med varandra då de delar ekologisk nisch. Sammanfattande data avseende total poäng och poäng per parameter finns i **Tabell HF10**. För totalpoäng anges även antal fiskar med lindrig, måttlig och hög poäng. För vakuolisering anges även antal fiskar i respektive kategori av påverkansgrad. Tumörer noterades inte hos någon fisk och har därför uteslutits ur tabellen. Signifikant olika medianvärden (Wilcoxons rangsummetest) anges med upphöjda bokstäver i tabellen.

Tabell HF10. Histopatologisk bedömning av leverar från fisk provtagen inom hälsoövervakningen av havslevande fisk 2020.

	Torsk		Skrubbskädda		Sandskädda
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	IBTSQ3
Totalt antal fiskar	99	42	101	27	69
Varav bedömda	99	41	100	26	69
Parameter¹					
Total poäng Medel/median (min, max)	172.6/155 (40, 475)^{aa}	140.3/129 (30, 315)^{aa}	177.4/155(45, 530)^b	167.9/167 (105, 260)	190.4/195 (55, 320)^b
<i>Antal fiskar i kategori</i> Lindrig (0 - 99)	2	10	15	0	3
Måttlig (100 - 199)	73	22	53	22	35
Grav (≥200)	24	9	32	4	31
Vakuolisering (0 - 40)	26.4/40 (0, 40) ^{aaa}	6.7/0 (0, 40) ^{aaa}	0.8/0 (0, 10) ^{c, eee}	3.3/0 (0, 40) ^c	5.2/4 (0, 40) ^{eee}
Medel/median (min, max)					
<i>Antal fiskar i kategori</i> ²					
0	4	21	84	16	27
0.1	32	9	2	5	10
0.5	2	6	14	4	28
1	61	5	0	1	4
Degeneration (0 - 160)					
Medel/median (min, max)	3.9/0 (0, 80) ^{bbb}	20.2/0 (0, 80) ^{bbb}	21.5/10 (0, 80)	22.6/20 (0, 80)	26.7/30 (0, 80)
Parasiter (0 - 30)					
Medel/median (min, max)	3.8/0 (0, 30)	2.6/0 (0, 20)	0.8/0 (0, 10)	0.7/0 (0, 5)	1.0/0 (0, 20)
Makrofagcentra (0 - 160)					
Medel/median (min, max)	14.8/0 (0, 120) ^a	6.2/0 (0, 60) ^a	64.5/60 (0, 160) ^d	43.0/40 (0, 120)	43.8/40 (0, 120) ^d
Inflammation (0 - 160)					
Medel/median (min, max)	26.8/20 (0, 160)	20.7/15 (0, 90)	20.5/10 (0, 160) ^{fff}	14.4/0 (0, 90) ^{ggg}	29.4/20 (0, 120) ^{fff, ggg}
Cellödem (0 - 100)					
Medel/median (min, max)	92.8/95 (10, 95) ^{ccc}	67.6/92.5 (0, 95) ^{ccc}	49.3/50 (0, 95) ^{hhh}	60.2/60 (0, 95)	69.1/95 (5, 95) ^{hhh}
Blödning (0 - 160)					
Medel/median (min, max)	4.0/0 (0, 80) ^{ddd}	12.4/0 (0, 80) ^{ddd}	2.2/0 (0, 30) ⁱⁱⁱ	5.9/0 (0, 80)	10.3/0 (0, 60) ⁱⁱⁱ
FCA					
Medel/median (min, max)	0	0	1.1/0 (0, 80) ^{bb, jii}	3.3 (0, 30) ^{bb}	4.9/0 (0, 80) ^{jii}
Pankreas (0 - 80)					
Medel/median (min, max)	0	0.5/0 (0, 10)	15.0/10 (0, 70) ^e	8.1/0 (0, 30) ^e	0

¹ Siffran inom parentes efter variabelnamnet anger möjligt poängspann för variabeln; ² 0=ingen - måttlig vakuolisering, 0.1=kraftig vakuolisering utan förfettnings, 0.5=ojämn vakuolisering, 1=förfettnings; ^{a, aa, aaa} etc. Variabler med samma bokstav skiljer sig signifikant från varandra enligt p<0.05, p<0.01 eller p<0.001 (Wilcoxon's rangsummetest).

Torsk från BITSQ1 hade signifikant högre medianvärde på totalpoängen än torsk från IBTSQ3. Det fanns ingen signifikant skillnad i totalpoäng mellan skrubbskäddor från de två provtagningarna eller mellan sandskädda och skrubbskädda i IBTSQ3, däremot hade skrubbskäddorna från BITSQ1 signifikant lägre medianvärde på totalpoängen för levern än sandskäddorna.

Hos torsken i BITSQ1 bidrog vakuolisering i hög grad till fiskarnas poäng, på köpet kommer nämligen omfattande cellödem då kraftig vakuolisering förstör cellerna och därmed minskar utrymmet mellan dem. Från BITSQ1 hade 93 av 99 (94%) av torskarna kraftigt vakuoliserade leverar, varav 66% uppvisade tecken på förfettning. Motsvarande siffror för IBTSQ3 var 14 av 41 (34 %) leverar med kraftig vakuolisering, varav 36% uppvisade tecken på förfettning. Totalt åtta torsk uppvisade en ojämn vakuolisering av levern. Vakuoliseringsgrad och grad av cellödem var signifikant högre hos BITSQ1-torsken än hos IBTSQ3-torsken. Även förekomsten av makrofagcentra var högre hos torsk från BITSQ1 medan förekomsten av degeneration/ vävnadsdöd och blödningar var lägre hos torsken i BITSQ1 än hos torsken i IBTSQ3. Hos torsk i IBTSQ3 var det relativt vanligt med pankreasvävnad insprängd i levervävnaden, något som inte alls observerades hos torsk i BITSQ1. Hos två av torskarna i IBTSQ3 förekom lindrig enzympåverkan i pankreas.

Hos skrubbskädda och sandskädda var vakuoliseringsgraden synbart lägre än hos torsken men en större andel skrubbskädda i BITSQ1 och sandskädda än torsken hade ojämn vakuolisering av levern. Sandskäddor hade signifikant högre vakuoliseringsgrad än skrubbskäddor och skrubbskäddorna i IBTSQ3 hade signifikant högre vakuoliseringsgrad än skrubbskäddorna i BITSQ1. Sandskäddorna hade också en högre grad av cellödem än skrubbskäddor i BITSQ1. Skrubbskäddorna i BITSQ1 hade signifikant större mängd och storlek på makrofagcentra än sandskäddorna och nästan signifikant större mängd/storlek på makrofagcentra än skrubbskäddorna i IBTSQ3 ($p=0.053$). Sandskäddorna hade signifikant högre inflammationsgrad än skrubbskäddorna från både BITSQ1 och IBTSQ3, samt signifikant mer blödningar än skrubbskäddorna i BITSQ1 och nästan signifikant mer blödningar än skrubbskäddorna i IBTSQ1 ($p=0.057$). FCA förekom i högre grad hos både sandskädda och skrubbskädda i IBTSQ3 än hos skrubbskäddorna i BITSQ1. Sjukliga förändringar i pankreas var vanligare hos skrubbskäddor i BITSQ1 än hos skrubbskäddor i IBTSQ3 och förekom inte alls hos sandskäddor. De sjukliga förändringarna bestod i enzympåverkan, vävnadsdöd och inflammation.

Gonader

Reproduktionsstörningar

Avvikelser i gonadutveckling noterades hos 7 (7%) av 99 torsk i BITSQ1. Hos övriga fiskar i BITSQ1 och IBTSQ3 bedömdes mognadsgraden som normal för åldersgruppen (torsk) samt säsong (alla arter). Samtliga torsk som hade onormal gonadutveckling bedömdes utifrån otoliter vara i åldern tre till fyra år. Av de sju torskarna var en intersex, en var misstänkt intersex och övriga hade underutvecklade gonader. Exempel på fynd finns i **Bild HF4**.

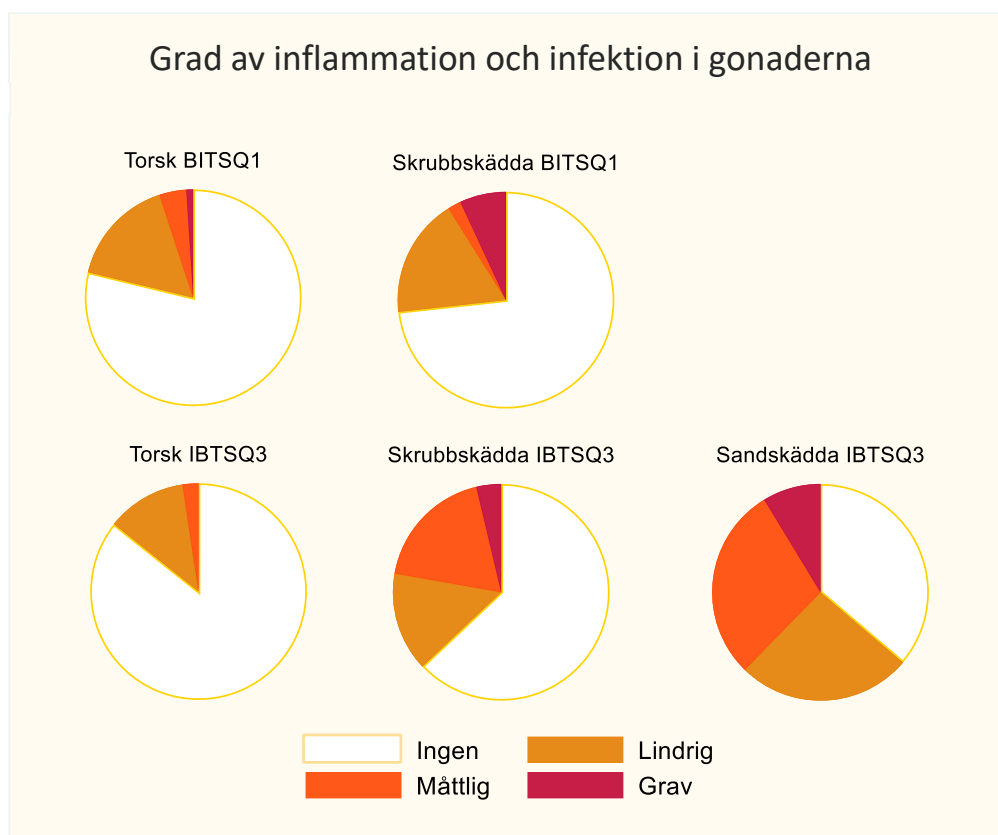
En torsk hade bedömts som hona med underutvecklad gonad vid provtagning. Vid histopatologisk undersökning identifierades en blandning av ovarievävnad och testisvävnad varför fisken klassades som intersex (**Bild HF4H**). En torsk klassades som misstänkt intersex redan vid provtagningen, då gonaden (liknande romsäck) var fylld av ett genomskinligt innehåll. Provuttag missades, varför histopatologisk bedömning inte kunnat göras. En torsk hade klassats som hane vid provtagning men gonaden innehöll utvecklad ovarievävnad med kraftig inblandning av bindväv (**Bild HF4G**). Två torsk som hade klassats som hane vid provtagningen hade hanlig struktur på gonaderna men dessa var förkrympta och det fanns inte ens utvecklade spermier utan bara lucker stödjevävnad

(Bild HF4E). Ytterligare en torsk som hade klassats som hane hade enbart förekomst av omogna spermierstadier (spermatocyter) (Bild HF4C). Delning av könsceller (meios) kunde noteras men det fanns inga tecken på vidareutveckling. Gonaden omgavs av en kraftig bindvävskapsel och ca 50% av vävnaden bestod enbart av lucker stödjevävnad. Hanen såg generellt underutvecklad ut, han var tunn (CF 0.66) och hade stora ögon. Slutligen hade en hona en mycket liten romsäck och vid histopatologisk undersökning identifierades ovarievävnad med låg utvecklingsgrad.

Sjuklighetsgrad

Av 330 undersökta fiskar förekom sjukliga förändringar i form av inflammation och/eller uppenbar infektion hos 108 st (33%). Parasitförekomst (Bild HF4D, F), vilket var den typ av infektion som identifierades, finns definierad i tidigare stycke och Tabell HF9. Fördelningen av allvarlighetsgrad av förändringarna per art och provtagning finns i Figur HF3. Sjukliga förändringar förekom hos 27 av 137 (19.7%) torskar, hos 37 av 125 (29.6%) skrubbskäddor och hos 44 av 68 (64.7%) sandskäddor. Signifikant fler sandskäddor hade sjukliga förändringar jämfört med torsk ($\chi^2=40.6$, $p<0.001$) och skrubbskädda ($\chi^2=22.3$, $p<0.001$), däremot fanns det ingen signifikant skillnad mellan torsk och skrubbskädda ($\chi^2=3.5$, $p<0.06$). Måttliga till grava sjukliga förändringar förekom i högre grad hos sandskädda och hos skrubbskädda än hos torsk i IBTSQ3 (Fisher's exact test (dubbelsidigt), $p<0.001$ respektive $p<0.05$). Mellan sandskädda och skrubbskädda i IBTSQ3 samt mellan skrubbskädda och torsk i BITSQ1 fanns inga signifikanta skillnader avseende förekomst av måttliga till grava förändringar.

Figur HF3. Kategoriserad sjuklighetsgrad¹ i gonaderna hos torsk, skrubbskädda och sandskädda provtagna inom vildfiskövervakningen 2020.



¹ Ingen=inga inflammatoriska eller infektiösa förändringar, lindrig=sjuklighetsgrad 1 – 4, måttlig=sjuklighetsgrad 5 – 10, grav=sjuklighetsgrad 11 – 17

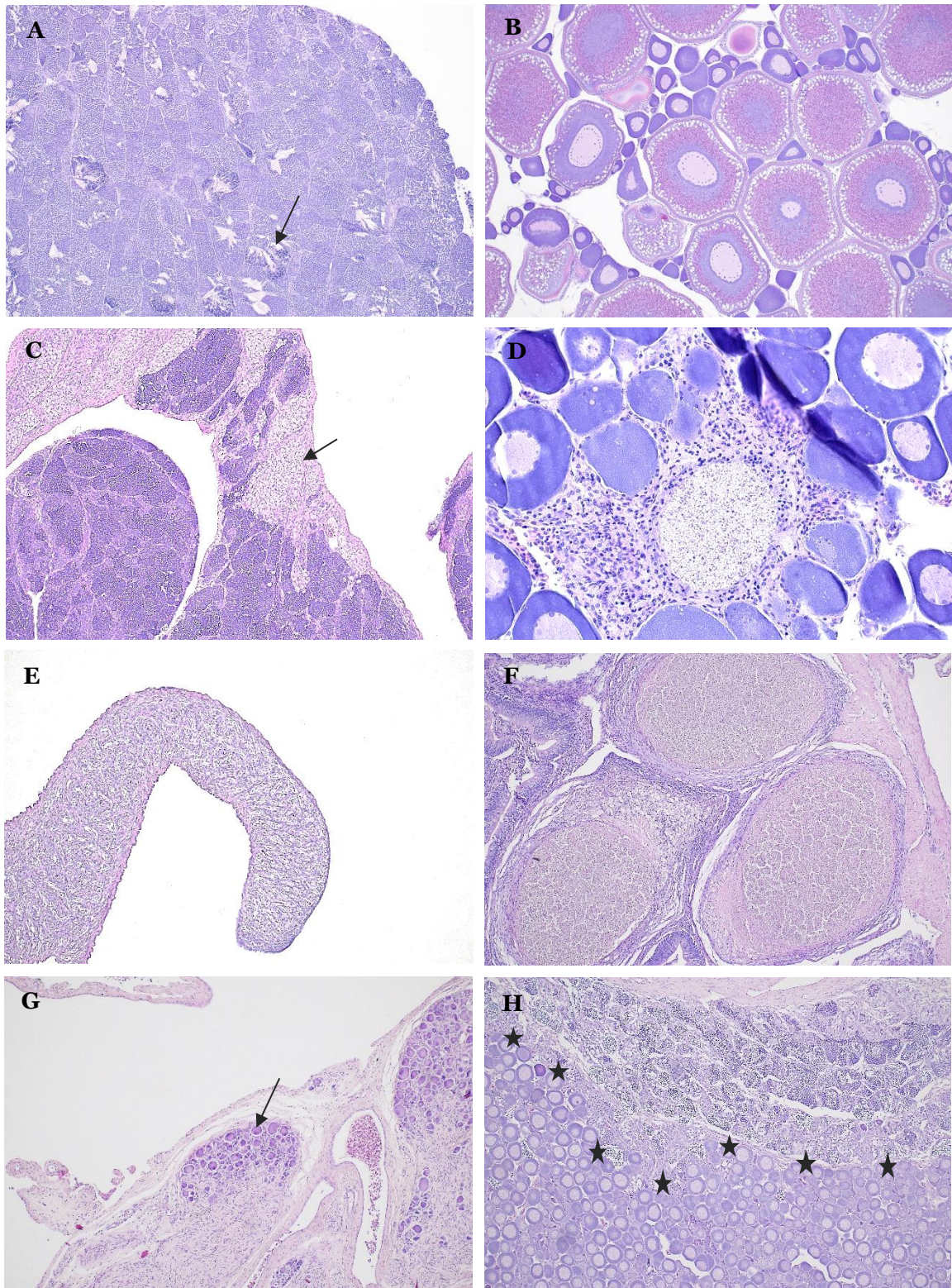


Bild HF4. Exempel på fynd i gonader inom BITSQ1/IBTSQ3. A) Normal testis, torsk. Pil: fokus med mogna spermier. B) Normalt ovarie, olika utvecklingsstadier, torsk. C) Testis, torsk. Låg mognadsgrad samt områden utan spermatocyter (pil). D) Ovarie, torsk. Mikrosporidieliknande parasit i stödjevävnad, kraftig inflammation. E). Helt utvecklad testis, torsk, ingen förekomst av spermatocyter. F). Ovarie med parasitgranulom, sandskädda. Alla oocyter var infekterade med mikrosporidieliknande parasiter. G). Gonad, torsk”hane” med utvecklad ovarievävnad (pil). H) Intersex, torsk. Stjärnor markerar gräns mellan ovarie- och testisvävnad. I gonaden fanns även områden där olika könsceller förekom blandat.

Hos torsk noterades inga signifikanta skillnader i andel fiskar med sjukliga förändringar mellan BITSQ1 och IBTSQ3. Däremot noterades sjukliga förändringar hos fler honor än hanar (21 av 69 (30.4%) respektive 5 av 67 (7.5%), Fisher's exact test (dubbelsidigt), $p=0.001$). Skillnaden mellan honor och hanar förekom både i BITSQ1 och IBTSQ3 (Fisher's exact test (dubbelsidigt), $p<0.05$ respektive $p<0.01$). Merparten av de sjukliga förändringarna var av lindrig karaktär (**Figur HF3**). Fem honor hade förändringar av måttlig grad och en hane hade förändringar av grav karaktär.

Hos skrubbskädda noterades inga signifikanta skillnader i andel fiskar med sjukliga förändringar mellan BITSQ1 och IBTSQ3. Sammantaget fanns inte heller skillnader i sjuklighet mellan honor och hanar. Däremot var det en signifikant lägre andel honor än hanar som hade sjukliga förändringar i IBTSQ3 (3 av 12 (25.0%) respektive 7 av 11 (63.6%), Fisher's exact test (dubbelsidigt), $p<0.05$). Två honor och en hane hade sjukliga förändringar av måttlig karaktär och fyra fiskar av vardera kön hade förändringar av grav karaktär.

Hos sandskägda var det signifikant fler honor än hanar som uppvisade sjukliga förändringar i gonaderna (38 av 41 (92.7%) respektive 6 av 27 (22.2%), Fisher's exact test (dubbelsidigt), $p<0.001$). Av de 38 honorna med sjukliga förändringar hade 14 st lindriga förändringar, 18 st hade måttliga förändringar och 6 st hade grava förändringar. Av de sex hanarna hade fyra lindriga förändringar och två hade måttliga förändringar.

Blod

Röd blodbild

Förekomst av omogna röda blodkroppar (minst 1 av 100 räknade röda blodkroppar) noterades hos 77% av torsken i BITSQ1, 22% av torsken i IBTSQ3, 8% av skrubbskägda i BITSQ1 och 37% av sandskägda i IBTSQ3 men inte hos skrubbskägda i IBTSQ3. I merparten av fiskarna förekom proerythrocyter, det sista stadiet innan blodkropparna uppnår mognad, och förekomsten låg på 0 – 10% hos torsk, 0 – 5% hos skrubbskägda och 0 – 18% hos sandskägda. Enstaka proerythrocyter ($<1/100$ erythrocyter) noterades hos ytterligare ett antal fiskar under screeningen av blodutstryken. Hos en torsk från BITSQ1 och sju sandskägda från IBTSQ3 förekom enstaka erythroblaster typ II. Inga genomgående förändringar i de röda blodkropparnas form, kärnornas form eller inklusioner i cytoplasman noterades.

Vit blodbild

Rikligt med vita blodkroppar (baserat på en bedömning vid läsning av blodutstryken, en räkning av andelen vita blodkroppar av totalmängden blodkroppar har inte gjorts) noterades hos fyra torsk i BITSQ1, fem skrubbskägda i BITSQ1, en skrubbskägda i IBTSQ3 och 10 sandskägda i IBTSQ3. Hos torsk varierade andelen lymfocyter mellan 48 - 98%. Hos signifikant fler torsk i BITSQ1 än i IBTSQ3 utgjorde lymfocyterna en normal andel ($\geq 75\%$) av de vita blodkropparna (86% respektive 63%, $\chi^2=8.7$, $p<0.01$). Motsvarande värden för skrubbskägda var 66 – 99% lymfocyter, där lymfocyterna utgjorde en normal andel av de vita blodkropparna hos 89% (BITSQ1) respektive 85% (IBTSQ3) av fiskarna. Hos skrubbskägda var andelen lymfocyter 21 - 98%, och utgjorde en normal andel av de vita blodkropparna hos 88% av fiskarna.

Neutrofiler observerades endast hos 18% av torskarna i BITSQ1, 2% av torskarna i IBTSQ3, 26% av skrubbskägda i BITSQ1, 0% av skrubbskägda i IBTSQ3 och 9% av sandskägda i IBTSQ3 och utgjorde i de fall de observerades max 4% av de vita blodkropparna. De resterande vita blodkropparna (utöver lymfocyter) utgjordes i stället i huvudsak av vad som bedömdes vara monocytter/makrofager (2 – 52% hos torsk, 1 – 34% hos skrubbskägda och 2 – 87% hos sandskägda). För denna vita blodkropp gjordes också en bedömning av mängden aktiva celler (celler med vakuoler, orsakade av fagocytos av antigener etc). Aktiverade monocytter/makrofager

förekom hos 80 % av torskarna i BITSQ1, 54% av torskarna i IBTSQ3, 65% av skrubbskäddorna i BITSQ1, 23% av skrubbskäddorna i IBTSQ3 och 20% av sandskäddorna i IBTSQ3.

Virologisk och bakteriologisk odling

Virologisk odling gjordes från tre skrubbskäddor och bakteriologisk odling gjordes från njure hos fem fiskar i BITSQ1. Prover togs ut för virologisk och bakteriologisk odling även under IBTSQ3 men blev kvarglömda på båten.

Ingen växt av virus påvisades hos skrubborna. Information avseende de bakteriologiska proverna finns i **Tabell HF11**. Specifika bakterier kunde identifieras i två av fem prover.

Tabell HF11. Information avseende art, sjuklig förändring och resultat av bakteriologisk odling från njure hos fiskar provtagna under BITSQ1.

Art	Förändring	Bakteriologisk odling
Skrubbskädda	Små granulom, lever	Måttlig växt av blandflora (TYES/marinagar)
Skrubbskädda	Sår, avläkning	Ingen växt av bakterier
Torsk	Sår, akut	Mycket sparsam växt av blandflora (cysteinagar)
Torsk	Sår, kroniskt	Sparsam växt av <i>Chryseobacterium scophthalmum</i> i ospecifik blandflora (TYES/marin)
Torsk	Sår, avläkning	Mycket sparsam växt av <i>Psychrobacter alimentarius</i> (TYES/marin)

DISKUSSION

På det stora hela bedömdes torskarna vara i god kondition vid den yttre inspektionen. Ett fåtal hade låg konditionsfaktor (<0.7) och hos 82 respektive 93% noterades inga avvikande fynd. Hos nio (9%) av torskarna som undersöktes under BITSQ1 förekom hudsår. Sju av torskarna var fångade ICES-rutorna 40G4, 40G5 eller 40G6, vilket är Hanöbukten och rakt öster om Hanöbukten. Hanöbukten har haft en problematik med sårskadad torsk, vilket har utretts av bland annat HaV och SVA genom ett regeringsuppdrag (SVA, 2016; HaV, 2018).

Det absolut vanligaste yttre fyndet hos skrubbskäddor och sandskäddor var avvikande pigmentering, hos skrubbskädda i form av pigmenteringsanomali (64%) och hos sandskädda i form av hyperpigmentering (32%). Pigmenteringsanomali var vanligare hos skrubbskädda i Östersjön (68%) än hos skrubbskädda i Västerhavet (46%). Pigmenteringsanomali (ökad melaninproduktion på buksidan och minskad melaninproduktion på ryggsidan) har påvisats uppkomma redan under metamorfosen (Kang et al., 2014), och tillståndet har associerats med tre mutationer (single nucleotide polymorphisms) på två pigmentgener (Zhang et al., 2021). Bilder kopplade till publikationer om pigmenteringsanomali visar mer symmetriska förändringar, och ofta i form av större fält (motsvarande Bild HF3B) än det som sågs hos merparten av skäddorna i 2020 års undersökning (mindre, runda områden av varierande mängd (Bild HF3A)). Det är oklart om skrubbskäddornas pigmenteringsanomali är associerade med en mutation eller är orsakade av någon yttre påverkan så att det skulle representera en ärrbildning/immunreaktion. Då melanoforererna på plattfiskarnas buksida tillbakabildas under metamorfosen förefaller det dock osannolikt att förändringarna uppkommit efter metamorfosen såvida det inte finns någon slags genetisk mutation. Hyperpigmentering orsakas av en tillväxt av pigmentproducerande celler (melanoforer på ryggsidan och iridoforer på buksidan) och det är även associerat med en inflammatorisk reaktion i huden (Baumgart et al., 2008; Noguera et al., 2013). Tillståndet noterades hos sandskädda på 1980-talet och har ökat i förekomst (Baumgart et al., 2008). Orsaken är oklar. Man har inte påvisat någon koppling till patogener (Baumgart et al., 2008; Noguera et al.,

2013) och potentiella orsaker inkluderar klimatpåverkan (vattentemperatur, skifte i föda), kontaminanter och genetisk anpassning (Baumgart et al., 2008).

Frekvensen lymfocystis var likvärdig hos skrubbskäddorna i de två provtagningarna och noterades inte alls hos skrubbskädda.

Det mest oroväckande fyndet i denna undersökning var att 7% av torsken från BITSQ1 visade tecken på reproduktionsstörningar i form av intersex eller olika grad av utvecklade gonader. Det utesluts att fynden av utvecklade gonader beror på att individerna skulle ha lekt, då gonaderna inte töms fullständigt på mogna könsceller utan det alltid blir kvar enstaka mogna oocyter/spermier samt olika utvecklingsstadier. Hos honor som lekt eller närmar sig lek ser man också ofta mogna oocyter som inte lossat utan genomgår degeneration. Detta skulle kunna vara en bidragande faktor till de sviktande torskbestånden, även om utfiskning av torsk och dess bytesfisk, syrefria bottnar, predation och torsksmask sannolikt bidrar i mycket högre grad. Fiskars könsutveckling kan styras av östrogen och androgen, och hormonpåverkan utanför perioden för könsdifferentiering kan leda till utveckling av intersex (Larsson et al., 2005). SLU hade samlat material från ett antal torskar för läkemedelsanalyser, men SVA:s torskar fanns inte representerade i materialet. Under 2021 kommer reproduktionsstörningarna följas upp genom samma provtagning som 2020 men förhoppningsvis kan uppåt dubbla mängden gonader bedömas. Dessutom kommer material säkras från alla torskar på vilka undersökning genomförs, för att vid föreliggande histopatologiska resultat kunna följas upp med analys av till exempel läkemedelsrester.

Förekomst av lågradiga till måttliga inflammatoriska förändringar i gonaderna kan anses normalt, särskilt under någon till några månader efter lek, framför allt hos honor då icke förbrukade mogna ägg och tömda folliklar ska tillbakabildas. Sandskäddor var i högst grad drabbad av sjukliga förändringar (infektiösa och/eller inflammatoriska förändringar) och hos skrubbskäddor var andelen fiskar med minst måttlig grad av förändring högre i IBTSQ3 än i BITSQ1 samtidigt som torsk i båda provtagningarna uppvisade låg grad av sjukliga förändringar. Sandskäddan i Västerhavet leker under april-augusti, medan skrubbskäddan och torsken i Västerhavet leker i januari-april, skrubbskäddan i Östersjön leker i april-juni och torsken i Östersjön kan vara lekmogen året om (www.havochvatten.se). Sandskäddan är därmed provtagen i nära anslutning till lek, skrubbskäddan och torsken i IBTSQ3 något längre efter lek och skrubbskäddan i BITSQ1 innan lek. Detta stämmer tidsmässigt väl med mönstret avseende allvarlighetsgrad av sjuklig förändring och andelen fiskar med sjukliga förändringar hos sandskädda och skrubbskädda. Torsken som antingen är provtagen 5-7 månader efter lek eller på olika ställen i cykeln uppvisade inget tecken på association mellan genomgången lek och inflammation. För en fullständig bedömning avseende lekens potentiella inverkan på gonadernas inflammationsstatus hos sandskädda och skrubbskädda, eller om det finns någon annan faktor som bidrar till en högre inflammationsgrad i Västerhavet, skulle provtagningen behöva kompletteras med prover tagna innan lek i Västerhavet (IBTSQ1) och efter lek i Östersjön (IBTSQ3).

I IBTSQ3 var det endast en vuxen torsk i SVA:s provmaterial, resterande torskar var 0 – 1 år gamla. Detta försvårar en jämförelse av fiskarna. Ett exempel på skillnader som kan vara relaterade till ålder är vakuolisering i levern, där torsken som provtogs inom IBTSQ3 hade signifikant högre vakuoliseringsgrad. Vakuolerna är näringsupplagring i levern och är i sig inte sjuklig. Torsk har generellt en kraftig vakuolisering, och det är normalt att man enbart ser en cellkärna och vakuoler i levercellerna. Vakuoliseringen blir sjuklig (förfettning) när den blir så kraftig att cellkärnan påverkas eller vakuolerna spränger sönder cellerna (fettnekroser). Ett annat tecken på sjuklig vakuolisering är när endast delar av levern är vakuoliserad eller det är mycket oregelbundet

vakuolisering. Hos torsken i BITSQ3 var det en hög andel torskar som uppvisade tecken på förfettnings. Så länge levercellerna inte dör är tillståndet reversibelt, men det är definitivt värt att följa trender över tid. Utöver att torsken i BITSQ3 var yngre och därmed inte hade "tränat" sina leverar till lika extrem fettinlagring, provtogs fiskarna vid olika tidpunkter på året, vilket i sig kan påverka hur mycket näring som finns upplagrad. En annan parameter som till viss del är åldersrelaterad är förekomsten av makrofagcentra i levern. Detta är öar av vita blodceller (makrofager) som varierar i storlek och mängd beroende på hur mycket främmande ämnen (till exempel virus och bakterier) som fisken exponerats för och kroppen behövt hantera. Äldre fiskar har därför generellt fler och större makrofagcentra än yngre fiskar, och förekomst av makrofagcentra indikerar inte direkt en pågående inflammation. Cellödem kan vara kopplat både till vakuolisering (vakuolerna tar upp plats och därmed ökar cellen i storlek) eller en reaktion på att celler utsätts för t. ex. toxiska substanser. Både för torsk och skrubbskädda var utbredningen av cellödem högre ju högre vakuoliseringsgraden var. Samtidigt förekom cellödem hos fiskar som hade låg vakuoliseringsgrad, vilket talar för att flera faktorer kan vara inblandade. Det fanns ingen uppenbar förklaring till den högre förekomsten av degenerativa förändringar (oftast mindre områden med cellförändringar varierande från lindrig degeneration till full nekros/vävnadsdöd) och blödningar i levern. Ibland kan man notera nematodlarver eller tydliga gångar i sådana områden (s.k. larva migrans, de dödar vävnaden när de rör sig genom levern) men det förekom inte här.

Sandskäddornas leverstatus bedöms som likvärdig med skrubbskäddornas, men de avviker på olika parametrar. Graden av inflammation var högre hos sandskäddor än hos skrubbskädda, förekomsten av cellödem, blödningar och FCA var signifikant högre gentemot skrubbskädda från BITSQ1, medan potentiellt sjukliga förändringar i form av ojämn vakuolisering sågs i högre grad gentemot skrubbskädda från IBTSQ3. Samtidigt förekom inflammatoriska förändringar i pankreas enbart hos skrubbskädda, och skrubbskädda från BITSQ1 hade fler och större makrofagcentra. Att flera parametrar var likvärdiga hos sandskädda och skrubbskädda från IBTSQ3 visar på gemensamma exponeringsfaktorer. Torsk bör inte jämföras statistiskt med dessa två arter då de är för olika biologiskt. Samtidigt kan det vara värt att notera att samma trender kan ses avseende förekomst av makrofagcentra, inflammation och blödningar kunde ses för torsk och skrubbskädda provtagen i BITSQ1 respektive IBTSQ3, vilket indikerar områdesspecifika exponeringsfaktorer. Biomarkörer från levern (olika enzymer samt histopatologi) används inom miljöövervakningen som indikatorer på exponering för olika ämnen. Att följa den histopatologiska utvecklingen i lever hos de olika populationer som inkluderas i är därför viktigt och det möjliggör jämförelser med fisk som provtas inom miljöövervakningen.

Digestion av lever och räkning av *Contracaecum* sp. skulle ha genomförts både för BITSQ1 och IBTSQ3, men provtagning genomfördes inte på torsken från IBTSQ3 då minimilängden för sådan undersökning är satt till ca 35 cm. Detta beror på att mindre fisk sällan har någon parasitbörda.

I motsats till tidigare undersökningar (SVA 2019, fler) minskade levernarnas parasitbörda ju längre in i /norrut i Östersjön torsken var fångad. Orsaken till detta är oklar.

Tyvärr blev det ett missförstånd i vem som skulle väga SVA:s leverar och räkna antalet parasiter på leverytan. En jämförelse av parasitbörda mot levervikt har därför inte gjorts. Tack vare att ett antal leverar från SLU inkluderades i räkningen av torsksmask kunde dock en jämförelse av de två metoderna "räkning av parasiter på leverns yta" och "digestion och räkning av alla parasiter i levern" genomföras. Jämförelsen visade att räkning av parasiter på leverns yta är en relativt trubbig metod. Av 85 leverar var kategoriseringen helt överensstämmande för 42 leverar (49%), och bäst

överensstämmelse (81%) var det för de leverar där inga parasiter påvisades vid digestion. Fullständig överensstämmelse mellan metoderna kan inte förväntas, då parasitbördan inuti levern är dold innan digestion. Klassning i närmast liggande underliggande kategori får därför ses som acceptabel (t. ex klassning i kategori 1 (1 – 10 parasiter) av parasiter på ytan, men reell kategori efter digestion är 2 (11 – 20 parasiter)). En större mängd parasiter på ytan än vad som hittas vid digestion är dock orealistiskt. Intressant nog var det fem leverar som inte hade parasiter i sig som klassats i kategorin 1 – 10 parasiter vid yttre bedömning. Intressant är också att ett par leverar klassades som fria från parasiter eller till kategori 1 vid bedömning av ytan, men innehöll >20 parasiter. En potentiell felkälla är att SLU konsekvent räknat parasiter på ena sidan av leverns yta, medan metoden bygger på att parasiterna på hela leverns yta ska räknas (*pers. komm.* Maria Ovegård, SLU).

En korrelation avseende parasitförekomst vid digestion och histopatologisk bedömning gjordes också. Även här fanns delvis (59%) överensstämmelse mellan undersökningarna, då avseende förekomst/icke förekomst av nematoder. Histopatologisk undersökning görs på en mycket liten vävnadsbit (ca 1 x 1 cm i yta och ett par µm tjock) varför risken att man missar förekomst av nematoder är stor. Om det finns någon enstaka parasit i levern kan det också hända att man får med den i den vävnadsbit på ca 1 x 1 x 0.5 cm som man tar ut för fixering, varvid digestionen ger negativt resultat. Intressant är att den lever innehöll mest *Contracaecum* sp. (64 st) var helt negativ avseende parasiter vid histopatologisk bedömning.

Förekomst av omogna röda blodkroppar i blodcirkulationen är normalt, då röda blodkroppar kontinuerligt dör och ersätts av nya. Produktion hos fisk sker i bland annat njure, och den slutliga mognaden sker i blodet. Enstaka blaster (tidiga utvecklingsstadier) kan också förekomma. Hos fisk kan runt 10% av de röda blodkropparna bestå av omogna stadier utan att någon anomali föreligger (Witeska, 2013). En ökad mängd omogna röda blodkroppar och blaster indikerar en akut förändring som kräver en ökad nybildning av röda blodkroppar, t. ex. en större blödning eller en infektion som förstör de röda blodkropparna. Jämförelse mellan olika provtagningspunkter för samma art/arter med samma habitat och mellan år blir viktigt för att bedöma vad som är normalt. Enbart hos tre sandskäddor (5%) förekom >10% omogna röda blodkroppar. Detta, tillsammans med avsaknad av inklusioner eller andra avvikelser i de mogna röda blodkropparna tyder på att ingen miljöfaktor som påverkar blodbildningen föreligger i provtagna punkter i vare sig Östersjön eller Västerhavet. Hos alla tre arter och i båda provtagningarna förekom fisk med en lägre andel lymfocyter än normalt (11 – 37%), där torsken i IBTSQ3 stack ut med 37% individer med låg lymfocytandel. Ett skifte i fördelningen av de vita blodkropparna indikerar stress, akut eller kronisk inflammatorisk process, vilket delvis kan bedömas utifrån vilken blodkropp som ökar i andel. Neutrofiler observerades i låg grad både avseende andel fiskar och andel av totala mängden vita blodkroppar. Neutrofiler ökar vid stress och vid akuta infektioner, vilket indikerar att ingetdera var orsak till skiftet i fördelning mellan de olika vita blodkropparna. Samtidigt förekom monocytter/makrofager i högre grad än normalt, och en hög andel var aktiva. Detta indikerar en mer kronisk inflammatorisk påverkan på fiskarna.

Vuxna stadier av hakmask förekommer i slutvärdens tarm. Om fel slutvärd infekteras av larver kan larverna i stället kapslas in i cystor på de inre organen. Hakmaskcystor observerades hos 19 skäddor, där alla skrubbskäddor (n=17) provtagits i IBTSQ1. Prevalensen i Östersjön förfaller därmed vara mycket högre än i Västerhavet. Det fanns ingen korrelation mellan cystor påvisade vid provtagning och fynd vid histopatologisk undersökning – endast hos en skrubbskädda sågs cystor både makro- och mikroskopiskt. Detta trots att merparten av de cystor som noterats vid histopatologisk undersökning låg på leverns yta och därmed borde ha varit synliga för blotta ögat.

Artbestämning har inte gjorts då det kräver antingen morfologisk undersökning av spritfixerade larver eller molekylära metoder. Phylum Acanthocephala innehåller ca 1 100 arter ([Invasive species compendium, CABI](#)) och det är möjligt att det rör sig om ett par olika arter med larver/cystor av olika storlek.

De fiskar som SVA har undersökt är inte helt representativa för all torsk/skrubbskädda och sandskädda som fångades inom BITSQ₁ och IBTSQ₃ 2020. Om det har funnits ex sårskador har den fisken prioriterats för SVA:s del. Frekvensen yttre sjukliga förändringar är därmed sannolikt högre än för all fisk inom dessa provfisken. Det har inte heller gått att helt representativt fördela respektive art per drag, inte heller torsk för undersökning av *Contracaecum* sp. Detta beror bland annat på att det varit ont om någon art i vissa drag och när det gäller torsk har det inte alltid funnits fisk av tillräcklig storlek att tillgå. Under IBTSQ₃ provtog SVA fisk enbart under etapp två av provfisket, och då var det låg förekomst av torsk. Därmed kunde kvoten på 100 torskar inte fyllas.

Under 2021 kommer fisk plockas mer slumpmässigt per drag, men fisk med skador kommer att inkluderas som extra fiskar.

SLUTSATS

Förekomsten av yttre sjukliga förändringar var låg. Oroväckande är de tecken på reproduktionsstörningar som noterades hos torsk i Östersjön. Gonader bör därför även fortsättningsvis inkluderas i övervakningen och material sparas för undersökningar av miljörelaterade orsaker. Likaså skulle kompletterande provtagningar i andra delar av årscykeln behöva göras för att fullständigt utvärdera inflammatoriska gonadförändringar hos sandskädda och skrubbskädda. Förekomsten av *Contracaecum* sp. hos torsk och sambandet mellan yttre visuell bedömning av levern kontra det totala innehållet av *Contracaecum* sp. bör fortsätta att utvärderas.

REFERENSER

- Baumgart, F., Lang, T., Feist, S., Bruno, D., Noguera, P., Wosniok, W. (2008). Hyperpigmentation in North Sea dab (*Limanda limanda*): spatial and temporal patterns, host effects and possible causes. ICES ASC 2008/D:03, Theme Session D: New trends in diseases of marine organisms: causes and effects.
- Bucke, D., Vethaak, D., Lang, T., Møllergaard, S. (1996). ICES techniques in marine environmental sciences, No. 19. Common diseases and parasites of fish in the North Atlantic: Training guide for identification. International Council for the Exploration of the Sea. ISSN 0903-2606
- EURLP/European Union Reference Laboratory for Parasites. Artificial digestion of fish fillets for the isolation of Anisakidae and Opisthorchidae larval stages. Standard operation procedure (SOP). Department of Infectious, Parasitic and Immunomediated Diseases, Unit of Gastroenteric and Tissue Parasitic Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Italien.
- García-López, M.L., Santos, J.A., Otero, A., Rodríguez-Calleja, J.M. (2014). Psychrobacter. I: Encyclopedia of Food Microbiology, 2nd ed, s 261-268. Referensmodul inom "Food Science", Science Direct
- Havs- och vattenmyndigheten, 2018. Uppdrag att övervaka miljön i Hanöbukten under tre år för att undersöka eventuella samband mellan miljöfarliga ämnen och fiskhälsa. Avrapportering, Regeringsuppdrag M2104/1350/Nm
- Kang, D-K., Byun, S-G. Myeong, J-I., Kim, H-C., Min, B-H. (2014). Morphological analysis of blind-side hypermelanosis of the starry flounder, *Platichthys stellatus* during early development. *Development and reproduction*, 18 (2), 79-87
- Larsson, J., Norrgren, L., Förlin, L. (2005). Hormoner och hormonstörande ämnen i miljön. I: Läkemedel och miljö, kapitel 6, s 85-103. Apoteket, Stockholms läns landsting och Stockholms universitet.
- Mudarris, M., Austin, B., Segers, P., Vancanneyt, M., Hoste, B., Bernardet, J.F. (1994). *Flavobacterium scopthalmum* sp. nov., a pathogen of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *International Journal of Systematic Bacteriology* 44 (3), 447-453
- Noguera, P.A., Feist, S.W., Bateman, K.S., Lang, T., Grütjen, F., Bruno, D.W. (2013). Hyperpigmentation in North Sea dab *Limanda limanda*. II. Macroscopic and microscopic characteristics and pathogen screening. *Diseases of Aquatic Organisms* 103, 25-34
- SVA (2016). Kartläggning av omfattningen av sårskadad fisk i Hanöbukten. Redovisning av regeringsuppdrag M2014/1349/Nm
- SVA (2019). Sälhälsa, zoonoser, säl- och torsksmask. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten 20190215
- Vandamme, P., Bernardet, J.F., Segers, P., Kersters, K., Holmes, B. (1994). NOTES: New perspective in the classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen.nov., *Bergeyella* gen.nov, and *Empedobacter* nom.rev. *International Journal of Systematic Bacteriology* 44 (4), 827-831
- Witeska, M. (2013). Erythrocytes in teleost fishes: a review. *Zoology and Ecology* (online publication)

Yoon, J.H., Yeo, S.H., Oh, T.K., Park, Y.H. (2005). *Psychrobacter alimentarius* sp. nov., isolated from squid jeotgal, a traditional Korean fermented seafood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, 171-176

Zhang, B., Peng, K., Che, J., Zhao, N., Jia, L., Zhao, D., Huang, Y., Liao Y., He, X., Gong, X., Bao, B. (2021). Single-nucleotide polymorphisms responsible for pseudo-albinism and hypermelanosis in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and reveal two genes related to malpigmentation. *Fish Physiology and Biochemistry* 47, 339–350

BILAGA HF1 – KLASSIFICERING AV UTVÄRTES FYND

Tabell HF4. Utvändigt synliga förändringar – klassificering av allvarlighetsgrad^{1,2}

Lymphocystis (plattfiskar)	
Ly1	1 – 10 knölar, vars totala yta är mindre än en cirkel med diametern 10 mm
Ly2	Mer än 10 knölar, vars totala yta är större än en cirkel med diametern 10 mm men mindre än två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan
Ly3	Knölar vars totala yta är större än två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan
Epidermal hyperplasi/papillom (alla arter)	
EpPap 1	Hyperplasi/papillom vars totala yta är mindre än en cirkel med diametern 10 mm
EpPap 2	Hyperplasi/papillom vars totala yta är större än en cirkel med diametern 10 mm men mindre än två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan
EpPap 3	Hyperplasi/papillom vars totala yta är större än två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan
Hudsår (alla arter) - UlcAcu, UlcHe, Pap, Chro men inte UlcHaem, UlcAb³	
Ulc 1	Sårens totala yta är mindre än en cirkel med diametern 10 mm
Ulc 2	Sårens totala yta är större än en cirkel med diametern 10 mm men mindre än två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan
Ulc 3	Sårens totala yta är större än två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan
Melanisering/hyperpigmentering (alla arter)	
Mel 1	Max 10 % av kroppsytan drabbad
Mel 2	Mer än 10% av kroppsytan men max två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan drabbad
Mel 3	Mer än två gånger ytan av den utsträckta stjärtfenan drabbad
Pigmentanomalier/albinism (alla arter)	
Pig 1	Max 1/3 av kroppsytan drabbad
Pig 2	Mellan 1/3 och 2/3 av kroppsytan drabbad
Pig 3	Minst 2/3 av kroppsytan drabbad skeletal
Skelettdeformationer (alla arter) – skolios, lordos/kyfos, mopsskalle etc	
1-3	subjektiv klassificering, behöver kalibreras mellan olika aktörer
Pseudolipom (sandskädda)	
1-3	subjektiv klassificering, behöver kalibreras mellan olika aktörer

¹ Översatt från tabell (opubl) erhållen av Jörn Scharsack, Thünen Institute of Fisheries Ecology, Tyskland; ² För att klassa allvarlighetsgrad ska hela kroppsytan bedömas. För dokumentation av de mest drabbade områdena ska referens ske till uni-/bilateralt (sidor), dorsalt (rygg) eller ventralt (buk). Exempel: Ly 2 dorsalt/ventralt (plattfisk); Ulc 2 akut bilateralt (torskfiskar); ³ Sår delas in i sex stadier: UlcHaem: små blödningar med nedsänkning i huden, Pap: små blödningar men huden har börjat bukta utåt, UlcAcu: akut öppet (kött)sår, Chro: äldre inflammerat sår, ibland med varbildning med var, UlcHe: sår under avläkning, UlcAb: avläkt sår, ofta med melanisering. Bedömning av utbredning görs inte för UlcHaem eller UlcAb

BILAGA HF2 – KLASSIFICERING AV PARASITBÖRDA

Tabell HF5. Klassificering av parasitbörda hos havslevande fisk¹

Parasit	Kod	Värdart	Grad			Lokalisation
			1	2	3	
<i>Stephanostomum baccatum</i>	Steph	Sandskädda	1 - 10	11 - 50	>50	Vita cystor på kroppens undersida
		Skrubbskädda				
<i>Acanthochondria cornuta</i>	Acanth	Sandskädda	1	2	≥3	Kräftdjursparasit, gälar
		Skrubbskädda				
<i>Lepeophtheirus pectoralis</i>	Lepe	Sandskädda	1	2	≥3	Kräftdjursparasit, bröstfena, hud
		Skrubbskädda				
<i>Cryptocotyle</i> sp.	Cryp	Sandskädda	1 - 10	11 - 50	>50	Cystor, hud
		Skrubbskädda				Cystor, bara på kaudala fenor
		Rund fisk				Cystor, hud
Myxosporidia	Myxo	Rund fisk	Ingen gradering, bara ja/nej			Ögon
		All fisk	Ingen gradering, bara ja/nej			Gälar
		Plattfisk	1 - 10	11 - 50	>50	Fenbaser
<i>Lernaocera branchialis</i>	Locera	Rund fisk	1	2	≥3	Kräftdjursparasit i gälhålan
<i>Loma branchialis (morhua)</i>	Loma	Rund fisk	1 - 10	11 - 50	>50	Cystor i gälfilamenten
Anisakidae	Anis	Sill/strömring	1 - 10	11 - 50	>50	<i>Anisakis simplex</i> (spiralmask) i bukhålan, på inre organ
		Torsk				
Liver-Nematodes	Nemato	Sandskädda	1	2	≥3	Ofta <i>Contracaecum</i> sp., inkapslad i levern
		Skrubbskädda				
		Torsk				
<i>Acanthocephala</i> sp.	Kratz	Sandskädda	1	2	≥3	Hakmask, vuxna förankrade inuti tarmen eller larver i förankrade cystor i bukhålan

¹Översatt från tabell (opubl) erhållen av Jörn Scharsack, Thünen Institute of Fisheries Ecology, Tyskland. ²Kan därefter klassas enligt 0 (inga nematoder), 1 (1 – 10 nematoder), 2 (11 – 20 nematoder), 3 (21 – 30 nematoder), 4 (>40 nematoder).

Akutmedel

Fall 1. Makrill med extremt förstörd njure

En makrill fångad på Västkusten inkom i början av september. Fisken hade vid rensning visat sig ha en kraftigt förändrad njure. Fisken inkom utan huvud och rensad med undantag för njuren. Fisken hade varit fryst innan inskick. Njuren var kraftigt svullen och homogent vit i färgen (**Bild HF5**). Vid genomskärning var snittytan något utvällande. Detta påminner mycket om utseendet hos lymfosarkom på däggdjur.

Trots tidigare frysning fixerades organ för histopatologisk bedömning i hopp om att några strukturer skulle vara intakta nog för en bedömning. Snitten visade ett organ stadd i kraftig postmortal förändring/påverkat av frysning. Ingen normal organstruktur kunde

påvisas vilket kan indikera en aggressivt växande tumör där alla celler är likadana. Eftersom inga intakta celler kunde noteras och därmed inte heller förekomsten av mitoser (celler under delning) kunde det inte bedömas om njuren var tumöromvandlad eller bara extremt långt gången i förruttnelseprocessen. Vissa stråk i vävnaden var helt förvätskade. Stora, så kallade xenomliknande celler samt sporocystliknande strukturer innehållande multipla runda celler eller förkalkat material kunde ses främst i njurens ytterkant men delvis även insprängt i njuren, indikerande parasitinfektion. Kompletterande färgningar genomfördes för att verifiera detta.

Sporocystorna färgade in med PAS (periodic acid-Schiff) och Ziehl Neelsen (**Bild HF6**) vilket begränsar parasitspektrat till mikrosporidier, myxosporidier eller coccidier. De xenomliknande strukturerna färgade inte in med dessa färgningar. Makrillen hade alltså en parasitinfektion och möjligen är det den som orsakat den groteska förvandlingen av njuren. Huruvida en aggressiv tumör (lymfosarkom) bidragit till förändringen kommer inte att kunna klarläggas på grund av njurens skick.



Bild HF5. Kraftigt förstörd och blek njure hos makrill.
Foto: SVA

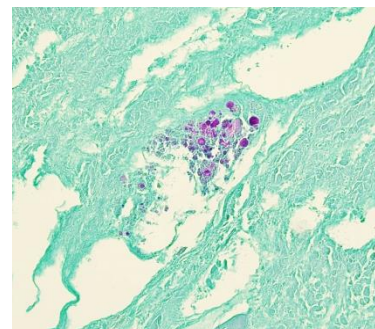


Bild HF6: parasitsporer i sporocysta, makrillnjure, Ziehl Neelsen. *Foto: SVA*

Fall 2. Torsk med ett inflammerat öga

Under SLU:s kustprovfisken i Hanöbukten i oktober fångades en torsk med ett kraftigt inflammerat öga. Foto (**Bild HF7**) visade panoftalmit, vilket innebär att alla delar av ögat är inflammerade. Bild på hela torsken visade också att den var tunn med helt tom buk. SLU skickade in rör med bakteriologiskt prov från ögat samt njuren och en del av ögat fixerad i formalin.

Både från öga och njure växte måttligt av bakterien *Vibrio anguillarum*. Histopatologisk bedömning kunde inte göras då ögat måste fixeras och bäddas helt i paraffin för att strukturen ska kunna bedömas. SVA hade missat att skriva detta i instruktionen till SLU.

Vibrio anguillarum är sjukdomsorsakande på fisk, och förekomsten i njure visade att torsken hade en allmäninfektion. Sannolikt har torsken haft någon ytlig sårskada på ögat så att bakterien kunnat få fäste, och därefter har infektionen har spridit sig via blodet till njure och med största sannolikhet även lever och mjälte. Vore infektionen spridd via blodet till ögat borde båda ögonen vara infekterade. På de två bilder som skickades var det bara höger öga som syntes, varför SVA bedömt det som att det var enda fyndet.



Bild HF7. Panoftalmit, fall 2. Foto: Staffan Persson, SLU

Rapportportalen

Under 2020 kom totalt 16 rapporter om havslevande fisk. Av dessa rörde fyra rapporter döda uppspolade skrubbskäddor, två rapporter handlade om storspigg och två om spiggar av okänd art (dödlighet, parasitangep (Glugea)), två rapporter handlade om torsk, samt en rapport vardera rörde en makrill, en tonfisk, en icke artbestämd kantspigg, en svartmunnad smörbult, en fisk som med största sannolikhet är en makrillgädda samt en uppspolad klumpfisk. Tonfisken är ett intressant fynd eftersom det bara är något år sedan de rapporterades ha återvänt till svenska vatten. Fisken hittades uppspolad och stadd i förruttnelse på stranden vid Höganäs. Den hade tidigare märkts av SLU:s Havsfiskelaboratorium och hade även rapporterats dit, varefter märket kunde plockas upp. En av torskarna rapporterades från Hälsö/Kattegatt och hade observerats simma konstigt och ”kippa efter luft” innan den försvann in i tången. Den andra torsken hade spöfångats vid Ven och hade fullt av granulom i de inre organen. Infektion med bakterien *Franciscella noatunensis* misstänkts ligga bakom förändringarna. Makrillen var fångad utanför Askim och hade fullt av granulom, sannolikt parasitorsakade, i njuren. Den svartmunnade smörbulten, kantspigg och makrillgäddan finns ingen information om utöver att de hittats döda. Intressant är att makrillgädda bara observerats i svenska vatten vid enstaka tillfällen tidigare, senast 1884 (Artfakta, SLU Artdatabanken <https://artfakta.se/naturvard/taxon/206237>).

Histopatologiska undersökningar från SLU:s kustprovfiske i Hanöbukten 2019

SAMMANFATTNING

SLU:s Kustfiskelaboratorium genomför årligen provfisken på ett antal stationer längs den svenska kusten. Under 2019 avsattes en del akutmedel för insamling, preparering och histopatologisk bedömning av vävnader från fisk som skulle samlas in under SLU:s djupstratifierade provfiske med Nordiska kustöversiktsnät i Hanöbukten under hösten. Tanken var att säkra material och kunna göra uppföljning på fiskhälsan efter SVA:s och HaV:s regeringsuppdrag 2014 – 2018, samt SVA:s pilotprojekt avseende fiskhälsa som genomfördes i samband med SLU:s kustprovfisken 2018 (HaV, 2018; SVA, 2016; SVA, 2019). Histopatologisk bedömning skulle göras under 2020 och avrapporteras tillsammans med 2020 års övervakning.

MATERIAL OCH METODER

I samband med provfisken i Hanöbukten i oktober 2019 tog SLU Kustfiskelaboratorium ut prover från inre organ på torsk och skrubbskädda. Organbitarna konserverades i formalin och skickades till SVA. Proverna preparerades rutinmässigt för histopatologisk bedömning (se avsnittet *Histopatologi och cytologi*, sidan 13). Läsning gjordes i ljusmikroskop vid 40 – 1000 x förstoring.

RESULTAT

Totalt kom fixerade prover från 30 fiskar, varav 24 torskar och 6 skrubbskäddor, till SVA. Två torskar hade sårskador, i övrigt hade SLU inte noterat några förändringar på de provtagna fiskarna. Sammanfattande resultat redovisas per fiskart.

Torsk

Från torsk fanns hjärtan, lever, mjälte, gonad och rete mirabile/gaskörtel med i proven, men alla dessa organ fanns inte representerade från alla torskar. Hud fanns med från torskarna med sår. Från en torsk fanns en bit av hjärnan med. Mjälte och rete mirabile uppvisade inga sjukliga förändringar.

Hjärta fanns från 19 torskar, varav nio var helt utan förändringar i hjärtmuskulaturen. Fem fiskar hade enstaka inflammatoriska härddar i hjärtmuskulaturen (lindrig till måttlig fokal myokardit) och tre fiskar hade multipla inflammatoriska härddar (multifokal myokardit). En fisk hade en fokal men relativt stor parasitär inflammatorisk process, mitt i inflammationen fanns mikrosporidie-liknande celler. En fisk hade ett granulom som såg ut att vara nematodorsakat. I ett hjärta sågs mindre områden med bindväv, vilket indikerar en genomgången lokal inflammationsprocess.

Levrarna hade generellt en hög vakuoliseringsgrad. Hos arton torskar var vakuoliseringen så kraftig att kärnorna var påverkade (tecken på förfettning). Hög vakuoliseringsgrad är normalt hos torskar, och påverkan på kärnorna är reversibel. Inkapslade nematoder (sannolikt *Contracaecum* sp.) och parasitrelaterade granulom förekom i åtta leverar. Två torskar hade en inkapslad trematod-metacerkarie/larv i levern och hos tre torskar förekom parasiter av genus *Myxidium* sp. i gallgångarna. Hos en av torskarna var gallgångarna kraftigt vidgade till följd av infektionen. Hos en torsk fanns en stor cysta i levervävnaden, men det fanns inget synligt innehåll utöver vätska. Akuta blödningar förekom hos fem fiskar och subakuta blödningar hos tre fiskar. En fisk hade några små områden med vävnadsdöd.

Gonadvävnad fanns från 22 torskar, varav 13 honor och 9 hanar. Normala gonader sågs hos sex honor och fyra hanar. En granulombildande inflammation i äggcellerna sågs hos sex honor, varav tre hade lindrig till måttlig och tre hade omfattande förändringar. Lokal måttlig inflammation som

inte involverade själva äggcellerna sågs hos en hona. Hos hanarna förekom lindrig till måttlig inflammation hos en fisk och kraftig, utbredd (60-70% av gonaden) inflammation samt ett stort granulom hos en fisk. En fisk hade några områden med akut degeneration/vävnadsdöd och hos två noterades intracellulära koccidier.

Kraftiga, djupgående och kroniska inflammatoriska processer noterades i hudsår från två torskar. SVA har inga bilder av såren och kan därför inte relatera fynden direkt till sårens makroskopiska utseende. Det mikroskopiska utseendet visar dock att processen pågått under minst ett par veckors tid. Den bit av hjärna/hjärnstam som fanns med uppvisade stora hålrum med fibrösa trådar i den grå substansen. Detta kan vara möjligen vara en artefakt och snittningen gjorde att det inte gick att avgöra exakt var i hjärnan provet var taget. Så stora förändringar borde ha omöjliggjort normal hjärnfunktion/rörlighet hos torsken.

Skrubbskädda

Från en individ fanns prov från mjälte och gonad, från en lever/bukspottskörtel och gonad, från två fanns lever/bukspottskörtel, njure, mjälte, och gonad och från två fanns lever/bukspottskörtel, njure, mjälte, hjärta och gonad. Hjärta fanns endast från två av sex individer.

En skrubbskädda hade lindrig multifokal myokardit och en individ hade måttlig multifokal myokardit.

Levrarna var lindrigt till måttligt vakuoliserade och, förutom hos en fisk, jämnt fördelad i levern. Cellsvullnad förekom i varierande grad. Inga parasiter påvisades. I en lever förekom rikligt med vita blodkroppar i stora kärl och samma fisk hade också kraftig inflammation i bukspottskörtel (omfattande/kraftig pankreatit, i princip ingen normal bukspottskörtelvävnad kvar). Hos ytterligare en fisk förekom pankreatit i de delar av bukspottskörtel som låg utanför levern, i övrigt noterades inga sjukliga förändringar i bukspottskörtel.

Två njurar såg helt normala ut, en hade rikligt med encelliga parasiter i tubuliepitelet och en njure hade förekomst av ödem i glomeruli.

Fyra mjältar var utan patologiska förändringar, varav en såg ut att vara reaktiv (samma individ som hade omfattande pankreatit). Den sista mjälten hade områden med akut degeneration och rikligt med vita blodkroppar i kärlen.

Gonad fanns från fyra honor och en hane. En hona och en hane hade några mindre områden med degeneration men utan inflammationsreaktion och en hona hade måttlig inflammation kring äggcellerna i några områden. Hos de andra två fiskarna sågs inga förändringar.

DISKUSSION

Den fisk som provtagits här är mer kustnära än många av de fiskar som provtagits inom BITSQ1 (södra Östersjön) /IBTSQ3 (Kattegatt), även om vissa provtagningspunkter där ligger relativt nära kust. Därmed är det intressant att jämföra förändringar i de organ som förekommer i båda provtagningarna (lever (med bukspottskörtel hos skrubbskädda) och gonad samt enstaka hudsår). Det mest intressanta fyndet hos torsk var förekomsten av inflammatoriska förändringar i gonaderna hos 55% av individerna, medan <20 % av torskarna i BITSQ1/IBTSQ3 uppvisade någon grad sjuklig förändring. Här noterades heller inte någon förekomst av reproduktionsstörning i form av underutvecklade gonader eller intersex, vilket noterades hos 7% av fisken i BITSQ1. Avseende lever och hudsår sågs inga notabla skillnader.

När det gäller skrubbskäddan var det mest intressanta fyndet här förekomsten av pankreatit. Sjukliga förändringar noterades också hos skrubbskäddor både inom BITSQ1 och IBTSQ3, och i

större omfattning i IBTSQ1 än i IBTSQ3. Det går dock inte att jämföra de förekomsten hos de kustnära skrubbskäddorna med BITSQ1/IBTSQ3 då lever/bukspottskörtel endast fanns med från fem individer, och det går inte heller att dra några slutsatser om förekomst av förändringar i populationen.

Slutligen kan sägas att proverna som SLU tagit ut för histopatologisk bedömning var av god kvalitet.

REFERENSER

Havs- och vattenmyndigheten, 2018. Uppdrag att övervaka miljön i Hanöbukten under tre år för att undersöka eventuella samband mellan miljöfarliga ämnen och fiskhälsa. Avrapportering, Regeringsuppdrag M2104/1350/Nm

SVA (2016). Kartläggning av omfattningen av sårskadad fisk i Hanöbukten. Redovisning av regeringsuppdrag M2014/1349/Nm

SVA (2019). Pilotprojekt vildfiskövervakning. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten 2019-02-15

Del 2.

Anadrom fisk

SAMMANFATTNING

Övervakningen av anadrom fisk fokuseras för närvarande på laxfiskar, och då främst lax. Även Vänerns lax- och havsöringbestånd inkluderas i övervakningen även om de inte är sant anadroma då de bara vandrar i sötvatten.

Sedan många år sker inventering av infektion med parasiten *Gyrodactylus salaris*, eller laxdjävul, på laxungar i västkustmynnande vattendrag. Övervakningen har tidigare skett i SLU:s regi, men från 2020 har SVA tagit över ansvaret för övervakningen. Misstänkta *G. salaris* från vattendrag där parasiten inte tidigare visats, eller i vattenområden som inte tidigare varit infekterade i vattensystem där parasiten förekommer artbestäms med molekyärgenetisk teknik, då morfologiskt lika men inte lika patogena arter förekommer. Endast i ett provtaget vattensystem (Anråsån) var laxungarna helt fria från *Gyrodactylus* sp. och i flera vattensystem var alla insamlade laxungar infekterade. I Örekilsälven påvisades en laxunge vara infekterad, men artbestämning visade att det rörde sig om *G. derjavinoïdes*, och älven kan därför fortsatt räknas som fri från *G. salaris*. Däremot hade *G. salaris* spridit sig till två nya lokaler i ett sedan tidigare infekterat vattensystem (Roflsån).

Under 2020 har vi också börjat bygga upp en hälsoövervakning av framför allt lax, där problem med sjukdom och dödlighet på nystigen fisk förekommit i Östersjölvar sedan 2014, och de senaste åren även i västkustmynnande vattendrag och i Vänerns laxpopulationer (Gullspångs- och Klarävlslax). Det finns en mängd potentiella faktorer som kan samverka till problemen och det är oklart vilka som är signifikant bidragande. Fokus under 2020 var därför att samla in prover för vidare forskning så att relevanta faktorer att övervaka kan identifieras. Utöver detta utvärderades värdet av olika varianter av datainsamling utan provtagning av fisk, i form av frågeformulär till yrkesfiskare, frågeformulär avseende avelsfisken i kompensationsodlingar, övervakning av kameror i fiskvägar samt inventering av leksträckor. Formulär avseende avelsfiskens hälsa samt övervakning av vissa leksträckor bedöms kunna vara effektiva verktyg för övervakning.

Förutom den aktiva övervakningen av laxungar och återvändande lax sker passiv övervakning via Rapportportalen, vilket också möjliggör akuta provtagningsinsatser eller planering av provtagningsinsatser om behov identifieras. Enstaka fall av intresse kan också plockas in på akutmedel.

För nejonögon finns ingen aktiv övervakning utan enbart passiv övervakning via rapportportalen och andra kontaktvägar samt möjlighet att ta in fisk på akutmedel.

INTRODUKTION

Anadrom fisk i svenska vatten inkluderar laxfiskar, framför allt lax (*Salmo salar*) och havsöring (*S. trutta*) samt nejonögon (havsnejonöga (*Petromyzon marinus*) och flodnejonöga (*Lampræta fluviatilis*). Laxfiskarna, och då framför allt laxen, har en pågående hälsoproblematik ur flera aspekter och därför fokuserar hälsoövervakningen på denna art och till viss del på havsöring.

M74 är ett syndrom där laxyngel drabbas av tiaminbrist till följd av att honan inte kan föra över tillräckliga resurser till rommen. Dödligheten är hög men syndromet kan avvärijas genom

tiaminbadning av rom och yngel. Det finns också referenser på att oxidativ stress och brist på antioxidanten astaxanthin bidrar till syndromet. M74-läget i Sverige övervakas av SLU:s sötvattenslaboratorium, Drottningholm.

Gyrodactylus salaris är en monogen parasit som anses endemisk i vattendrag som mynnar i Östersjön och som inte vållar direkta problem för laxungar från Östersjölax (*Salmo salar*). Atlantlaxen, som även den tillhör arten *S. salar*, är däremot känsligare och parasiten kan vålla stora problem för laxungarnas hälsa, vilket varit fallet i Norge. Första gången parasiten påvisades i ett västkustvattendrag var 1989 (Säveån). Den har därefter spridit sig, och endast ett fåtal laxförande vattendrag längs västkusten anses fortfarande fria. Årlig övervakning av parasitens förekomst har skett i SLU:s regi men från 2020 tar SVA över ansvaret för övervakningen.

Hälsosituationen för återvändande lax i Östersjövattendragen har varit problematisk sedan 2014, då rapporter om fisk med UDN-liknande skador, hudblödningar på buksidan, sår, fenskadorna och svampangrepp började komma från flera vattendrag. Problemen avtar på sensommaren, men sedan ökar svampangrepp under perioden innan, under och efter lek och där drabbas såväl lax som havsöring. Höstliga svampangrepp har förekommit i de västkustmynnande vattendragen och Klarälven/Vänern ungefär lika länge som i Östersjö-vattendragen, och de senaste åren har även hudblödningar och svamp rapporterats på nystigen lax. "Syndromet" med hudblödningar följt av svampangrepp döptes till Red skin disease (RSD) vid en internationell workshop i Oslo, november 2019. SVA påbörjade på uppdrag av HaV undersökningar av problematiken 2016 och upprepad provtagning genomfördes 2018. Provtagningarna har gjorts i samverkan med bland annat Finska Livsmedelsverket (förut Evisa, numera Ruokavirasto), Göteborgs universitet (GU) och SLU i Umeå. Ingen specifik patogen har kunnat påvisas, men det finns misstanke om förekomst av svåridentifierade virus (SVA, 2017; SVA & Evisa 2017). Mätning av biomarkörer/fysiologiska parametrar identifierade rubbningar i nivåerna av sköldkörtelhormon i två vattendrag med synbart frisk respektive allvarligt sjuk fisk. Det finns också indikationer på en rubbad nybildning av röda blodkroppar. Allvarligt sjuk fisk hade höga värden av blodglukos, ett resultat av de processer som pågick i kroppen (kronisk inflammation, svampangrepp med rubbning av kroppens salthalt). De prover som hittills analyserats visar inte på att tiaminbrist skulle vara en bakomliggande faktor. Det har även genomförts en fall-kontrollstudie där tiamin inte hade någon positiv effekt på steget hos MSW (multiple sea winters)-lax, den grupp som vanligen drabbas av RSD (SVA, GU och SLU, 2019).

I samband med de att de första undersökningarna påbörjades 2016 skapades rapportportalen (<https://rapporterfisk.se>) för att möjliggöra passiv övervakning av laxen genom att allmänheten kan rapportera in fynd av sjuk, skadad eller död fisk.

Syfte

För laxungar var syftet att fortsätta övervakningen av *G. salaris* i oförändrad form. För återvändande lax påbörjades uppbyggnaden av ett hälsoövervakningsprogram. Eftersom orsaken till problematiken inte är klarlagd låg fokus på att samla in prover för vidare forskning. Dessutom utvärderades några icke invasiva metoder för övervakning och den passiva övervakningen av anadrom fisk via rapportportalen fortsatte.

Övervakning av *Gyrodactylus salaris*

MATERIAL OCH METODER

Provtagningspunkter

Provtagningen genomförs av Sportfiskarna, region Väst. Provtagning görs årligen i sju vattensystem på västkusten, nämligen Anråsån (en lokal), Örekilsälven (tre lokaler), Sävån (en lokal), Kungsbackaån (tre lokaler), Rolfsån (tre lokaler), Himleån (två lokaler) och Ätran (fem lokaler).

Provtagning

Laxungar samlas in med hjälp av elfiske. Lokalens längd, bredd, avfiskad yta, vatten- och lufttemperatur, vattenförhållanden (flödestyp, vattennivå) samt bottensubstrat noteras i protokoll. Infångade laxungar avlivs, vägs, mäts och konserveras i etanol.

Laboratorieanalyser

Förekomst av haptormaskar/*Gyrodactylus* sp. undersöks under lupp i 40 x förstoring. Antalet parasiter vid/på ryggfena och bröstfena noteras.

Om haptormaskar förekommer på laxungar i en lokal där *G. salaris* inte påvisats tidigare skickas maskarna för morfologisk och genetisk analys avseende art och haplotyp vid Norges veterinärinstitut (NVI). Analysen genomförs med konventionell PCR samt sekvensering av två regioner, nämligen internal transcribed spacer region (ITS) samt cytokromoxidas 1-genen (CO1) enligt den metodik som finns angiven i [OIE:s akvatiska manual](#).

RESULTAT

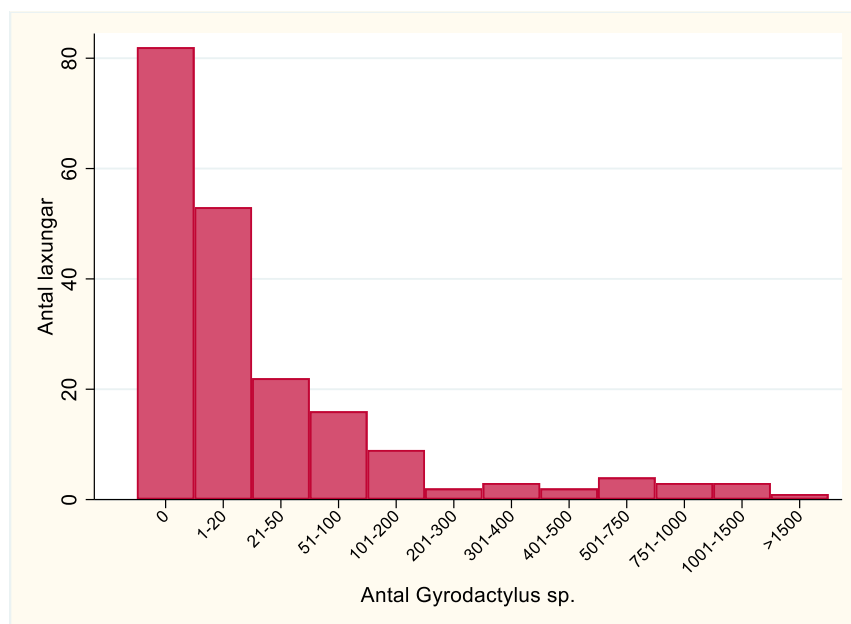
Förekomst av *Gyrodactylus* sp. i provtagna vattendrag och lokaler

Totalt samlades 200 laxungar in. Antalet laxungar per vattensystem och lokal, medianvärden (max, min) för längd, vikt, förekomst av laxungar med *Gyrodactylus* sp. samt medianvärde (max, min) hos infekterade individer finns i **Tabell AF1**. *Gyrodactylus* sp. hittades på laxungarna i alla vattendrag utom Anråsån. Högst prevalens infekterade laxungar förelåg i Kungsbackaån och Himleån, där samtliga laxungar var infekterade. I övriga fyra vattendrag låg prevalensen infekterade laxungar på 5 – 66%. I infekterade vattendrag där flera lokaler provtagits (Örekilsälven, Kungsbackaån, Rolfsån, Himleån och Ätran) låg prevalensen infekterade laxungar på 0 – 100% per lokal. Lokaler utan påvisad infektion fanns i Örekilsälven (två av tre) respektive Ätran (en av sex) (**Tabell AF1**). Antalet påvisade *Gyrodactylus* sp. per infekterad individ varierade från 1 till 1 880. Medianvärdet för alla vattendrag var 3 parasiter per laxunge (min 0, max 1 880) (**Tabell AF1**, **Figur AF1**). Femtiotre (45%) av de infekterade laxungarna hade max 20 haptormaskar (**Figur AF1**). Högst förekomst av antal *Gyrodactylus* sp. per laxunge hittades i Rolfsån, där medianvärdet var 179 maskar per laxunge och maxantalet maskar var 1 161 respektive 1 880 i två lokaler (**Tabell AF1**). Fyra laxungar hade >1 000 haptormaskar. Det var ingen signifikant storleksskillnad på oinfekterade och infekterade laxungar (Wilcoxon's rangsummetest, för längd $Z=0.201$, $p>0.05$, för vikt $Z= -0.108$, $p>0.05$).

Tabell AF1. Resultat av elfiske avseende förekomst av *Gyrodactylus* sp. hos laxungar i sju västkustvattendrag 2020.

Vattensystem	Lokal	Fiske-datum	Antal laxungar	Längd (cm) median (min, max)	Vikt (g) median (min, max)	<i>Gyrodactylus</i> sp.	
						Infekterade laxungar Antal (%)	Antal maskar, median (min, max)
Örekilsälven		23/7	21	12.8 (7.9, 14.5)	13.6 (3.6, 20.9)	1 (5)	0 (0, 5)
	Munkedalsälven		8	12.6 (8.5, 13.4)	14.9 (4.7, 16.0)	0	-
	Skäret		6	11.0 (8.1, 14.5)	9.3 (3.8, 18.1)	1 (17)	0 (0, 5)
	Stenhöljan		7	12.8 (8.1, 14.5)	13.1 (3.6, 20.9)	0	-
Anräsån							
	Kvarndalen	18/4	13	7 (5.3, 11.7)	2.1 (0.9, 10.4)	0 (0)	-
Säveån							
	Jonsnereds fabriker	27/4	16	9.1 (6.8, 15.3)	7.2 (3.0, 32.2)	3 (19)	0 (0, 2)
Kungsbackaån		16/4	30	8.2 (5.4, 14.5)	4.2 (1.3, 23.9)	30 (100)	46 (3, 1030)
	Alafors		11	8.5 ((7.9, 14.5)	4.3 (2.0, 23.9)	11 (100)	25 (5, 407)
	Hovgården Nordån		10	6.5 (5.4, 8.5)	1.9, 1.3, 4.1)	10 (100)	56 (3, 522)
	Ålgårdsbacka		9	9.5 (7.5, 9.6)	(7.4, 8.8)	9 (100)	43 (4, 1030)
Rolfsån		14/4	25	8.9 (6.5, 17.9)	5.8 (1.7, 41.5)	16 (64)	179 (1, 1880)
	Bosgården		6	16.2 (9.4, 17.9)	32.6 (6.4, 41.5)	6 (100)	302.5 (25, 1880)
	Fälån		9	9.0 (7.9, 9.2)	6.5 (3.2, 6.9)	9 (100)	173 (43, 1161)
	Island pool		10	7.6 (6.5, 10.4)	3.3 (1.7, 8.1)	1 (10)	0 (0, 1)
Himleån		14/4	15	11.7 (5.2, 15.9)	13.9 (1.0, 28.6)	15 (100)	49 (1, 699)
	Göingegården norrfåran		9	12.5 (8.6, 15.9)	14.2 (4.9, 28.6)	9 (100)	139 (7, 699)
	Ön i Rolfstorp		6	7.4 (5.2, 14.5)	3.5 (1, 24.1)	6 (100)	22 (1, 49)
Ätran/Högvasån		15/12	80	7.4 (5.5, 14.0)	3.0 (1.4, 23.1)	53 (66)	8 (1, 830)
	Fageredsån, nedstr.bro väg 154		12	7.5 (6.9, 13)	2.8 (2.1, 14.2)	8 (75)	3.5 (0, 68)
	Hjärtaredsån Grusgropen		5	10.4 (8.3, 11)	9.5 (4.9, 11.4)	0 (0)	-
	Nydala kvarn		18	8.9 (6.4, 14)	5.1 (1.4, 21.5)	16 (89)	5 (0, 799)
	Sumpafallet		34	6.8 (5.5, 12)	2.5 (1.5, 12.4)	24 (71)	5 (0, 830)
	Århult		11	7.4 (5.7, 13.9)	3.2 (1.6, 23,1)	5 (45)	0 (0, 25)
Totalt			200	8.2 (5.2, 17.9)	4.2 (0.9, 41.5)	118 (59)	3 (0, 1 880)

Figur AF1. Antal *Gyrodactylus* sp. per laxunge i sju västkustvattendrag 2020.



Laboratorieanalyser

Gyrodactylus sp. från den infekterade laxungen som hittades i Örekilsälven och från fem laxungar i Rolfsån (tre från Bosgården och två från Fälån) skickades till NVI för artbestämning.

Morfologisk undersökning i mikroskop visade att laxungen i Örekilsälven sannolikt var infekterad med *G. derjavinoides* medan laxungarna från Rolfsån var infekterade med typiska *G. salaris*. PCR-analys och sekvensering bekräftade detta, samt att *G. salaris* i Rolfsån tillhörde haplotyp A.

DISKUSSION

Gyrodactylus salaris har hittills inte påvisats i svenska vattendrag som mynnar i Atlanten/Västerhavet norr om Göta älv. Det var därför oroande att en laxunge i Örekilsälven hade förekomst av haptormaskar. Det finns ett antal olika *Gyrodactylus*-arter och här visade det sig vara *G. derjavinoides*, en art som beskrevs första gången 2007 och från öring (Malmberg et al., 2007). Resultaten visar alltså att Örekilsälven fortfarande kan räknas som fri från *G. salaris*. Även om Rolfsån påvisades som infekterad för några år sedan har *G. salaris* tidigare inte påvisats uppe i provtagningslokalerna Bosgården och Fälån. *Gyrodactylus salaris* Haplotyp A är densamma som tidigare påvisats i Rolfsån, vilket visar att det sannolikt inte handlar om en nyintroduktion utan att parasiten spridit sig till nya lokaler i vattensystemet.

I Kungsbackaån och Himleån förekom parasiten hos samtliga insamlade laxungar, och i Rolfsån hos samtliga laxungar i två av tre provtagna lokaler. I dessa provtagningspunkter förekom också de högsta medianvärdena avseende antal parasiter per laxunge (22 – 302,5 st, **Tabell AF1**) och de fyra laxungar som hade >1000 haptormaskar. Smitttrycket i dessa tre vattendrag bedöms därför som mycket högt. I Säveån och Ätran var smitttrycket lägre med medianvärden per lokal på 0 – 5 st parasiter per laxunge (maxnotering 830 st).

SLUTSATS

Örekilsälven och Anråsån kan fortsatt räknas som fria från *G. salaris*. Det har skett en spridning uppströms i Rolfsån och smitttrycket i Kungsbackaån, Rolfsån och Himleån är mycket högt.

REFERENSER

Malmberg, G., Collins, C., Cunningham, C., Jalali, B. (2007). *Gyrodactylus derjavinoidea* sp. nov. (Monogenea, Platyhelminthes) on *Salmo trutta trutta* L. and *G. derjavini* Mikailov, 1975 on *S. t. caspius* Kessler, two different species of *Gyrodactylus* – combined morphological and molecular investigations. *Acta Parasitologica* 52(2), <https://doi.org/10.2478/s11686-007-0016-1> [details]

Återvändande lax

Under 2016 och 2018 undersöktes nystigen lax i Mörrumsån, Torneälven och Umeälven (SVA, 2017; SVA, GU och SLU, 2019). I båda projekten undersöktes dessutom fisk som inte var helt nystigen samt lekmogen fisk från andra vattendrag. Under 2020 fokuserades provtagningarna på nystigen fisk. Ruokavirasto, Luke, SLU i Umeå och GU var delaktiga i planeringen och GU och Luke skulle delta i provtagningen.

I budgeten för den återvändande laxen fanns kostnadstäckning för provtagningar, analyser som kunde göras i fält samt histopatologisk och cytologisk preparering. Under senhösten frigiordes medel för ett antal analyser. Dessa analyser kommer att genomföras under första halvan av 2021 och rapporteras separat så snart resultaten sammanställts.

MATERIAL OCH METODER

Provtagningspunkter och antal fiskar

Torneälven och Umeälven valdes som primära lokaler då de sinsemellan haft stora skillnader i antalet påverkade laxar och det finns tidigare insamlade data att jämföra med. Provtagningarna i Torneälven genomfördes inom ett samarbete med Finska naturresursinstitutet (Luke), Ruokavirasto samt SLU i Umeå och bekostades av forskningsmedel från inkomster för det gemensamma svensk-finska gränsälvsfiskekortet. Ätran och Örekilsälven på västkusten samt Klarälven (Vänern) inkluderades också. Inget av dessa tre vattensystem har provtagits i de tidigare undersökningarna. Både Klarälvslox och Gullspångslox återvänder till Klarälven, då kompensationsodlad lax av båda stammarna sätts ut där som smolt. Provtagningen riktades enbart mot Klarälvslox. Provtagningspunkter utsågs en bit uppströms, så att laxen befunnit sig i hemälven runt en till två veckor. Dessutom planerades provtagning utanför/i älvmynningen för att få material från fisk som ännu inte migrerat uppströms. För Torneälven och Umeälven planerades provtagning vid två tillfällen, dels tidigt under steget, dels ca en månad efter den första provtagningen. För övriga tre provtagningspunkter planerades en provtagning. Totalt planerades det för provtagning av 20 laxar per provtagningsplats och provtagningstillfälle (**Tabell AF2**), vilket skulle resultera i 280 fiskar.

Tabell AF2. Planerade provtagningar av lax inom laxhälsoövervakningen 2020.

Vattendrag	Provtagningspunkt	Period 1	Period 2	Totalt (antal)
Torneälven	Haparanda skärgård på finska sidan Risudden	v. 24	v. 29	80
Umeälven	Obbola Norrfors	v. 27	v. 32	80
Ätran	Falkenberg Nydala kvarn (biflöde Högvadsån)	v. 21/22	-	40
Örekilsälven	Strax innanför mynningen Brålandsfallet/Torpasträcken	v. 21/22	-	40
Klarälven	Norra Vänern Forshaga	v. 28	-	40

Fångst och förvaring av fisk

För provtagningar i mynningsområdena till Torneälven och Umeälven anlätades yrkesfiskare. Fångst skedde med push up-/kombifälla. För provtagning i mynningen planerades fångst med nät.

Drivnätsfiske användes för uppströms provtagning i Torneälven och genomfördes av lokalbefolkningen. I övriga vattendrag användes laxtrappor eller befintliga fällor för att fånga fisken. Fisken fångades in samma dag som provtagningen genomfördes eller en till två dagar innan provtagning (Forshaga). Fisk hölls vid liv i kar/bassänger i anslutning till fångstplatsen till dess provtagning genomfördes. Detta då resultatet av vissa analyser påverkas snabbt efter fiskens död.

Obduktion och provtagning

Fisken bedövades med ett slag i huvudet och avlivades genom avblodning, där 10 – 20 ml hjärtblod samlades upp med hepariniserad spruta och kanyl. Obduktion och provtagning genomfördes därefter omgående. Yttre och inre avvikelser noterades. Parasitbörda (*Eubotrium* sp.) i tarm noterades för en del individer. Längd, vikt, levervikt, gonadvikt, och magtarmpaketets vikt registrerades. Fiskens konditionsfaktor (CF) beräknades enligt Fulton (somatisk vikt (g) x 100/ längd (cm)³), och leversomatiskt index (LSI), gonadosomatiskt index (GSI) och gastrointestinal-somatiskt index (GISI) (lever-/gonad-/gastrointestinalvikt (g)/somatisk vikt (g) x 100). Blod och organ togs ut för analys enligt nedanstående.

Histopatologi och cytologi

Bitar av lever, njure och mjälte och skars ut för histopatologisk bedömning och placerades i 10% formalin för fixering. Från enstaka fiskar togs hudbitar från områden med UDN-liknande förändringar eller hudblödningar. Bäddning, snittning och rutinfärgning (Hematoxylin och Eosin (HE)) har genomförts. Från hjärtblod gjordes blodutstryk för hematologisk bedömning. Fixering med aceton samt färgning med Giemsa har genomförts. Histopatologisk och cytologisk undersökning kommer genomföras under början av 2021.

Blodanalyser

Helblod

Hematokrit (HAEMATOKRIT 200, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany), hemoglobinkoncentration (HemoCue® Hb 201+ System, HemoCue AB, Ängelholm, Sweden), blodglukos (HemoCue® Glucose 201+ System, HemoCue AB, Ängelholm, Sweden), och blodlaktat (Lactate Scout 4, Gima, Gessate, Italien) mättes omgående efter att blodprov tagits ut utom för Klarälven där hematokrit mättes på plats men prover frystes på torris och togs med till Göteborg för mätning av hemoglobin, blodglukos och blodlaktat.

Cirka 1 ml helblod fördes över till eppendorffrör och frystes i kolsyreis/isopropanolbad. Proverna förvaras vid -80°C inför analys. Detta gjordes primärt för Ruokavirastos räkning, för tiaminanalyser på Torneälvsloxar. Helblod sparades också från ett antal laxar i övriga provtagningspunkter för att möjliggöra jämförelser. Analyser kommer att genomföras av Ruokavirasto under början av 2021.

Plasma och blodkroppar

Cirka 10 ml blod fördes över till ett serumrör och centrifugerades vid 5 000 x g 3 min. Plasma och röda blodkroppar separerades till olika mindre rör och frystes på kolsyreis, förutom 6 små aliqouter som placerades i ett kolsyreis/isopropanolbad för snabbare nedfrysning. Rören förvaras vid -80°C inför analys. Proverna har transporterats till GU, förutom 1 ml plasma per fisk som SVA sparats för forskning/metodutveckling. Det arbetet kommer pågå hela 2021.

Plasmajoner (K⁺, Na⁺, Ca²⁺ och Cl⁻) och pH mättes under hösten vid GU med en elektrolytmätare baserad på jonselektiv elektrod-teknologi (Convergys® ISE comfort Electrolyte Analyzer, Convergent Technologies, Cölbe, Germany).

Dessutom kommer plasma att undersökas genom metabolomik med hjälp av Nuclear magnetic resonance (NMR) på NMR-centrum vid Chalmers tekniska universitet. Med tekniken identifieras samt kvantifieras alla metaboliter i ett biologiskt prov som till exempel plasma.

Lever och muskulatur

Leverprover, totalt fem per fisk, togs centralt från levern direkt efter avlivning. Alla leverbitar placerades på kolsyreis för en snabb nedfrysning. Proverna förvaras vid -80°C inför analys. Leverproverna har skickats till GU för analys utom ett prov per fisk som ska till biobanken vid Naturhistoriska riksmuseet (NRM).

Ca 100 g ryggmuskel togs mellan huvudet och ryggfenan på fiskens vänstra sida för framtida analyser. Muskelproverna frystes på kolsyreis för transport till laboratoriet, därefter har proverna förvarats vid -20°C . Proverna kommer att skickas till biobanken vid NRM.

Fettfena och fjäll

Prov från fettfena samt fjäll togs från alla fiskar för SLU Sötvattenslaboratoriums räkning. Fjällproverna torkades och förvaras i fjällprovskuvert medan fenproverna placerades direkt i 70% etanol. Dessa prover förvaras vid rumstemperatur och kommer att skickas till SLU för eventuella åldersbestämningar, genetiska analyser samt analys av stabila isotoper.

RESULTAT

Genomförande av provtagningar 2020

2020 blev i många meningar ett extremt år och bland annat Covid-19 försvårade logistiken kring provtagningen. GU hade på grund av pandemin i de flesta fall inte möjlighet att delta och därför genomfördes samtliga provtagningar av SVA med ett visst stöd av GU och Linnéuniversitetet. Gränsen mellan Finland och Sverige stängdes för gränsövergångar till finska sidan, vilket innebar att en gemensam provtagning SVA/Luke i Haparanda skärgård fick planeras om. SVA anlätade i stället en yrkesfiskare på Seskarö. För provtagningen uppe vid Risudden behövde SVA ansöka om särskilt tillstånd för att korsa gränsen, då den fiskestuga lokalbefolkningen nyttjar ligger på en ö på finska sidan av gränsen.

Vid första provtagningen i Torneälven var det extremt högt vattenstånd. Fiskestugan stod under vatten, men lokalbefolkningen hittade en bastustuga på svenska sidan att hyra för provtagningen. Det höga vattenståndet medförde dock att laxar kunde smita under näten och nät förstördes av drivande bråte. På två dagar fångades nio av 20 planerade laxar. Övriga provtagningar i Torneälven gick som planerat. Vis Seskarö provtogs 19 i stället för 20 laxar vid första provtagningen på Seskarö. Detta beroende på att det var så många laxar i fällan på morgonen och det bedömdes inte vara värt arbetet att sänka fällan/lyfta och tömma den för att provta en lax följande dag. I Umeälven kunde första provtagningen genomföras som planerat, men vid andra provtagningen hade majoriteten av laxen redan passerat Obbola och yrkesfiskaren vi engagerat hade inte fått mer än någon enstaka lax i fällan på en vecka. Därmed finns bara uppströms prover från andra provtagningsomgången i Umeälven. I Klarälven kunde provtagning endast genomföras vid Forshaga då vi inte kunde säkra lokal hjälp med fisket i Vänern. Ätran och Örekilsälven hade extremt låga flöden under sommaren och därmed få stigande laxar, varför provtagning inte kunde genomföras. Totalt provtogs 143 av 280 planerade laxar enligt **Tabell AF3**.

Tabell AF3. Antal provtagna laxar per provtagning inom laxhälsoövervakningen 2020.

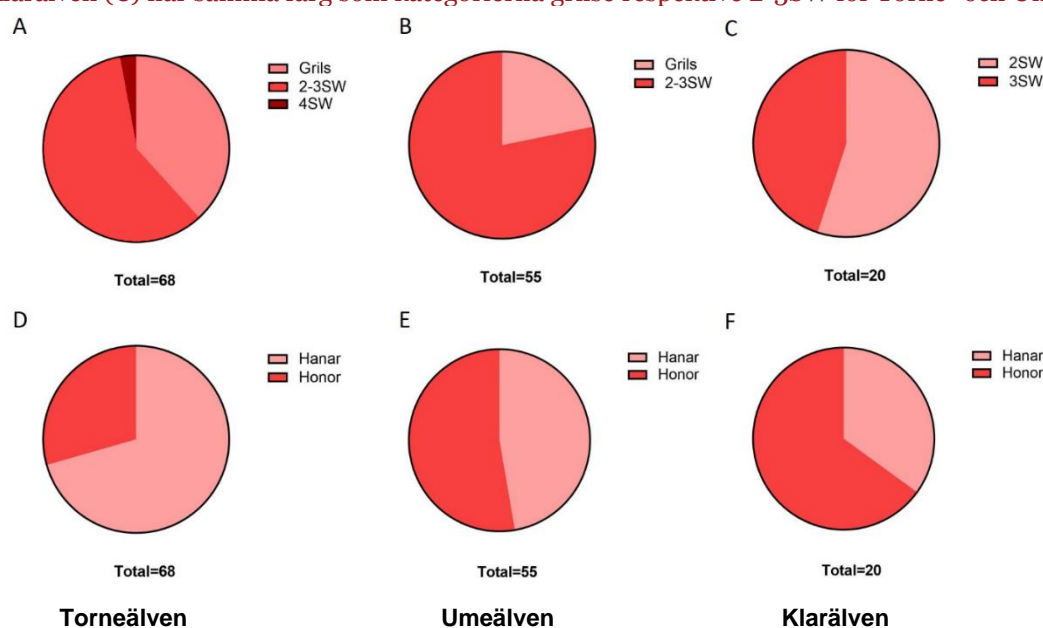
Vattendrag	Provtagningspunkt	Period 1 (antal laxar)	Period 2 (antal laxar)	Totalt (antal laxar)
Torneälven	Seskarö	19	20	39
	Risudden	9	20	29
Umeälven	Obbola	20	-	20
	Norrfors	20	15	35
Klarälven	Mynningen	-	-	-
	Forshaga	20	-	20
Alla vatten	Mynning	39	20	59
	Uppströms	49	35	82
	Totalt	88	55	143

Obduktion och provtagning

Morfometriska data och obduktionsfynd

Av 143 laxar var 109 hanar och 34 honor. Morfometriska medelvärden \pm standardavvikelse, fördelat per kön presenteras i **Tabell AF4**. Laxarnas längd var 48 – 123 cm (hanar) respektive 60 – 111 cm (honor) i Torneälven, 56 – 105 cm (hanar) respektive 64 – 99 cm (honor) i Umeälven och 66 – 85 cm (hanar) respektive 65 – 88 cm (honor) i Klarälven. I Torneälven noterades en hög andel grilse och hanar jämfört med Umeälven och Klarälven (**Figur AF2A-E**). Åldersbedömningar gjordes genom att plotta alla laxarnas längd för respektive vattendrag. Där ett hopp i kurvan noterades sattes en gräns. Det första och tydligaste hoppet kom runt 68 – 75 cm för alla tre vattendragen. Maxlängden för grilse sattes till 68 cm i Torneälven och Umeälven. Klarälvs laxen är mindre och där bedömdes fisk <75 cm vara 2SW (*pers. komm. Johnny Norrgård, Gammelkroppa Lax AB*). Ett misstänkt hopp mellan 2 och 3SW kom vid ca 95 cm för Ume- och Torneälven, men alla fiskar på 71 – 110 cm har samlats i en kategori, 2 – 3 SW. För Klarälven bedömdes alla fiskar >75 cm vara 3SW. Två hanar från Torneälven med en längd på 120 respektive 123 cm och bedömdes vara 4SW.

Figur AF2. Bedömd åldersfördelning bland fångade laxar för A) Torneälven, B) Umeälven och C) Klarälven samt könsfördelning i D) Torneälven, E) Umeälven och F) Klarälven. Notera att 2SW och 3SW i Klarälven (C) har samma färg som kategorierna grilse respektive 2-3SW för Torne- och Umeälven.



Tabell AF4. Medelvärden ± standardavvikelse avseende morfometriska parametrar för laxar i de olika vattensystemen.

Vattensystem (Antal fiskar) ¹	Längd (cm)	Vikt (g)	Gonadvikt (g)	Somatisk vikt (g)	Levervikt (g)	CF ²	GSI (%) ³	LSI (%) ⁴
Torneälven ☞ (13 + 35)	77.0 ± 3.3	6 346 ± 5 502	65.0 ± 58.5	6 281 ± 5 467	73.9 ± 68.5	1.10 ± 0.10	1.20 ± 0.70	1.20 ± 0.20
Torneälven ☞ (15 + 5)	85.7 ± 12.9	7 274 ± 3 843	216.2 ± 184.1	7 057 ± 3 671	106.0 ± 67.2	1.03 ± 0.13	2.61 ± 1.34	1.44 ± 0.23
Umeälven ☞ (16 + 10)	77.1 ± 14.1	5 388 ± 3 062	28.5 ± 26.5	5 360 ± 3 051	62.9 ± 35.9	1.04 ± 0.10	0.6 ± 0.43	1.17 ± 0.14
Umeälven ☞ (24 + 5)	85.0 ± 6.9	6 854 ± 1 606	156.5 ± 43.1	6 686 ± 1 554	83.1 ± 25.5	1.07 ± 0.10	2.45 ± 1.34	1.24 ± 0.21
Klarälven ☞ (7)	70.6 ± 4.9	4 034 ± 1 039	10.7 ± 6.9	4 024 ± 1 037	30.5 ± 8.0	1.12 ± 0.09	0.27 ± 0.17	0.76 ± 0.12
Klarälven ☞ (13)	77.0 ± 7.7	5 477 ± 1 523	150.4 ± 73.6	5 327 ± 1 465	41.6 ± 10.5	1.14 ± 0.06	2.71 ± 0.89	0.79 ± 0.06

¹ (Provtagning 1 + provtagning 2), ² CF = Konditionsfaktor: somatisk vikt (g) x 100/längd (cm)³, ³ GSI = Gonadosomatiskt index: gonadvikt (g)/somatisk vikt (g) x 100,

⁴ LSI = Leversomatiskt index: levervikt (g)/somatisk vikt (g) x 100

En sammanställning av fynd i respektive vattendrag finns i **Tabell AF5**. Svampangrepp noterades i låg omfattning (ca 7%) i Umeälven till skillnad mot 2018 då 67% av laxarna var (oftast kraftigt) svampangripna. I Torneälven noterades två fiskar med begynnande svampangrepp. UDN-liknande förändringar på nosen och huvudet observerades framför allt i Umeälven men två lindriga fall noterades även i Torneälven. En liknande trend observerades för hudblödningar där 42% av Umeälvsloxarna visade symtom mot 9% i Torneälven. Under första provtagningen vid Risudden i Torneälven fångades en återblänkare (hona) med typiska RSD-symptom. Mekaniska skador i hud och fenor var relativt vanliga i Torneälven och Umeälven. Vad gäller inre symtom sågs det hos enstaka individer i respektive lokal och var oftast av lindrig grad. Förekomst av bandmask kontrollerades och kategoriserades som noll, lindrig, måttligt eller rikligt hos 59 individer. Alla var infekterade i olika grad (**Figur AF3**).

Tabell AF5. Yttre och inre fynd hos de 143 laxar som provtogs inom laxhälsoövervakningen 2020.

Vattensystem (Antal fiskar)	Grad av förändring	Yttre fynd						Inre fynd
		UDN- liknande ¹	Hud- blödning	Huderosion /Sår	Annan hudskada ²	Fen- skador	Svamp	Organförändringar
Torneälven (68)	Ingen	66	62	67	52	22	66	Cysta hjärta: 1
	Lindrig	2	3	1	7	8	2	Stor mjälte: 1
	Måttlig	-	2	-	6	3	-	Svullen mjälte: 1
	Kraftig	-	1	-	3	2	-	Sammanväxt lever/tarm: 1 Knottrig torr mjälte: 1
Umeälven (55)	Ingen	34	32	38	34	38	50	Punktblödning lever:1
	Lindrig	17	18	5	11	9	4	Större blödn. lever: 2
	Måttlig	2	4	9	7	4	1	Rundad mjälte: 2
	Kraftig	2	1	3	3	4	-	Stor mjälte: 1 Pigmenterat buk fett: 5 Lite blödn. buk hinna:1
Klarälven (20)	Ingen	20	20	-	11	18	20	
	Lindrig	-	-	-	8	2	-	Svullen mjälte: 1
	Måttlig	-	-	-	1	-	-	Förtjockad gallblåsa: 1
	Kraftig	-	-	-	-	-	-	Sammanväxt lever/tarm: 1

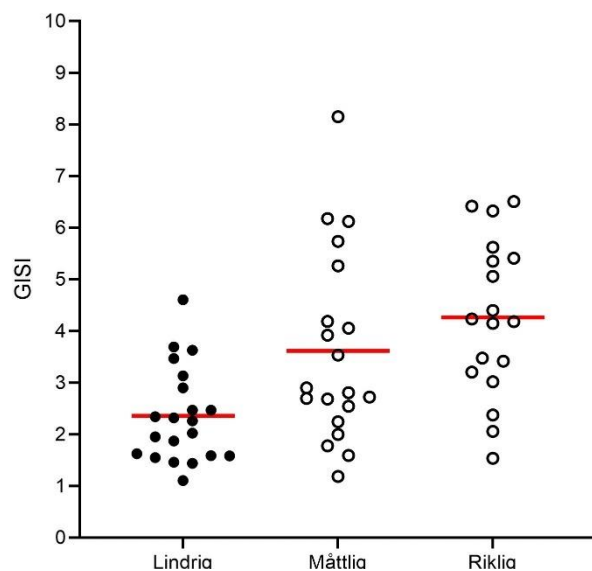
¹Skadan liknar UDN makroskopiskt men har ej diagnostiserats, för det krävs histopatologisk bedömning. ²Inkluderar mekaniska skador och avläkta skador

Gastrointestinalsomatiskt index som mått på parasitbörda

För att korrekt kunna bedöma mängden bandmask måste man tömma tarmen och räkna antalet maskar. Räkning är tidsödande och måste inte göras i fält, utan parasiterna kan förvaras i 70% etanol tills räkning kan göras. Eftersom bandmasken är segmenterad finns dock risk att den går av i samband med att man rensar tarmen, vilket skulle innebära en överskattning av antalet parasiter. Ett alternativ skulle var att rensa magtarmpaketet på mask och göra en vägning av masken för att korrelera det mot den somatiska vikten. Även detta är tidsödande och att få ut all mask ur de smala pylorusbihangen torde vara svårt. Under provtagningen 2020 undersökte vi om det var möjligt att bedöma parasitbördan baserat på GISI, dvs. vikten av magtarmpaketet i relation till laxens vikt. Magtarmpaketet vägdes hos samtliga laxar och den bedömda parasitbördan samt GISI hos de 59 laxar vars magtarmpaket öppnats plottades för att undersöka om det finns en korrelation mellan

GISI och parasitbörda (**Figur AF3**). Det fanns inget signifikant samband mellan GISI och kategoriserad parasitbörda, men ändå en trend att större mängd parasiter leder till en högre GISI.

Figur AF3. Undersökning av parasitbördan hos lax genom att korrelation av GISI mot bedömd mängd parasiter. Det röda horisontella strecket motsvarar medelvärdet av GISI för respektive kategori.



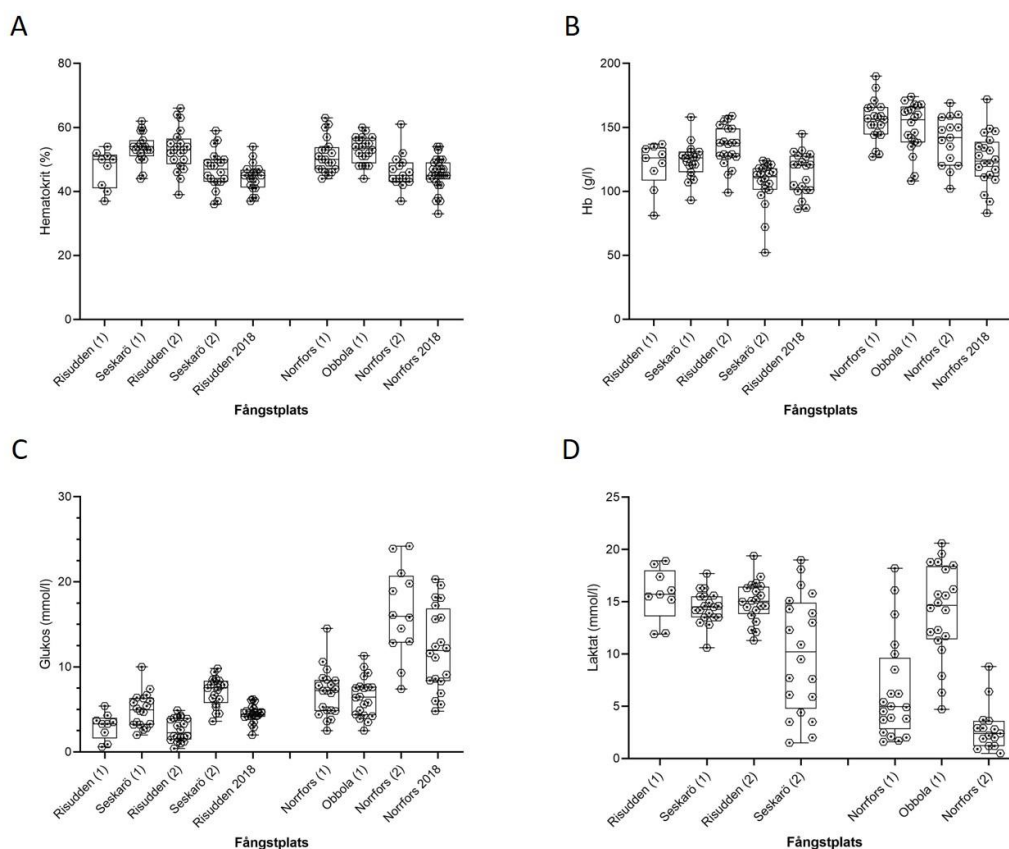
Förekomst av *Eubotrium* sp. i tarmen hos 59 laxar

Blodparametrar

Samtliga individers värde, samt medelvärde, för hematokrit, hemoglobin och glukos hos laxarna i Torneälven och Umeälven finns i **Figur AF4A-D**. För Klarälven mättes hematokrit manuellt på plats medan mätning av övriga blodparametrar inte kunde genomföras. Hematokritvärden hos Klarälvsloxarna har inte plottats mot eller jämförts med värdena från Torne- och Umeälven då mätmetoderna varit olika. Hematokrit varierade mellan 37 – 66%, hemoglobinvärdet mellan 52 – 190 g/l och blodglukos mellan 0.6 – 23.9 mmol/l. Inga signifikanta skillnader detekterades för hematokrit eller hemoglobinvärden mellan Torneälven och Umeälven, även om enskilda individer som sticker ut (**Figur AF4A-B**). Inte heller för blodglukos kunde signifikanta skillnader ses, men där finns en trend med högre och mer spridda värden i Umeälven gentemot Torneälven, speciellt uppströms vid den senare provtagningen (**Figur AF4C**). Från den sena provtagningen i Umeälven liknar glukosvärdena de från 2018 då laxen var i extremt dåligt skick med stora svampangrepp, trots att laxen som provtogs 2020 var i relativt gott skick.

Vid årets provtagning kontrollerade vi även laktatvärden (mjölksyra) i blodet som en indikator på stress. Värdena varierar kraftigt, från 1.2 – 20.5 mmol/l (**Figur AF4D**). En sammanställning av samtliga uppmätta blodparametrar finns i **Tabell AF6**. Statistisk bearbetning kommer att göras och presenteras tillsammans med resultaten från de analyser som ska genomföras under 2021.

Figur AF4. Blodvärden från provtagningen 2020 samt referensvärden från 2018 avseende: A) hematokrit, B) Hemoglobin, C) Blodglukos och D) Blodlaktat.



Risudden=Torneälven, uppströms; Seskarö=Torneälvens mynningsområde; Norrfors=Umeälven, uppströms; Obbola=Umeälvens mynningsområde

Tabell AF6. Medelvärden \pm standard error för blodparametrar samt koncentrationer av plasma-elektrolyter samt plasma-pH i laxar från de olika vattensystemen.

Parameter	Torneälven				Umeälven			Klarälven
	Provtagning 1		Provtagning 2		Provtagning 1		Provtagning 2	Forshaga
	Seskarö	Risudden	Seskarö	Risudden	Obbola	Norrfors	Norrfors	
HT (%)	53,6 \pm 1,1	47,1 \pm 2,0	46,8 \pm 1,3	53,1 \pm 1,5	52,9 \pm 1,0	51,2 \pm 1,2	46,3 \pm 1,6	38,8 \pm 1,0
Hb (g/l)	123,7 \pm 3,1	120,0 \pm 6,1	101,6 \pm 6,2	135,1 \pm 3,5	152,0 \pm 4,0	155,3 \pm 3,6	139,6 \pm 5,6	-
Glu (mmol/l)	5,0 \pm 0,5	3,0 \pm 0,5	7,1 \pm 0,4	2,6 \pm 0,3	6,5 \pm 0,6	7,0 \pm 0,6	16,4 \pm 1,5	-
Lak (mmol/l)	14,5 \pm 0,4	15,7 \pm 0,8	10,0 \pm 1,3	15,0 \pm 0,4	14,2 \pm 1,1	6,6 \pm 1,1	2,9 \pm 0,6	-
K ⁺ (mmol/l)	7,0 \pm 0,8	4,7 \pm 0,4	5,7 \pm 0,3	8,5 \pm 0,8	5,8 \pm 0,3	5,5 \pm 0,3	6,4 \pm 0,4	5,1 \pm 0,2
Na ⁺ (mmol/l)	174,5 \pm 1,6	175,1 \pm 1,4	166,8 \pm 2,0	169,1 \pm 2,5	183,2 \pm 2,0	156,5 \pm 3,1	138,1 \pm 2,2	157,2 \pm 1,1
Cl ⁻ (mmol/l)	127,8 \pm 1,1	129,0 \pm 4,0	127,5 \pm 1,5	119,4 \pm 2,3	130,7 \pm 1,6	122,4 \pm 2,4	102,5 \pm 1,7	120,2 \pm 1,1
Ca ²⁺ (mmol/l)	1,5 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	1,5 \pm 0,0	1,5 \pm 0,0	1,2 \pm 0,0	1,0 \pm 0,1	1,20 \pm 0,0
pH	6,7 \pm 0,1	7,1 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0	6,8 \pm 0,0	6,9 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0	7,1 \pm 0,0	7,3 \pm 0,0

HT=hematokrit, Hb=hemoglobin, Glu=blodglukos, Lak=blodlaktat, K⁺=kaliumjoner, Na⁺=natriumjoner, Cl⁻=kloridjoner, Ca²⁺=kalciumjoner

DISKUSSION

Med tanke på de logistiska problem 2020 bjöd på lyckades ändå provinsamlingen relativt bra. Provtagning i fält är ett vågspel, då man aldrig kan garantera väderförhållanden, vattenflöden mm som kan påverka utfallet av en provtagning. Det var en stor misräkning att Ätran och Örekilsälven inte kunde provtas, då Atlantlaxen och Östersjöaxen lever under olika ekologiska förutsättningar, bland annat avseende föda och patogenspektrum. Vi vet därför inte om de symptom som generellt benämns RSD bara är likartade yttringar beroende på samma etiologiska faktorer, delvis samma etiologiska faktorer eller helt olika etiologiska faktorer. Samma mätningar som hittills genomförts på Östersjöaxen, både avseende patogener och fysiologiska markörer bör därför genomföras i dessa vattendrag.

Åldersbedömningen som genomfördes här är svajig, eftersom man inte kan garantera att en individ växer till en viss längd inom utsatt tidsperiod i havet. Särskilt gäller detta 2-3SW där det inte fanns något tydligt hopp. Sannolikt finns några små 3SW bland de som bedömdes som 2SW och några stora 2SW bland de som bedömdes som 3SW. Av den anledningen separerades dessa två ”årskullar” inte för Torne- och Umeälven. En säkrare åldersbedömning skulle kunna göras genom fjällanalyser alternativt analyser av fiskens otoliter.

Avseende utvärderingen av GISI som mått på parasitbörda är det tveksamt om detta går att använda på individnivå eftersom det finns djur med rikligt av maskar men ett lågt GISI och tvärt om. Föda i magsäcken är inte en variabel som ska påverka GISI då laxen slutar äta under sin lekvandring. Däremot var magtarmpaketen från större individer tvungna att mätas med den krokståg som användes för vägning av fisken och som har lägre känslighet än den hushållståg som användes för vägning av organ. En våg som fungerar både för stora och små individer behöver användas för mer korrekt data. Likaså jämfördes GISI med en visuell bedömning som alltid blir objektiv. Även om samma person skattade all parasitbörda kan det inte garanteras att alla magtarmpaket klassades exakt på samma sätt. Möjligen kan fotografering av de öppnade magtarmpaketen bidra till en bättre klassning för att skaffa mer data, då man kan jämföra bilderna med varandra och därmed genomföra en andra skattning för alla fiskar vid ett tillfälle efter att alla provtagningar genomförs. Fokuset på parasitbörda beror på att bandmasken lever på fiskens magtarminnehåll, det vill säga den konkurrerar med sin värd om näringen i födan och konsumerar bland annat kobolamin (vitamin B12). Kraftiga bandmaskinfektioner kan därför leda till B12-brist, något som finns beskrivet hos människor (<https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/bandmask-/>). Brist på vitamin B12 påverkar blodbildningen, immunförsvaret och kan ge neurologiska symptom.

Ytterligare, mer grundliga analyser av det insamlade materialet kommer att genomföras under 2021, vilket förhoppningsvis leder framåt i jakten på orsaken till Östersjöaxens problem. Resultaten avseende blodparametrar kommer att utvärderas tillsammans med dessa resultat. Dessutom har plasma sparats för att börja undersöka om förekomsten av antikroppar kan användas som indikator för pågående eller genomgången infektion. Vidare har vi påbörjat ett projekt där vi undersöker om exosomer kan användas för diagnostik. Exosomer är membranförsedda partiklar som knoppas från kroppens celler och innehåller bland annat en representation av det RNA som finns i cellen. Om några celler i djuret är infekterat så borde således RNA från den patogenen även finnas i exosomer. Karakteriseringen av exosomerna skulle således möjliggöra identifieringen av eventuella virus eller bakterier som inte går att odla, och som potentiellt kan bidra till problematiken. SVA jobbar också för att sätta upp ett par för laboratoriet nya cellkulturer för virusodling. Dessa är mer laxspecifika och kan förhoppningsvis föröka virus som inte överlever på de ordinarie cellkulturerna.

SLUTSATS

Uppbyggnaden av ett övervakningsprogram baserat på provtagningar är beroende av att vi hittar signifikanta faktorer som kan användas för en bra klassificering av fiskens hälsostatus inte bara utifrån yttre fynd. Provtagningar bör därför fortsätta för att samla in ytterligare prover till forskning om orsakerna till laxproblematiken. Av särskild vikt är att nystigen lax i västkustmynnande vattendrag provtas för att påbörja utredning av problematiken där och jämföra resultaten med resultaten för Östersjölaxarna.

REFERENSER

Statens veterinärmedicinska anstalt, 2017. Sjuklighet och dödlighet i svenska laxälvar under 2014 – 2016. https://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/rapport-laxdoden-2016.pdf

Statens veterinärmedicinska anstalt och Evira, 2017. Laxdöden i Torneälven 2014 – 2016. https://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/laxdoden-tornealv-2014-2016.pdf

Statens veterinärmedicinska anstalt, Göteborgs universitet och Sveriges Lantbruksuniversitet, 2019. Fortsatta undersökningar av laxsjuklighet under 2018. https://www.sva.se/media/ysbjmqg/rapport_fortsattning-laxsjuklighet_2019.pdf

Övervakning av kameror

SYFTE

Ett pilotprojekt med kontroll av kamerapassager i laxförande vattendrag genomfördes under året med syftet att utvärdera som övervakningsverktyg avseende sjukdom och skador i laxförande älvar.

METOD

Kameror i fyra laxtrappor (Herting i Ätran, Fällfors i Byskeälven, Norrfors i Umeälven och samt Jockfall i Kalixälven) valdes ut. Två av älvarna (Ätran och Umeälven/Vindelälven) har tidigare år rapporterat problem med sjuklighet och dödlighet på nystigen lax. Kontroll av passager var tänkt att ske för fisk som vandrat förbi kamerorna varje onsdag från att fisken började stiga i stora antal till början av oktober. Kamerorna i Herting och Fällfors observerades via Fiskdata.se varje torsdag morgon. Bilder från passagera i Norrfors samt Kalixälven skickades från kraftverks-anläggningen respektive länsstyrelsen i efterhand och sparades i en OneDrive-mapp som SVA skapade.

Skador som fensskador, sårskador och svampangrepp noterades. Försök gjordes att specifikt beskriva skadans placering (rygg framför/bakom ryggen, stjärtpole, bakom gällock, nos etc.), hur allvarlig skadan var (djup, ytlig etc.), samt skadornas storlek och mer specifik placering av skadorna etc. Kamerorna från Fiskdata.se mätte fisken så för dessa bilder noterade vi även längd. Kvaliteten på dessa mätningar varierade. Om fisken var fenklippt noterades detta.

RESULTAT

SVA insåg snabbt att en specificering av skadepacering samt skadornas storlek skulle ta för mycket tid i anspråk och inte heller gick att bedöma på en stor del av bilderna. I stället noterades skadornas placering som huvud, rygg, sida etc. och skadans storlek uteslöts som parameter.

Kamerorna som observerades på fiskdata.se var under perioder ur funktion, dessutom sparades bara ett visst antal bilder på sidan. När mycket fisk steg innebar det att bilder försvann innan de hann analyseras. Bildkvaliteten varierade kraftigt mellan kamerorna. Norrfors kamera gav utmärkta bilder medan Kalixälvens kamera gav betydligt sämre bildkvalitet. Kvalitetsskillnaderna berodde på flera faktorer så som debris framför kameran, ljusförhållanden och hur klart vattnet var. Det var även en stor kvalitetsskillnad mellan olika tidpunkter. I början av oktober fick vi bilderna från Kalixälven. Dessa bilder gick över huvud taget inte att bedöma på samma sätt som de övriga. På grund av detta och problem med driftsstörningar avbröts kontrollerna. Kamerabilderna från fiskdata.se analyserades till början av oktober och från Norrfors fram till och med början på september. I detta skede hade 147 fiskar från Herting, 128 fiskar från Fällfors och 1 230 fiskar från Norrfors bedömts. Av dessa 1 505 fiskar var 1 467 laxar, 36 havsöringar samt två ej artbestämda.

DISKUSSION OCH SLUTSATS

Arbetet med att analysera bilderna tog väldigt mycket tid i anspråk, inte bara på grund av att många fiskar skulle kontrolleras utan på grund av ovan nämnda problem med bildkvalitet och driftsproblem. Detta medför att de olika vattendragen och samma vattendrag vid olika tidpunkter inte gav jämförbara data. Med tanke på den ojämna bildkvaliteten, som i många fall försvårat eller omöjliggjort en bedömning av hälsostatus, samt instabiliteten i kamerafunktionen är vår slutsats att detta inte är en kostnadseffektiv eller kvalitetsmässigt stabil metod för en generell hälsoövervakning av lax och havsöring. Denna typ av övervakning skulle däremot kunna vara användbar i enskilda vatten om ett specifikt problem ska kartläggas. Havsnejonögon observerades frekvent i Hertings kamera, varför kameror skulle vara ett möjligt sätt att övervaka dessa fiskar mer aktivt.

Avelsfisket

SYFTE

Syftet var att skapa en samlad övervakning för avelsfisken i reglerade vattendrag, då rapporter om hög andel skadad fisk under avelsfisket samt svårighet att hålla fisken vid liv fram till romstrykning inkommit från vissa anläggningar de senaste åren.

METOD

En enkät avseende förekomst av skador på lax och öring i samband med avelsfisket, samt en Excelfil för registrering av skador under perioden i anläggning fram till romstrykning skickades under sommaren ut till nio kompensationsodlingars avelsanläggningar. Arbetet med excel-filen påbörjades av Stefan Palm, SLU sötvattenslaboratorium, och Åke Forssén, Norrfors laxodling under 2018 men den har inte använts. Viss modifiering gjordes inför utskicket 2020. Tanken var att anläggningarna skulle fylla i en enkät per avelsfiske i de fall man fiskade mer än en gång.

RESULTAT

Två anläggningar returnerade både ifyllda enkäter och Excelfil, och ytterligare fyra returnerade enbart Excel-filen.

Enkät om avelsfisket

En anläggning hade bara tagit in lax och en hade tagit in både lax och öring. Båda anläggningarna returnerade en enkät med en sammanställning av uppskattad total av förändringar.

I den ena anläggningen hade lax tagits in under en tiodagarsperiod nära lek, varför merparten av fisken var färgad. En var tunn i hullet men alla fiskarna betedde sig normalt. Av MSW-fiskarna var 60% helt symptomfria eller hade endast lindriga skador. Skadefrekvensen för grilsen saknas. Fenröta förekom hos 13% och svampiga fenor hos 29% av all fisk. Hudförändringar förekom hos 55% av fisken, framför allt sår (39%) och svamp (30%). Ett antal bilder som tagits i samband med avlivning hade bifogats till enkäten. Bilderna visade olika typer av skador som svamp, fenröta och sår/erosioner. Ett antal bilder visade erosioner av olika omfattning och djup i huvudregionen, och förändringarna stämde överens med de som ses vid UDN. Eftersom histopatologisk undersökning inte genomförts går det dock inte att säkerställa att UDN är orsak till erosionerna.

I den andra anläggningen hade fisket pågått i omgångar under åtta veckor. Totalt var ca 50% av laxen fortfarande blank, 40% hade pågående färgning och 10% hade full lekdräkt vid intag. Beteendet var normalt. Hos den fisk som togs in mot slutet av säsongen hade 20% fenröta och 20% svamp på fenorna. Det är oklart hur många individer som hade båda delarna. Det rapporterades också att minst 30 – 40% av fisken som observerades i älven hade mekaniska skador orsakade av fiske (ryckskador med stora hål/rispor). Många fiskar hade också hela huvudet täckt av svamp.

Hos öringar som togs in var 70% fortfarande blanka och 30% hade pågående färgning. Beteendet var normalt. Ca 20% som fångades hade svamp på fenorna. I likhet med lax noterades ryckskador, men någon prevalens har inte angetts. Mot slutet av säsongen hade mer eller mindre alla öringar som observerades svamp.

Excelark avseende avelsfiskens hälsa

Fem anläggningar tar in både lax och öring medan en anläggning bara tar in lax. Fyra anläggningar angav att helhetsintrycket av årets säsong var mer lax i älven än normalt medan två bedömde återvandringen som normal. Avseende öring bedömde alla anläggningarna återvandringen som normal

men en anläggning svarade att sett över en längre tid har återvandringen minskat. I **Tabell AF7** finns bedömningar avseende frågorna i Excelarket avseende både lax och öring. Klassificeringen av vad som är ”<Normalt”, ”Normalt” och ”>Normalt” varierar beroende på frågan. Klassificeringarna specificeras i fotnoter under tabellen. Andelen fisk som har dött innan romstrykning har lagts in med stigande grad av dödlighet för honor av respektive art. Den siffra som anges direkt under dödligheten för honor i en anläggning avser hanarna i samma anläggning. Två anläggningar har specificerat frågan avseende svårigheter att hålla fisken vid liv. En anläggning skrev att svårigheterna gällde fisk som tagits in under sommaren och en anläggning angav 100% dödlighet på fisk som tagits in i juli.

En fråga som inte tagits med i tabellen avser resultatet av årets kläckning, det vill säga avkomman till föregående års avelsfisk. Där har en anläggning svarat att hos laxen förekom en kull med små ögon och en kull med missbildningar. I övrigt hade inga medfödda problem noterats.

Tabell AF7. Svaresresultat av Excelenkät i avelsanläggningar för lax och öring. Sex anläggningar har svarat på frågor om lax, fem av dessa anläggningar har också öring och har besvarat de frågorna.

Parameter	Lax			Havsöring		
	<Normalt	Normalt	> Normalt	<Normalt	Normalt	> Normalt
Andel stor fisk ¹		3	3		4	1
Andel ♀ bland MSW ^{1,7}		6			3	1
Kroppskondition ^{2,7}		6			4	
Andel med avvikande beteende ³	1	5		3	2	
Skador/sår/rodnader ³		4	2		4	1
Svampangripen fisk i älven ³	Sommar	1	3	1 ⁸	3	1 ⁸
	Höst		2	3 ⁸	2	2 ⁸
Svampangripen fisk i anläggningen ^{3,6}		2	3 ⁸		3	2 ⁸
Svårighet att hålla fisken vid liv till romstrykning	Nej		3		3	
	Ja		3		2	
Behandling för att hålla fisken vid liv ⁴		3	3		1	4
Andel fisk som dött innan romstrykning (%) ⁵	Honor	1.6, 2.3, 3.3, 17, 20, 64		0.4, 3.3, 7.7, 19, 57		
	Hanar	7.1, 1.7, 2.7, 12, 6, 66		0, 10, 7.4, 14, 27		

¹ Mindre andel/normal fördelning/större andel än normalt, ² Smalare än normalt/normal kondition/trindare än normalt, ³ Inga observationer/normal (låg) andel/högre andel än normalt, ⁴ Mindre/normalt/mer än normalt, ⁵ Andel honor och hanar i samma anläggning står direkt ovanför/under varandra. ⁶ En anläggning har inte besvarat frågan avseende lax, ⁷ En anläggning har inte besvarat frågan avseende havsöring. ⁸ En anläggning som svarat ”>Normalt” anger att det är normalt för de senaste 3 – 4 åren men högt jämfört med för 5 – 10 år sedan.

DISKUSSION

Endast två anläggningar svarade på enkäten om avelsfisket, vilket gör det svårt att utvärdera värdet av frågorna i den. En anläggning gav dock respons att de tyckte själva enkäten var svår att fylla i på grund av att de hanterar så mycket fisk, och att svaren därför blir luddiga. Tanken var att man skulle fylla i enkäten för varje avelsfiske i stället för att göra ett överslag i slutet av säsongen. Detta skulle säkerligen underlätta bedömningen då de blir en mindre mängd fisk som ska bedömas samtidigt som man kan fylla i enkäten i samband med det enskilda fisket i stället för att försöka komma ihåg vad som hände i början av säsongen. Samtidigt har vi full förståelse för att det är mycket att göra under perioden och detta blir ett extra moment som då gärna blir uppskjutet eller inte genomförs alls. Därmed minskar värdet som övervakningsmetod. På ett mer övergripande sätt kan frågor i enkäten besvaras genom frågorna i Excelarket, vilket gör att trender avseende till exempel skador kan plockas upp den vägen. Excelarket är avsett att fyllas i vid slutet av säsongen, vilket innebär en mindre belastning. Arket kan möjligen upplevas som trubbigt då frågorna kategoriseras som ”normalt(/lågt)”, ”mer än normalt” och ”mindre än normalt” men samtidigt har kompensationsodlarna bra koll på vad som händer i den egna älven från år till år. Journalföring av behandlingar etc ska göras i djuranläggningar, varför man har bra kontroll över utvecklingen i sin egen anläggning. Genom att data rapporteras till SVA kan vi skapa en allmän databas med en flik för varje anläggning, vilket ger oss bra möjlighet att följa trender i enskilda anläggningar/älvar såväl som generella trender. Excelarket tror vi därför kan vara ett bra tillskott till övervakningen av lax- och öringhälsan. En sådan databas kommer inte ingå i öppna data, då fisken hålls i anläggning och därmed gäller sekretess. Däremot kommer trender avseende anläggningarna kunna rapporteras som anonymiserade data i den årliga rapporten avseende anadrom fisk.

Inventering av leksträckor

Inventeringar av leksträckor genomfördes i Kågeälven, Vindelälven, Öreälven, Ljungan (Åbäcken), Mörrumsån, och Örekilsälven. Planen var att genomföra inventeringar även i Kalixälven och Ängesån, men där hann fisken leka innan inventeringarna började. Tanken var att respektive leksträcka skulle inventeras ca 1 gång per vecka under 4 – 5 veckors tid. Om sträckan var kortare än 500 m skulle hela sträckan kontrolleras och om den var längre skulle 500 m av sträckan kontrolleras. Antalet enskilda lekvilliga fiskar på plats, antalet lekvilliga fiskar med svampangrepp, antalet döende eller döda fiskar skulle räknas eller uppskattas beroende på mängden fisk. Öring och lax behövde inte separeras. Död lekfisk som gick att komma åt önskade vi en buköppning av för att se om de hunnit leka. Rapportering gjordes i en Excelfil med möjlighet till kommentarer. En ”älvsvis” sammanställning följer nedan.

RESULTAT

Kågeälven

Kågeälvens nedre FVO besökte kända leklokaler i princip dagligen under lekperioden. Höga vattenflöden gjorde dock att man inte över huvud taget kunde observera lek eller lekropar. Däremot har man sett lax som uppehåller sig i leklokalerna. Sjuka eller döda laxar och öringar noterades inte. De höga flödena kan bidra till detta, men enligt uppgift är det generellt få observationer av sjuk/död fisk i älven. Avseende steg sågs mer fisk, framför allt lax, än vanligt i slutet av fiskesäsongen, vilket också kan vara kopplat till de höga flödena. Om mängden fisk i älven kring lek var normal eller hög är oklart då man inte kunnat göra ordentliga observationer.

Vindelälven

Inventering genomfördes av Daniel Jonsson, V River Service. Utöver de fasta dagar som noterats i mallen (sju tillfällen mellan 11/10 – 22/ 11) observerades den utsedda leksträckan flertalet dagar under perioden och därefter fram till mitten av december i samband med vandring längs älven bland annat under jakt. Även i Vindelälven var det mycket höga flöden vilket försvårade arbetet och inga noteringar om fisk har kunnat göras. En dag i början av december observerades en havsörn sittandes vid iskanten mot öppet vatten på selet nedströms sträckan, vilket kan indikera förekomst av död fisk. Ingen död fisk har dock observerats längs stranden på sträckan. Man hade tänkt att flyga drönare under soliga dagar för att testa hur väl det fungerar för övervakning, då Vindelälven är stor och leksträckan svårövervakad från land. Vädret förhindrade dock detta.

Öreälven

I Öreälven assisterade Öreälvens FVO med inventering av fyra leksträckor. Under perioden 6 – 11/10 har följande observationer gjorts:

Sträcka 1: 6/10 en död laxhona som inte lekt, 7/10 fem levande och lekvilliga svampangripna fiskar, en död fisk som hade lekt, 9/10 och 10/10 har vardera en död fisk som inte lekt hittats.

Sträcka 2: 6/10 fem till tio levande fiskar, en död laxhona som inte lekt, 7/10 en lekvillig fisk med svamp på plats, två döda varav ingen lekt, 10/10 fyra levande fiskar varav en svampangripen men lekvillig. Inga döda fiskar observerade.

Sträcka 3: 6 – 12/10 noterades 15 levande fiskar som var lekvilliga trots svampangrepp. En död fisk som inte öppnats noterades.

Sträcka 4: Noteringar saknas.

Efter den 12/10 var det mycket höga vattenflöden, varför noteringar saknas efter detta datum.

Ljungan

Nedre Ljungans FVO inventerade en leksträcka i biflödet Åbäcken. Inventeringarna påbörjades den 6/10. Innan dess hade det varit så dåligt med vatten att det i princip var torrlagt på leksträckan. Totalt observerades 25 öringar på sträckan under perioden 6/10 – 28/10. Av dessa var 17 friska, 6 hade svampangrepp och 2 var döda. En kommentar var att det pågick ett brobygge nedströms, vilket bedömdes ha stört en del öring från att passera upp till bäcken.

Den 6/10 noterades två lekplatser, med två öringar på vardera lekplatsen. Dessutom noterades en ensam öring under en närliggande bro. Alla fiskarna var friska. Den 9/10 – 14/10 var det högt och grumligt vatten vilket försvårade inventeringen. Den 9/10 observerades tre ensamma öringar, och på en lekplats hade dubbel lek förekommit. Två öringar, varav den ena hade svampangrepp, noterades tillsammans på en lekplats. Den 13/10 sågs två friska öringar tillsammans, men lek pågick inte. Dessutom observerades en öring med svampangrepp. Den 14/10 observerades två friska öringar på en lekplats samt en som var på väg uppströms i bäcken. Dessutom sågs en öring med svampangrepp på fenorna. Den 18/10 noterades fyra öringar, varav två friska lekte och två hade svampangrepp på nos och fenor. Den 21/10 hittades två döda öringar, en sjuk svampangripna öring och en frisk öring. De döda öringarna hade lekt. Efter den 21/10 noterades inga öringar på leksträckan.

Mörrumsån

Två leksträckor inventerades av Blekinge Folkhögskola i Bräkne-Hoby. Data finns för fem dagar under perioden 16/10 – 10/11. Väder- och vattenförhållanden varierade men man har ändå kunnat ge en detaljerad beskrivning för alla inventeringsdagar.

Sträcka 1: Den 16/10 noterades 12 levande fiskar på plats varav 3 med svampangrepp men pigga. Fyra döende (slöa, stod på platser där normal fisk ej skulle stå) fiskar noterades men inga döda. Det bedömdes att leken inte var igång än. Den 23/10 noterades 40 lekvilliga fiskar varav 16 med svamp (**Bild AF1A**). Åtta döende fiskar samt en död hona (**AF1B**) och tre döda hanar observerades. Honan öppnades och bedömdes som olekt (**Bild AF1C**). Leken verkade vara igång men man kunde inte avgöra om både lax och öring lekte. Ca 10 – 20 lekgropar/grävda områden noterades, vilket för denna sträcka är få. Den 29/10 noterades sju lekvilliga fiskar varav sex hade svamp. Utöver detta observerades fem döende och nio döda fiskar. Sex av de döda fiskarna öppnades och tre var olekta honor och tre sannolikt olekta hanar. Alla utom en av de levande och döende fiskarna som kunde bedömas avseende art var laxar. En var en öringhona med lindriga svampangrepp. Antalet lekgropar hade ökat sedan veckan innan. Den 5/11 noterades tre lekvilliga fiskar (hopp/plask i huvudfåran, svampangrepp kunde inte bedömas), åtta kraftigt svampangripna döende fiskar och 11 döda fiskar. Fyra fiskar öppnades varav två laxhonor (**Bild AF1D**) och en öringhona hade lekt. Leken bedömdes i stort sett vara klar, ingen ökning i antal lekgropar kunde ses. Den 10/11 noterades två döende och tre döda fiskar. En laxhona som öppnades hade lekt. Leken bedömdes nu vara över.

Sträcka två: Ingen fisk sågs 16/10 och 23/10. Den 23/10 noterades dock några ljusa fläckar/lekgropar på botten. Den 29/10 noterades en lekvillig fisk med svamp, tre döende samt fyra döda fiskar (en öringhane som sannolikt lekt samt två öringhonor och en laxhane som inte hade lekt). Antalet lekgropar hade ökat sedan veckan innan. Den 5/11 sågs endast två döende och fem döda fiskar. Antalet lekgropar bedömdes inte ha ökat. Den 10/11 hittades bara en död och utlekt laxhona.



Bild AF1. A) Lekvillig svampangripen fisk. B) Svampangripen lax som hittades död. C) Död olekt laxhona samt D) död utlekt laxhona. *Foto: Blekinge Folkhögskola*

Örekilsälven

Två leksträckor inventerades av Per Nyqvist, Brålands Gård under perioden 1/11 – 5/12. På grund av en regnig och mild höst var vattenföringen hög och vattnet kraftigt färgat under i princip hela lekperioden. Detta försvårade inventeringarna och det gick inte att observera lek. Enstaka fiskar har observerats på lekområdena men det gick inte att bedöma eventuella svampangrepp. Död fisk hittades både vid de inventerade leksträckorna och i andra områden av älven (**Bild AF2 A-B**).



Bild AF2. A) Död laxhane samt B) romrester efter död hona som inte hunnit leka. *Foto: Per Nyqvist*

På den första av de två inventerade sträckorna noterades fisk vid ett tillfälle, den 15/11. Då observerades en levande och två döda fiskar. På den andra sträckan noterades tre levande fiskar den 1/11, en levande och en död den 8/11, samt två levande och en död den 15/11. Ingen av de döda fiskarna hade lekt.

DISKUSSION

I flera älvar var det svårt eller omöjligt att genomföra inventeringar på grund av höga vattenflöden. I Mörrumsån och Åbäcken/Ljungan däremot fungerade inventeringarna mycket bra. För Vindelälven noterades att området sannolikt var för stort för att vara rimligt att inventera. Tyvärr kunde inte drönare som metod testas, något som kanske skulle möjliggöra övervakning av bredare leksträckor. Inventering av leksträckor bedöms som en användbar metod under förhållanden som medger observationer, vilket innebär att relativt små vattendrag och vatten som inte vanligtvis är kraftigt färgade kan fungera bra. Att välja ut mindre biflöden till olika större älvar kan vara ett alternativ för att få en viss övervakning av lekfisken i dessa vattensystem.

Akutmedel

Fall 1. Havsöring med hudblödningar

En havsöring skickades in från Skellefteälven, Bureå, Skellefteå kommun i början av juni. Öringen hade fångats i början av maj. Insändaren frös in fisken och rapporterade att fisken hade trasiga fenor samt svampangrepp i rapportportalen. Bild på fisken saknades. Vid kontakt angavs att fisken hade en misstänkt böld på stjärtpolen och att den var i dålig kondition för att vara en övervintrad Skellefteälvsvöring.

Havsöringen var en hona med konditionsfaktor 0.85. Hon hade en ytlig UDN-liknande huderosion runt skallens framkant på överkäken kring luktroparna. Inga tecken på svullnader eller blödningar i hud/muskulatur noterades, någon böld kunde inte påvisas. I bukhålan sågs en mycket stor men dock icke rundad (svullen) mjälte. Mellan simblåsa och njure fanns en ansamling av blodblandad vätska. I övrigt hade inre organ normalt utseende och det fanns mycket fett kring pylorusbihagen. Bakteriologisk odling gjordes från mjälte och njure eftersom mjälten var förstorad. Inga bakterier kunde odlas fram.

Misstanken om böld kunde inte verifieras. Vissa tecken på bakteriell infektion fanns i bukhålan (blodblandad vätska och stor mjälte) men odling var negativ. Bakterier ska överleva frysning, men det kan vara svårt att fastställa eventuell bakteriell infektion på fisk som varit frusen. Orsaken till de UDN-liknande förändringarna på huvudet har inte kunnat fastställas. UDN är en diagnos som måste fastställas genom mikroskopisk undersökning. För detta krävs formalinfixering av vävnad direkt efter döden, frysning omöjliggör sådan diagnostik. Det kan därför inte fastställas om hudförändringarna beror på UDN eller har annat ursprung. Honan såg ut att vara i generellt gott hull för att vara en övervintrad öring, både på utsidan och utifrån ansamling av fett i bukhålan. Konditionsfaktorn låg på 0.85, vilket är bra efter en vinter i älv.

Fall 2. Havsöring med misstänkta blåsor i huden

Havsöringen fångades i nät på kusten mellan Norrmjöle och Sörmjöle, Umeå kommun, i slutet av september. Fisken levererades dagen efter till SLU i Umeå där den obducerades av SVA-personal.

Fisken var vid gott hull. På buksidan sågs ej helt färsk bettmärken efter sälangrepp med enstaka "motstående" tandmärken från sälens andra käkhalva på överdelen och sidan av kroppen. Såren hade penetrerat hudens yttersta lager men inte trängt igenom huden. På främre delen av ryggen sågs halvcirkelformade svampangrepp liknande de som beskrivs i samband med UDN. Svampangrepp noterades även på/kring bukfenor, vänster bröstfena, analfenan och fettfenan. Fläckvis rodnad sågs i anslutning till svampangreppen och längs bakre högra kroppshalvan sågs ytliga runda små sår (ca 3-4mm i diameter) omgivna av rodnad. Såren motsvarar placering av en sprucken "blåsa" som fotograferats efter fångst. Runt stjärtfenans bas fanns märken efter en åtsnörning. Mjälte och njure var lindrigt förstorade. Bakteriologisk odling och analys avseende BKD genomfördes, båda med negativt resultat. Hud från bakre delen av huvudet/främre delen av ryggen undersöktes histopatologiskt. I kanten av den undersökta huden noterades förändringar förenliga med tidiga stadier av UDN. Resten av huden var påverkad av svampangreppen och det är därför svårt att avgöra om den djupgående vävnadsdöd och inflammation som observeras är relaterad till UDN eller om det beror på svampinfektionen.

Sälangreppen bedöms vara det som primärt skapat en inkörsport för svampinfektionen. Blåsbildning är inte en förändring som normalt kopplas ihop med UDN. Fisken hade flera ytliga sår orsakade av sälangrepp och möjligen är "blåsan" hud som delvis skavts bort av sältänder. Det stämmer dock inte med beskrivningen att det fanns vätskefyllda blåsor vid fångst.

Svampangreppen omöjliggör bakteriologisk undersökning av sår och försvårar bedömning av vävnaden i mikroskop. En allmän bakteriologisk undersökning påvisade ingen spridd infektion i fisken, vilket visar att det inte är någon allmän infektion som gett upphov till de blåsor som uppmärksammats.

Fall 3. Svampangripen lax från Ätran

Rapporter hade under oktober kommit om svampangripen lax i Ätrans vattensystem. Därför skickades två svampangripna grilse som tagits i fällan vid Nydala Kvarn (biflödet Högvadsån) in för undersökning i slutet av oktober.

Båda hanarna var något tunna i hullet och kraftigt svampangripna med eroderade ryggfenor. Invändigt noterades förekomst av *Anisakis simplex* i levern hos båda fiskarna samt gonader fyllda med mjölke. Förruttnelseprocessen bedömdes som lindrigt framskriden.

Lax i västkustvattendragen har ännu inte kunnat provtas inom ramen för laxhälsoövervakningen, varför en panel av analyser kördes för en allmän hälsokontroll.

Virologisk odling var negativ, likaså realtids-PCR avseende infektiös laxanemi-virus (ISAV). Bakteriologisk odling från njure visade lindrig till måttlig växt av *Aeromonas salmonicida salmonicida* (ASS) hos båda fiskarna. Realtids-PCR av svampkolonier identifierade *Saprolegnia parasitica* hos båda fiskarna. Histopatologisk undersökning gjordes av hud (huvud, kropp), lever och njure. I huden påvisades kraftiga svampangrepp med ödem och inflammation ner mot underliggande muskulatur, som bitvis hade områden där måttlig till kraftig akut nedbrytning pågick. Inga tecken på UDN noterades. I levern sågs förekomst av ödem och hos den ena fisken fläckvis degeneration i mer framskridet stadium än den lindriga förruttnelse som noterades. Hos den andra fisken hade alla leverceller separerat från varandra och var måttligt degenererade. I njurarna noterades lindrig förruttnelse och ödem.

Den histopatologiska undersökningen visade att fiskarna dött av svampinfektionen. Förekomsten av ödem och celler som dött innan fisken själv dött visar att de inte kunde hålla vätske- och saltbalansen i kroppen till följd av svampangreppen. Hypoosmosen är det som i slutändan dödar fisken eftersom celler i kroppens vävnader dör och blodkroppar sprängs. Förekomsten av *S. parasitica* och även ASS är i detta fall sannolikt sekundära infektioner på grund av en extremt försvagad fisk. Fisken har infekterats under perioden för lek, en tid när den är naturligt försvagad av att inte ha ätit på runt ett halvår, vandrat från sina uppväxtplatser långt ut i Atlanten och under den tiden samt efter återkomst till sitt vattendrag förbrukat sina upplagrade energireserver för att överleva och för att bli mogen för lek.

Rapportportalen

Liksom alla föregående år sedan rapportportalen startades 2016 dominerade laxfiskar och framför allt lax i inkomna rapporter. Totalt rapporterades 270 anadroma fiskar varav 215 laxar, 41 havsöringar, 13 laxar eller öringar (artbestämning ej möjlig på grund av avsaknad av foto eller att det inte gick att definiera utifrån fotot) samt ett nejonöga.

Liksom tidigare år uppvisade rapporteringen av lax ett bimodalt mönster med en topp på sommaren och en topp på hösten (mars (n=1), juni (n=20), juli (n=82), augusti (n=15), september (n=7), oktober (n=64), november (n=24) och december (n=2)). Svamp var det vanligast rapporterade fyndet (169 laxar) I övrigt rapporterades sårskador, trasiga fenor, rodnader, hudblödningar, invärtes parasiter (anisakiasis, ibland i form av RVS), fjällförluster och enstaka fall av "annat". Merparten av havsöringarna (35 st, 85%) rapporterades under oktober-december och

svampangrepp är vanligaste fyndet. Endast i två fall rör rapporten något annat än svamp, nämligen en skada på huvudet samt trasiga fenor och en misstänkt böld (se Fall 1, Akutmedel).

Nejonögat rapporterades från Nissan och hade hittats på kajen vid Skafferiet i Halmstad. Bilden visar en kraftigt förruttnad individ, men lokaliseringen och storleken visar att det är ett havsnejonöga.

Från de vattendrag som provtagningar genomförts i har rapporter inkommit enligt följande stycken.

TORNEÄLVENS VATTENSYSTEM

Under 2020 rapporterades totalt 50 sjuka eller döda laxar från Torneälvsystemet och mynningsområdet/Haparanda skärgård. Rapporterna kom in mellan 16 juni och 19 december, varav 19 st i juli och 16 i oktober. Sexton fiskar observerades svaga/döende och 10 hittades döda. Merparten (60%) av både döda och döende fiskar rapporterades ha svamp men även andra rapporter förekom i lägre grad såsom fenskador, rodnader, och fjällförluster. Antalet inkomna rapporter under 2020 har ökat något jämfört med 2018 (44 st) men var färre än 2016 (70 st).

UME- OCH VINDELÄLVENS VATTENSYSTEM

Totalt inkom 54 rapporter från Umeälven avseende sjuk eller död laxfisk, varav 50 st handlade om lax, 3 st om havsöring och en om lax eller öring. Rapporterna kom in från 8 juni till 31 oktober, merparten (74%) i juli. Majoriteten av rapporterna handlade om svampangripna fiskar som var döda eller döende (79 %). Ytterligare laxar hade varit döda ett tag och det kunde inte säkert bedömas om svampen kommit innan eller efter döden även om de sannolikt dött av svampangrepp. Öringarna som rapporterades var svampangripna, två i juni och en i oktober. En rapport rörde flera svampangripna laxar eller öringar. Antalet rapporter ökade gentemot tidigare år, ex kom 36 rapporter från Ume-/Vindelälvsystemet 2018 och 42 st under uppstartsåret 2016.

KLARÄLVENS VATTENSYSTEM

Under senare halvan av sommaren kom det rapporter om svag och svampangripna lax i Klarälven, både i media och via vår rapportportal. I rapportportalen rapporterades under tiden 11/8 till 13/11 sex sjuka eller döda laxar samt två lax eller öring. Sex rapporter kom från Klarälven och två från Väneren. Alla var svampangripna och fem levde varav en var döende, en lax var död och för en lax saknades information. En fisk som inte kunde artbestämmas hade varit död ett tag och helt vit. För tre fiskar rapporterades ytterligare skador som trasiga fenor och fjällförluster liknande de vi noterade vid vår provtagning.

Del 3.

Katadrom fisk

Provtagningsprogram

SAMMANFATTNING

Obduktion med notering av längd och vikt, förekomst av yttre och inre symptom på sjukdom inklusive parasiterna simblåsemask (*Anguillicoloides crassus*) samt vita prick/ich (*Ichthyophthirius multifiliis*) har genomförts på juveniler, större gulål eller blankål i tolv provtagningspunkter (**Bild KF1**). I tillägg till obduktionen har diagnosisk avseende virus och bakterier genomförts. Totalt har 155 ålar undersökts. Syftet är att övervaka ålens hälsa samt risken för att vandrande ål introducerar virus i inlandszonen. Resultaten visar att ålherpes och simblåsemask är vanligt förekommande. Resultaten är förväntade utifrån tidigare års undersökningar.

INTRODUKTION

Europeisk ål (*Anguilla anguilla*) är en hotad art i hela utbredningsområdet, som inkluderar Europa, Nordafrika och västra Asien. År 2007 antog EU en förordning om åtgärder för återhämtning av det europeiska ålbeståndet (EG) nr 1100/2007). Sveriges ålförvaltningsplan fastställdes 2008 och godkändes av EU-kommissionen 2009 (<https://www.havochvatten.se/data-kartor-och-rapporter/rapporter-och-andra-publikationer/aldre-publikationer/ovriga-publikationer-fran-fiskeriverket/2012-11-05-nationell-forvaltningsplan-for-al.html>). Bland annat sätts stora mängder importerad juvenil ål ut varje år i kust- och inlandszon efter karantänering och hälsokontroll för att säkerställa frihet från sjukdom. Hälsokontrollen genomförs främst med syftet att utesluta förekomst av infektiös pankreasnekros (IPN), en virussjukdom som kan slå hårt mot laxfisk. Ålen är ofta subkliniskt infekterad, men viruset har påvisats i svensk ålodling i samband med sjukdom. Sverige har fristatus avseende IPN i inlandszon (tilläggsгарantier erhållna enligt Artikel 43, (EU) 2006:88) och därför kan inte ål från kustzon planteras ut i inlandszon utan påvisad frihet från viruset. Hälsokontrollen innebär också att andra, för ålen potentiellt allvarliga sjukdomar, kan upptäckas vilket i stort säkerställer att det är frisk ål som sätts ut. Under 2018 påbörjades även hälsoövervakning av naturligt vandrande juvenil ål som är på väg till inlandszonen, men även en del blankål på västkusten inkluderades. I samband med detta utvecklade SVA diagnostik avseende ålherpes (Ang-HV1), ett virus som kan ligga vilande länge i ålen men kan orsaka dödlig sjukdom om ålen stressas, till exempel av höga vattentemperaturer. I Tyskland misstänker man att spridningen av viruset är kopplat till utsättningar av icke hälsokontrollerad ål (Kullmann et al., 2018). Viruset kan inte upptäckas med den ordinarie virusodling som genomförs på SVA, utan en realtids-PCR har utvecklats för att övervaka sjukdomen.

Infektion med simblåsemask är också ett potentiellt hälsoproblem för ålen. Parasiten introducerades i Sverige under 1980-talet och kan påverka simblåsans funktion samt orsaka anemi.

Syfte

Hälsöövervakningen syftar till att övervaka potentiell introduktion av IPN i inlandszonen via naturlig eller assisterad flytt av ål samt förekomsten av för ålen allvarliga infektioner i både uppvandrande fisk (juveniler) och lekvandrande fisk (blankål). Efter två uppstartsår med varierande resultat i provinsamling var också ett syfte att få till en effektivare provinsamling för att skapa ett bättre underlag för hälsöövervakningen.

MATERIAL OCH METODER

Provinsamling

Provinsamling pågick under sommarhalvåret. Insamling av juveniler genomfördes i fällor som används för att samla upp ålen och lyfta den vidare uppströms förbi vandringshinder i vattensystemet. I några sötvattensystem fångades större gulål. Insamling av ål i havet skedde i samband med SLU:s kustprovfisken.

Provtagningspunkter

Utöver att insamlingen utgick från punkter där ål redan samlas in var också ett mål att sprida provtagningen geografiskt. Totalt utsågs 13 provtagningspunkter.

Fisk

Från varje provtagningspunkt var målet att samla in 20 ålar fördelat på två omgångar, vilket totalt skulle generera 260 fiskar. Ålen skickades färsk till SVA för provtagning.

Obduktion och provuttag

Beroende på ålarnas storlek genomfördes obduktion och provuttag på olika sätt. För ålar <10 cm togs endast totalvikten och längsta respektive kortaste ålen mättes. Yttre respektive inre avvikelser noterades men simblåsan undersöktes inte avseende förekomst av simblåsemask. Provuttag för virus gjordes genom att stjärtdelen (bakom anus) kapades och resten av kroppen finfördelades med skalpell.

På ålar >10 cm togs individuella längd- och viktmått, yttre och inre avvikelser noterades samt simblåsan undersöktes avseende förekomst av simblåsemask. För virusodling togs njure, hjärta och mjälte ut. För analys avseende ålherpes togs gälar, njure, hjärta och mjälte ut.

Om fler än tio individer skickades in genomfördes obduktion på samtliga individer, medan provtagning avseende virusodling och ålherpes gjordes på 10 respektive 9 - 12 individer per provtagning. För virusodling poolades organdelar från upp till 10 individer till ett prov, vilket resulterade i ett till två prov per provtagning. För analys avseende ålherpes poolades organdelar från tre individer till ett prov, vilket resulterade i tre till fyra prover per provtagning. Vid förekomst av sår eller annan indikation på bakteriell infektion togs prov för bakteriologisk odling ut från förändrat organ och njure.

Laboratorieanalyser

Virusundersökning genomfördes dels genom Realtids-PCR avseende Ang-HV1, dels genom allmän virologisk odling enligt av EU föreskriven metodik (EU 2015/1554, se Bilaga 1 "Havslevande fisk"). Bakteriologisk odling på hästblod- och TYES-agar genomfördes på alla individer med indikation på bakteriell infektion. Plattorna inkuberades i 20°C i upp till 7 dagar.

Databearbetning

För deskriptiv statistisk bearbetning överfördes data till Stata 15 (Stata Corp., 4905 Lakeway Drive, College Station, Texas, 77845 USA). Utöver ren deskriptiv statistik har Wilcoxon's rangsummetest samt enkel Poisson-regression använts för att undersöka samband.

RESULTAT

Provinsamling

Insamling och provtagning genomfördes under juni - september, med en provtagning i juni, åtta provtagningar i juli, fem i augusti och två i september. Sammanlagt inkom ålar från sexton olika provtagningstillfällen i totalt tolv provtagningspunkter (**Tabell KF1**). I ett fall (Simpevarp) hade ålen sumpats i en månad innan insändning.

Obduktion och provuttag

Totalt provtogs 155 ålar av varierande storlek (**Tabell KF1**). I tre inskick fanns ålar som var så små att endast min-max längd och snitt-/totalvikt skulle mätas. För en av provtagningarna finns dock individuella mätvärden för ålarna (Lagan provtagning 2). För alla ålar som mättes individuellt varierade längden mellan 7 - 87 cm och vikten mellan 0.43 - 1 437 g (**Tabell KF1**). Generellt var ålen i god kondition. Hudblödning eller kraftig rodnad på buksida/analfenor noterades hos två ålar från Simpevarp, en ål från Helgeån (provtagning nr 1) och en ål från Motala ström (provtagning nr 1). En ål från Barsebäck hade små sår längs sidan och två ålar från Simpevarp hade pigmentförändringar. En ål (Motala, provtagning 1) hade bleka gälar.

Parasiter

Av 155 ålar undersöktes 120 st från 13 provtagningar avseende simblåsemask. Antalet infekterade ålar per provtagningspunkt varierade från 0 - 100%. Totalt var 49 ålar (40.8%) från 10 provtagningar (9 provtagningspunkter) infekterade. Medianvärdet var 3 (min 1, max 10) *A. crassus*/infekterad ål (**Tabell KF1**). Det fanns ingen signifikant längdskillnad mellan icke infekterade och infekterade ålar (median 38 cm, n=71 vs. 44.0 cm, n=49; $Z=-1.7$, $p>0.5$, Wilcoxons rangsummetest), men då har de minsta ålarna (som inte undersökts avseende simblåsemask) inte inkluderats. **Figur KF1** visar antalet simblåsemaskar för ålar av olika längd. Räkning av antalet simblåsemaskar per infekterad ål saknas för totalt 10 ålar i två provtagningspunkter, deras längd representeras av trianglar i figuren.

Vita prick påvisades hos 3 av 10 ålar i en provtagningspunkt (Ätran).

Laboratorieanalyser

Totalt odlades 17 organpooler för virus. Alla virusodlingar var negativa, vilket innebär att virus som IPNV/Eel virus European (EVE), Eel virus European X (EVEX) och Eel virus American (EVA) inte påvisats.

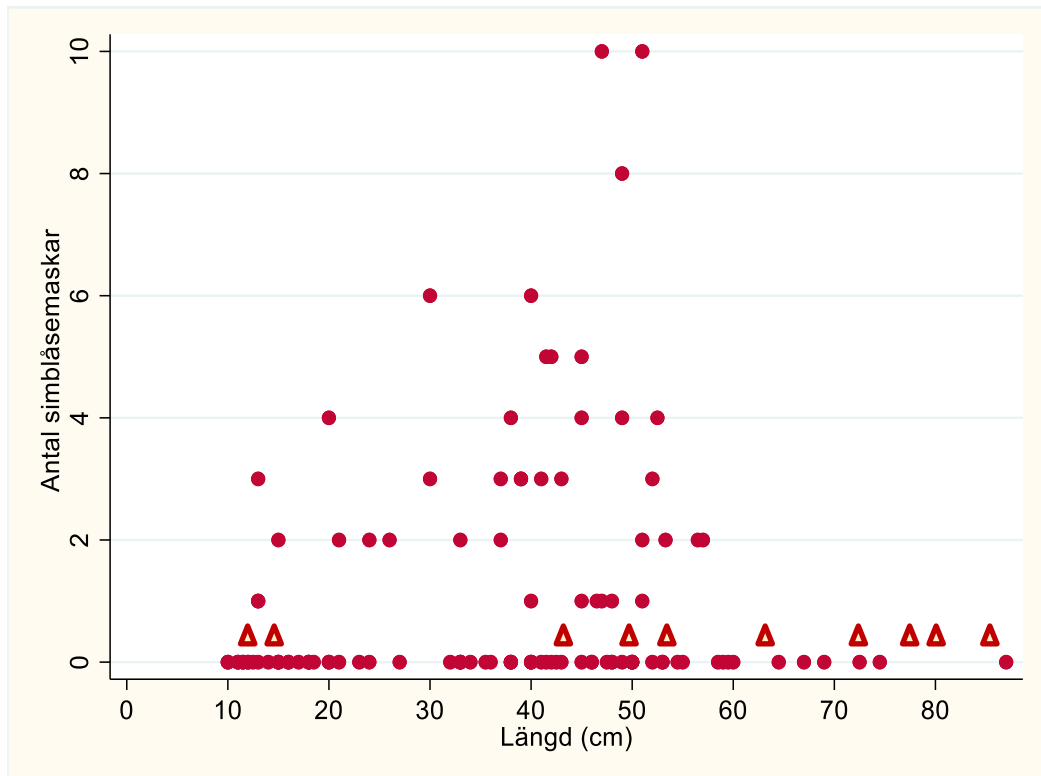
Ålherpes undersöktes i totalt 49 organpooler, varav 11 st från fem olika provtagningspunkter var positiva (**Tabell KF1**, **Bild KF1**). Alla positiva prover inkluderade ål med en längd på minst 33 cm. Medianlängden hos ål i ålherpes-negativa pooler var signifikant kortare än ål i positiva pooler (20 cm, n=121 vs. 46 cm, n=29; $Z=-4.2$, $p<0.001$, Wilcoxons rangsummetest) (**Figur KF2**). Ingen av ålarna med hudblödning, sår eller bleka gälar ingick i viruspositiva pooler.

Bakteriologisk undersökning gjordes på en ål med hudblödningar (Helgeån) men ingen bakterie påvisades.

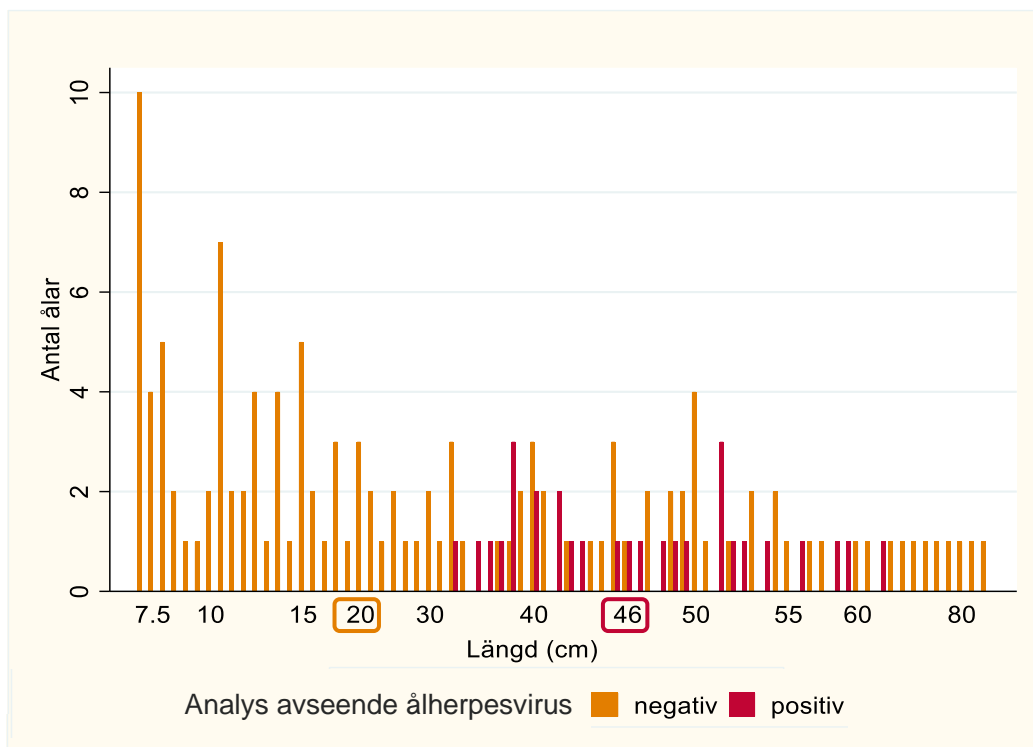
Tabell KF1. Resultat avseende somatiska undersökningar, virusundersökning och förekomst av simblåsemask inom ålhälsöövervakningen 2020

	Provtagningsspunkt	Provtagningsdatum	Antal ålar	Längd, cm	Vikt, g	AngHV-1	Virusodling	<i>Anguillicoloides crassus</i>	
				Median (min, max)	Median (min, max)	pooler	pooler	Pos/totalt	Pos/totalt
1	Fjällbacka/Skagerrak	28/8	10	48.8 (37.0, 56.5)	147.4 (78.5, 248.2)	4/4	0/1	10/10	2 (1, 5)
2	Stenungssund/Stig-/Askeröfjorden	3/9	10	45.0 (35.5, 64.5)	129.0 (62.2, 380.5)	4/4	0/1	0/10	0
3	Göta älv/ Lilla Edet	16/7	10	13.0 (11.5, 18.5) ²	3.0 (2.0, 6.0) ²	0/3	0/1	3/9a	1 (1, 3)
4	Vendelsö	30/9	8	51.5 (45.0, 57.0)	185.0 (134.0, 318.0)	0/3	0/1	2/8	1.5 (1, 2)
5	Ätran/Ätrafors kraftverk	27/8	10	12.3 (10.0, 21.0)	2.1 (0.8, 8.3)	0/4	0/1	2/10	Räkning saknas
6	Lagan/Laholm kraftstation	30/6	13	(7.0, 7.5) ³	0.2 (snittvikt)	0/3	0/1	Ej undersökt	Ej undersökt
		16/9	12	8.0 (7.5, 9.5)	0.6 (0.4, 0.8)	0/4	0/1	Ej undersökt	Ej undersökt
7	Barsebäck	14/8	10	48.0 (38.0, 52.0)	158.2 (63.0, 272.0)	1/4	0/1	8/10 (80)	4 (3, 10)
8	Vombsjön/ Kävlingeån	14/7	3	23.0 (20.0, 40.0)	15.0 (7.0, 108.0)	0/1	0/1	1/3	6
		28/7	10	19.0 (11.0, 33.0)	6.0 (1.0, 29.0)	0/3	0/1	5/10	2 (2, 4)
9	Helgeån/Torsebro kraftverk	7/7	7	(8.5, 12.0) ³	1.0 (snittvikt)	0/3	0/1	Ej undersökt	Ej undersökt
			3	15.0 (15.0, 18.0)	4.0 (2.0, 6.0)			0/3	0
		19/8	2	10.0 (8.0, 12.0)	saknas	0/1	0/1	Ej undersökt	Ej undersökt
10	Motala ström	7/7	10	40.0 (30.0, 49.0)	73.5 (20.0, 119.0)	0/3	0/1	5/10	3 (1, 8)
		30/7	10	31.5 (20.0, 43.0)	30.5 (8.0, 92.0)	1/3	0/1	3/10	5 (2, 6)
11	Simpevarp	17/6	16	68.0 (44.0, 87.0)	487.5 (144.0, 1437.0)	0/3	0/2	8/16	Räkning saknas
12	Dalälven/Älvkarleby	6/7	11	46.0 (33.0, 50.0)	70.0 (38.0, 132.0)	1/3	0/1	2/11	2.5 (2, 3)
Totalt			155			11/49	0/17	49/120	3 (1, 10)⁴

¹ för infekterade ålar, ² uppgifter saknas för en individ, ³ endast min och max finns, ⁴ uppgifter saknas för 10 infekterade individer



Figur KF1. Antal simblåsemaskar och längd hos ålar där förekomst av simblåsemask undersökts. Längden på de tio infekterade ålar där antalet parasiter ej räknats representeras av trianglar.



Figur KF2. Antal ålar av respektive längd i AngHV-negativa respektive AngHV-positiva pooler. Medianlängden i respektive grupp är inringat i respektive grupps färg. Avståndet mellan 10-talen på X-axeln varierar beroende på hur många olika mätvärden som finns representerade.

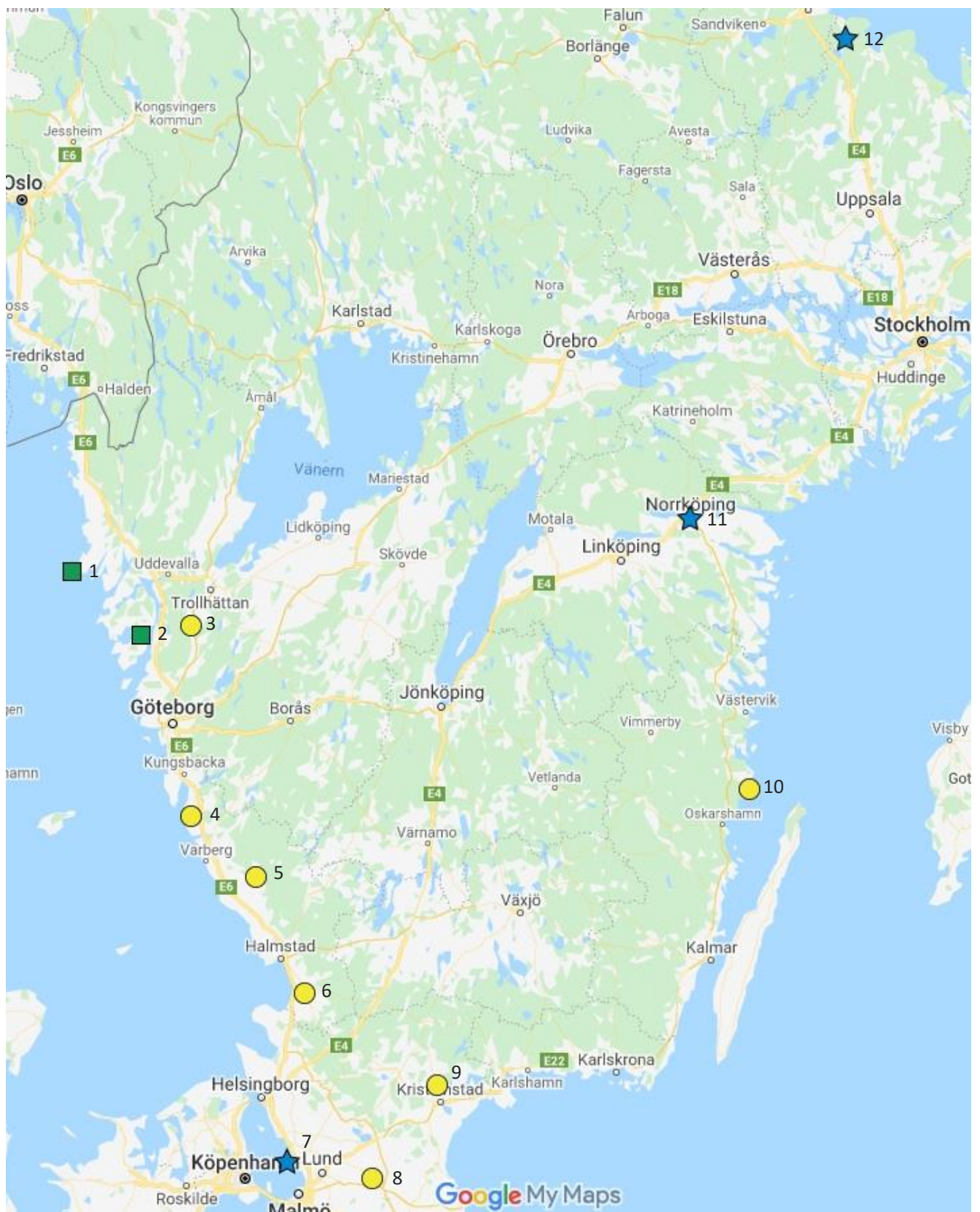


Bild KF1. Provtagningspunkter inom ålhälsöövervakningen 2020 samt resultat avseende Ang-HV1. Gul cirkel = negativ, blå stjärna = en positiv pool, grön fyrkant = samtliga pooler (n=4) positiva. Specifik analysinformation per provtagningspunkt finns i **Tabell KF1**. Kartunderlag från Google maps.

DISKUSSION

Generellt var ålarna i gott skick. Endast två ålar uppvisade yttre skador i form av hud- eller fenblödningar och endast på en lokal noterades yttre parasiter (vita prick). Vita prick är inte artspecifik för ål, men ålen är känslig för parasiten som kan orsaka allvarliga skador på ålens gälar, hud och fenor. Parasiten förekommer naturligt i sötvatten och har även i SVA:s undersökningar 2018 – 2019 påvisats på juvenil ål från olika lokaler.

Simblåsemask

Simblåsemask var vanligt förekommande både på individnivå och geografiskt sett. Det fanns inget samband mellan ålens storlek (längd) och infektion eller längd och antal parasiter hos infekterade individer. Dock har inte de minsta ålarna, där simblåsemask inte undersökts, räknats med som icke infekterade. De minsta ålarna är svåra att undersöka och plocka individuella organ ifrån. Därmed använder SVA hela kroppshålan för virusundersökning och för att undvika kontamination av de inre organen bör man då inte rota i bukhålan. På grund av att ål av den storleken inte födosökt någon längre tid bedömdes dessutom sannolikheten för infektion med *A. crassus* som relativt låg.

Simblåsemasken lever som namnet indikerar i ålens simblåsa. Lindriga infektioner kan vara helt symptomfria men masken skadar blåsväggen då den livnär sig på blod, och kan därmed orsaka inflammation som påverkar simblåsans funktion samt anemi hos ålen. Kraftiga infektioner tar dessutom upp mycket av utrymmet i simblåsan och påverkar på det sättet dess funktion. Första gången parasiten påvisades i Sverige var 1987 (Lönnqvist, 2001). Hur stor inverkan simblåsemasken har på ålbeståndet är oklart, men parasitens förekomst i olika vatten, samt andel infekterade ålar och infektionsintensitet bör fortsätta övervakas.

Virusinfektioner

Årets prover visade ingen förekomst av virus som går att odla med ordinarie cellkulturer. Samma resultat erhöles i prover från 2018 – 2019. Detta indikerar frånvaro eller mycket låg förekomst av dessa virus i ål som vandrat till Sverige. IPN-virus är problematiskt då vissa genogrupper kan orsaka massdöd hos laxfiskyngel och varianten IPNV genogrupp 2/EVE orsakar sjukdom och uppåt 75% dödlighet hos juvenil ål (van Beurden et al., 2012). Ålspecifika virus som EVEX och ålherpes kan också få allvarliga konsekvenser för ålpopulationen (van Beurden et al., 2012).

Ålherpesvirus

Ålherpesvirus påvisades i provtagningspunkter längs västkusten redan 2018 i samband med att SVA:s övervakning av vildål startade. Det är alltså inte förvånande att viruset åter har påvisats. Förekomsten av ålherpes i Motala ström och Dalälven visar att infektionen även är etablerad i Östkustvattendragen. Viruset har tidigare påvisats i Mälaren, Hjälmaran och Bolmen i samband med åldödlighet, senast under den varma sommaren 2018.

Förekomsten av virus i alla fyra prover (Fjällbacka, Stenungssund) jämfört med i en av fyra prover (Barsebäck) och en av tre prover (Motala ström, Dalälven) indikerar en högre prevalens på norra västkusten. Eftersom proverna är analyserade i form av pooler innehållande 2 - 3 individer går det dock inte säkert att uttala sig om prevalensen. Likaså blir jämförelse av ålens storlek hos ”positiva” och negativa individer till viss del instabil, eftersom vi i analysen räknar alla ålar ingående i en positiv pool som infekterade. Att inga ålar under 33 cm längd ingick i positiva pooler skulle kunna tolkas som att infektionerna sker efter att ålen kommit till svenska inlandsvatten. I undersökningarna SVA genomförde 2018 var det dock flera positiva pooler från kustzonen som innehöll ål med en snittvikt på 0.3 – 0.5 gram, vilket visar att infektion kan ske innan eller i samband med att ålen når den svenska kustzonen.

Ålherpesvirus kan orsaka allvarlig sjukdom och dödlighet hos ål (van Beurden et al, 2012). I fallen från Bolmen och Hjälmaren 2018 bedöms virusinfektionen ha bidragit till ålarnas död, då hög virusförekomst noterades vid analysen. Detta tyder på en aktiv infektion och därmed sjukdom. Ålherpesvirus kan ligga vilande under en lång tid innan det aktiveras av att ålen utsätts för stress (t ex höga vattentemperaturer). Detta innebär att till synes friska ålar kan vara bärare av viruset och sprida det vid vandring. Förflyttning av ål i syfte att stärka bestånd bedöms som en orsak till virusets spridning i Europa (Haenen et al, 2009; Kullmann et al., 2017). Ålherpesvirus är i dagsläget inte en anmälningspliktig sjukdom, vilket innebär att förflyttning av infekterad ål inte är förbjudet enligt gällande lagstiftning (FIFS 2011:13, under omarbetning). Ålherpes är potentiellt spridd i svenska vatten, men med tanke på de allvarliga konsekvenser infektionen kan ha på en redan sårbar ålpopulation rekommenderar vi försiktighet och helst provtagning i samband med att ål ska flyttas till ett nytt vattendrag.

SLUTSATS

Årets prover visar på en generellt frisk population, men förekomst av ålherpesvirus kan potentiellt ha allvarliga konsekvenser på populationen och bör tas i beaktande vid flytt av ål. Fortsatt övervakning behövs för att kartlägga hur spridd infektionen är i svenska vattendrag och hur hög förekomsten är i olika vatten. Fortsatt övervakning behövs också för att tidigt upptäcka introduktion av potentiellt allvarliga smittor i den sårbara populationen.

REFERENSER

Haenen, O., van Ginneken, V., Engelsma M.Y., Van den Thillart, G. (2009). Impact of Eel Viruses on Recruitment of European Eel. Sid 387-400 i: Spawning Migration of the European Eel. Reproduction index, a useful tool for conservation management, Editors: van den Thillart, Guido, Dufour, Sylvie, Rankin och J. Cliff. Springer förlag.

Kullmann, B., Adamek, M., Steinhagen, D., Thiel, R. (2017). Anthropogenic spreading of Anguillid herpesvirus 1 by stocking of infected farmed European eels, *Anguilla anguilla* (L.), in the Schlei fjord in northern Germany. *Journal of Fish diseases*. doi:10.1111/jfd.12637

Lönnqvist, J. (2011). Ålens försvinnande. Varför håller den europeiska ålen *Anguilla anguilla* på att dö ut? Självständigt arbete i biologi, 15 hp. Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet.

Van Beurden, S.J., Engelsma, M.Y., Roozenburg, I., Voorbergen-Laarman, M.A., Van Tulden, P. W., Kerkhoff, S., Haenen, O.L.M. (2012). Viral diseases of wild and farmed European eel *Anguilla anguilla* with particular reference to the Netherlands. *Diseases of Aquatic Organisms*, 101: 69–86.

Rapportportalen

Fem rapporter om ålar inkom under 2020. Två kom från Östersjön och rörde en levande ål med blomkålssjuka (godartad tumör i huvudregionen) och död ål där huvudet var borta. En rapport kom från Ätran och rörde vita prick på liten gulål, vilket även SVA identifierade i Ätran-ålen som undersöktes genom provtagning (se ovan). En mycket svag ål hittades i Havstensfjorden. Försök att fånga den för insändning misslyckades (ålen rapporterades i portalen efter initial telefonkontakt vid fyndet). Den femte ålen hittades död utan synliga skador i Himleån/Ätran.

Del 4.

Sötvattenslevande fisk

Övervakningen av sötvattenslevande fisk bedrivs tills vidare inte som en kontinuerlig övervakning av specifika arter utan i form av årsvis projekt. Under 2020 låg fokus på undersökningar av renibakterios (BKD) i vild laxfisk i inlandszonen. Dessutom har sex fall tagits in för undersökning på **Akutmedel** och rapporter av sötvattenslevande fisk i **Rapportportalen** under 2020 har sammanställts, se vidare under dessa rubriker i denna bilaga.

BKD-provtagningar

Avsnittet avseende BKD-provtagningar har redan delrapporterats den 2020-10-02, men inkluderas här för helhetens skull. Projektet genomfördes i samarbete med Länsstyrelserna i Jämtland och Västerbottens län.

SAMMANFATTNING

Provtagning avseende sjukdomen renibakterios/BKD genomfördes på vild laxfisk i fyra vattensystem (Umeälven, Ångermanälven, Faxälven och Ljungan) under sommaren 2020. I vattensystemen ligger odlingsanläggningar som har eller har haft BKD de senaste sju åren. Syftet var att undersöka risk för etablering av smitta i vildpopulationen till följd av en strategi med fördröjda saneringar. Resultaten visar att etablering av smitta i vildpopulationen sker och att sik och harr förefaller mycket mottagliga för smitta.

INTRODUKTION

BKD är en smittsam, kroniskt progressiv sjukdom hos laxfisk orsakad av den intracellulära bakterien *Renibacterium salmoninarum*. Sjukdomen förekommer i både söt- och saltvatten och i de flesta delar av världen där laxfisk odlas eller förekommer vilt. Smittan överförs direkt mellan fiskar både horisontellt (från fisk till fisk) och vertikalt (från hona till rom), via vatten, foder eller kontaminerade föremål. Vanligen tar det minst sex månader efter smittillfället innan tydliga symptom kan observeras. Under tiden kan smittspridning ske genom direktkontakt eller via utsöndring av bakterier i vattnet, vilket gör att smittan ofta är väl etablerad i en anläggning innan den upptäcks. Samtidigt blir fiskens immunförsvar försämrat och risken för sekundära infektioner ökar. Över tid bildas tuberkulosliknande granulom i fiskens inre organ och ibland kan även små sår och blåsor i hud och muskulatur (så kallad spawning rash) ses. Vid stress kan sjukdomen akutiseras och leda till utbrott med hög dödlighet. Av de laxfiskarter som finns naturligt i svenska vatten är röding och lax känsligast, där 80% dödlighet har observerats vid akuta utbrott i odling. Öringen är intermediärt känslig medan känsligheten hos harr och sik är dåligt undersökt. Regnbåge, som inte förekommer naturligt i svenska vatten men är den dominerande arten inom vattenbruket är mer motståndskraftig mot att utveckla tydlig klinisk sjukdom. En kontinuerlig låg dödlighet och något minskad tillväxt, vilket kan vara svårt att uppmärksamma, kan vara enda symptom. Samtidigt sprids bakterier kontinuerligt till omgivande vatten och mer känsliga arter.

I vattensystem där BKD-smitta konstaterats i kassodlingar och där det finns vilda populationer av röding, öring, harr och sik, finns risk för etablering av smittan i vilda bestånd och vidare spridning i vattensystemet. En bedömning av hur lätt smittan etablerar sig i den vilda fiskpopulationen är

nödvändig för att kunna göra riskbedömningar för återinfektion av sanerade odlingar, och för att bedöma risken för att andra odlingar i samma vattensystem smittas.

Sverige har för närvarande ett utrotningsprogram avseende BKD. Programmet innebär att Sverige ska motverka smittspridning genom obligatorisk provtagning av laxfiskanläggningar och att smittade anläggningar ska slaktas ut och saneras. Provtagningsintervallen bestäms utifrån Jordbruksverkets riskkategorisering. Alla vilda lax- och öringhonor samt en del sik och harr som tas in för avel inom kompensationsodlingen provtas också efter romstrykning för att säkerställa att avkomman inte smittats med BKD. Sanering av infekterade matfiskanläggningar fördröjs ofta i flera år för att fisken ska tillåtas uppnå slaktstorlek. Denna strategi riskerar att sprida smittan till vild fisk, då vild fisk blir exponerad för smitta från infekterad kassodlad fisk. Det innebär också en hög risk för återintroduktion av smittan när ny fisk sätts in i anläggningen, vilket skapar en ond cirkel och permanentar smittan i vattenområdet.

Sedan 2013 har det skett en ökning i antal påvisade fall av BKD, men det rör sig i de flesta fall om smitta på flera anläggningar inom samma vattenbruksföretag och återinfektion efter sanering och nyintroduktion av fisk. Merparten av påvisade fall finns inom tre vattensystem: Ljungan, Umeälven och Ångermanälven inklusive Faxälven.

Syfte

Vi har tidigare bekräftat att BKD kan påvisas i vildfisk i vattenområden med BKD-smittade anläggningar (SVA, 2016). Syftet med detta projekt var att göra en mer omfattande undersökning av vildfisk i några vattensystem där BKD konstaterats i odling 2013 – 2019 för att bedöma risken för etablering i vildfiskpopulationer och spridning i vattensystemen till följd av fördröjd sanering av anläggningar.

MATERIAL OCH METODER

Provinsamling

Provtagning för BKD bör ske vid vattentemperaturer på 7 – 15°C, det temperaturspann där bakterien är mest aktiv och man därför har störst chans att påvisa smitta. På hösten ska vattentemperaturen ha legat stabilt under 15°C i minst två veckor innan provtagning och i den perioden genomförs den stora massan av BKD-provtagningar inom den offentliga kontrollen. För att hinna med diagnostik, bearbetning och rapportering avseende vildfisken planerades provinsamling till slutet av maj-mitten av juni och analyser till andra halvan av juni.

Provtagningspunkter

Provtagningarna fokuserades till de vattensystem där smitta påvisats i flest anläggningar och risken för permanent smitta bedömdes som hög, nämligen Ljungan, Umeälven och Ångermanälven inklusive Faxälven. Faxälven och Ångermanälven räknades som separata vattensystem då anläggningar med påvisad BKD-smitta i de två älvarna finns uppströms sammanflödet strax uppströms Sollefteå. Länsstyrelsen i Jämtland (Faxälven och Ljungan) respektive Västerbotten (Ångermanälven och Umeälven) ombads utse tio provtagningspunkter per vattensystem, där en provtagningspunkt skulle räknas som helt opåverkad (ingen utplanteringsverksamhet, ingen möjlighet för fisk att förflytta sig från potentiellt smittade vattenområden till provtagningspunkten). Resterande nio provtagningspunkter fördelades uppströms och nedströms anläggningar som klassas som BKD-infekterade eller som har sanerats avseende BKD de senaste sju åren. Fördelning av planerade provtagningspunkter i respektive vattensystem kan ses i **Bild SF1**.

Fisk

Från varje provtagningspunkt skulle 30 fiskar av arterna röding, öring, sik eller harr samlas in, vilket innebär 300 fiskar per vattensystem och 1200 fiskar totalt. Av logistiska skäl beslutades det att max två fiskar per punkt skulle genomföras oavsett om man därigenom uppnådde 30 fiskar eller inte. Vattentemperaturen mättes på en meters djup i samband med fisket, och de laxfiskarter som finns i respektive vattenområde (den vattenmassa där fisken kan röra sig fritt, dvs det finns inga vandringshinder) noterades.

Direkt efter fångst frystes fisken för att möjliggöra färre och större inskick till SVA. Fryst fisk håller dessutom bättre under transport eftersom förruttelse undviks och avseende BKD-diagnostik finns inga nackdelar med att fisken fryses innan analys.

Vatten och sediment (eDNA)

eDNA har blivit ett populärt sätt att påvisa närvaro av arter och smittämnen i olika vattenområden. Samtidigt som fisket genomfördes samlades därför 2 x 5 L vatten in från provtagningspunkterna för att utvärdera om eDNA-metodik kan användas för att påvisa BKD-bakterier i vatten. Om enbart ett fiske behövde genomföras skulle båda dunkarna fyllas samtidigt, och om två fiskar behövde genomföras skulle en vattendunk fyllas vid första fisket och en dunk vid andra.

Bottensediment samlades in i två omgångar under en kassodling som haft BKD-infekterad regnbåge i anläggningen fram till någon vecka innan första provinsamlingen. Den första provtagningen gjordes på fem punkter i anläggningen samt en bit uppströms (referenspunkt). Uppföljande provtagning gjordes i en punkt i anläggningen samt referenspunkten.

Provtagningarna gjordes för att se om eDNA från BKD-bakterier kan påvisas i sedimentet under en infekterad odling.

Liksom fisken frystes vattendunkar och sedimentprover direkt efter provtagning för att möjliggöra senare transport och analys.

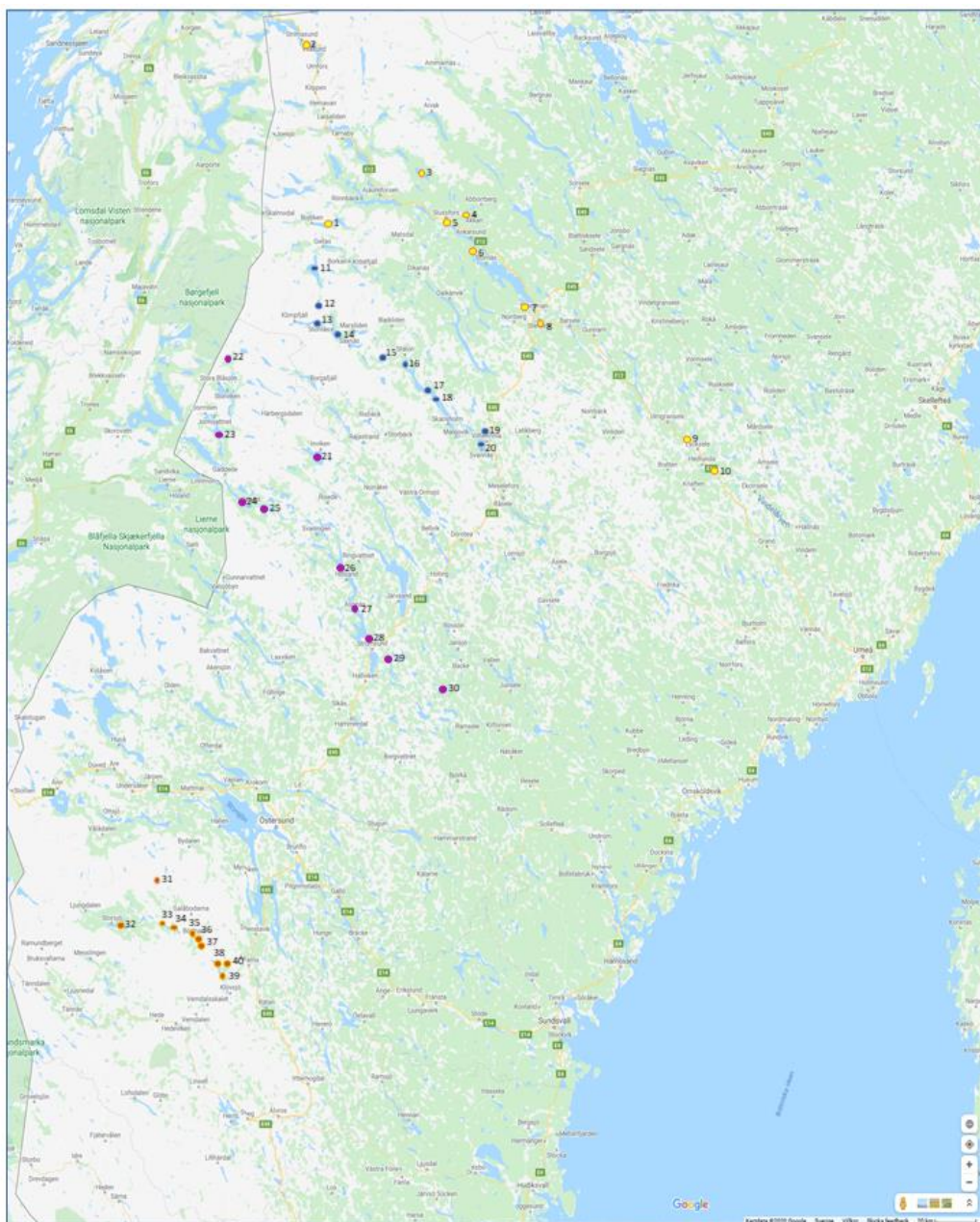


Bild SF1. Provtagningspunkter (fisk och vatten för eDNA-analys) avseende BKD i vildfisk 2020 (gult/1-10 = Umeälven, blått/11-20 = Ångermanälven, lila/21-30 = Faxälven och orange/31-40=Ljungan). Punkten med lägst nummer per vattensystem representerar den opåverkade lokalen. Provtagningspunkterna finns listade med namn i **Bilaga SF, Tabell SF1** och **Tabell SF2**. Kartunderlag från Google maps.

Provuttag

Fisk

Från Jämtland skickades fisk till SVA för provuttag. Fisken i Västerbotten provtogs av SVA-personal på SLU i Umeå och uttagna prover skickades ner till SVA för analys.

Cirka 1 g njurvävnad togs från varje fisk, i första hand vävnad som uppvisade sjukliga förändringar. Därefter togs ett svabbprov genom att en steril bomullstops drogs genom hela den resterande delen av njuren.

Art och eventuella sjukliga förändringar i fisken noterades i en journal. Längd noterades som min-max eller ett snittvärde på alla fiskar av samma art från provtagningspunkten. Data avseende vattensystem, provtagningspunkt, fiskedatum samt vattentemperatur fördes också in i journalen.

Vatten och sediment (eDNA)

Vatten filtrerades med hjälp av en peristaltisk pump, där vattnet passerar ett filter som fångar upp partiklar inklusive eDNA. Mängd filtrerat vatten och filtreringstid noterades i en logg. Filtren frystes därefter i väntan på analys. Länsstyrelsen i Jämtland filtrerade sitt vatten själva, medan insamlat vatten från Västerbotten filtrerades på SLU i Umeå eller på SVA.

Eftersom mängden sediment/prov var relativt stor (ca 1 kg) och enbart en liten mängd kan analyseras togs ett antal delprover ut för att öka analyskänsligheten.

Laboratorieanalyser

Fisk

SVA:s rutindiagnostik avseende BKD inkluderar två analysmetoder. Primärt utförs en polyklonal BKD-ELISA (Jansson et al., 1996) på njurvävnad. Metoden går ut på att påvisa ett renibakterie-specifikt protein, som binder till antikroppar i analysmediet. Analysresultaten (absorbansvärden) avläses på en kontinuerlig skala med tre decimaler, där ett absolut värde (0.100) används som nedre gräns för vad som anses positivt.

Från fiskar som blir positiva i ELISA analyseras en njursvabb för påvisande av renibakterie-DNA med hjälp av realtids-PCR (Jansson et al., 2008). Om även PCR-resultatet är positivt anses provet vara positivt för BKD. Vid negativt PCR-resultat utförs en ny ELISA med en annan antikropp för att verifiera att BKD-protein påvisats. Om även den sekundära ELISA:n ger utslag för BKD blir provets slutliga status ”misstänkt positiv”, annars anses provet som negativt.

Vatten och sediment (eDNA)

Miljöproverna analyserades med realtids-PCR (Jansson et al., 2008). Här användes dessutom en kontroll för att säkerställa att eDNA isolerats från filter och sediment. Detta gjordes med en realtids-PCR för öring-DNA (Gustavson et al., 2015). Öring-PCR:en sattes upp och utvärderades innan provtagningarna. Det visade sig att PCR:en i viss grad även detekterar lax och röding. Däremot detekterar den inte regnbåge, sik, eller harr. Även gädda och abborre testades i egenskap av ”icke laxfiskar” med negativt resultat. Eftersom sedimentproverna härrörde från en regnbågsodling skickades ett urval av delprover till Naturhistoriska riksmuseet, som har en realtids-PCR avseende regnbågs-DNA (Thomsen et al., 2012; Wilcox et al., 2015; Rusch et al., 2018).

Databearbetning

Efter genomförda laboratorieanalyser extraherades all data avseende fisk och vattenprover från journalsystemet och överfördes till statistikprogrammet R för deskriptiv statistisk bearbetning. Sedimentproverna har inte inkluderats i den statistiska bearbetningen.

RESULTAT

Provinsamling

Fisken genomfördes 9/6 - 12/8 i Västerbotten och 16/5 - 12/8 i Jämtland. I Västerbotten fiskades alla förutbestämda provtagningspunkter, men i en provtagningspunkt resulterade fisket enbart i fångst av gädda, abborre och lake (Gardsjön, Umeälvens vattensystem). I Jämtland fiskades 19 av 20 förutbestämda provtagningspunkter, då temperaturen i en sjö (Vängelsjön, Faxälvens vattensystem) hann bli stadigt över 15°C och inte sjönk under gränsen igen innan tidsperioden för provinsamling var slut. I några andra punkter genomfördes fiske trots att temperaturen passerat 15°C. Uppmätta vattentemperaturer vid provinsamling varierade mellan 6 och 18.5°C. Alla fisken resulterade inte i 30 fiskar, utan resultatet varierade mellan 9 - 32 fiskar. Data avseende provtagningspunkterna finns i **Bilaga SF, Tabell SF1** (Västerbotten) och **Tabell SF2**, (Jämtland).

Vatten samlades in från alla provtagningspunkter, men i några provtagningspunkter togs av misstag enbart 5 L (en dunk) vatten och i en provtagningspunkt togs 20 L (fyra dunkar) vatten.

Den 8/7 togs sex sedimentprover á ca 1 kg under en fiskodling. Bottentemperaturen var 6.5°C. Tre prover togs i odlingsläge där infekterad regnbåge vistats till ca en vecka innan provtagning, två prover togs i odlingsläge där det gått några månader sedan infekterad fisk vistats samt ett prov togs i en referenspunkt strax uppströms anläggningen. Den 2/10 togs uppföljande sedimentprover á ca 1 kg i en av de tidigare provtagningspunkterna i odlingsläget samt i referenspunkten. Ingen fisk hade vistats i odlingsläget mellan provtagningarna. Uppgift om bottentemperatur vid den andra provtagningen saknas.

Provuttag

Fisk

Maximalt provtogs 30 fiskar per lokal. Vid överskott valdes i första hand mycket liten fisk bort, i övrigt plockades fisk slumpmässigt tills 30 individer provtagits. Totalt provtogs 1059 fiskar. Ingen fisk uppvisade några uppenbara symptom på BKD men flera olika förändringar som kan uppträda vid infektionen noterades. Dessa var lindrig svullnad i bakre delen av njuren, multipla små vita prickar (misstänkta granulom) i njuren samt granulom i andra organ (lever, hjärta (**Bild SF2**)). Antalet fiskar med potentiella BKD-symptom redovisas i **Bilaga SF, Tabell SF4** (Västerbotten) och **Tabell SF5** (Jämtland). Simblåsemask (**Bild SF2**) förekom frekvent i fisk från några sjöar, t.ex Fågelsjön i Faxälvens vattensystem. Cystformade fettklumpar runt magsäcken förekom frekvent i sik från alla vattensystem och även en del hos övriga arter. Några fiskar hade förkalkade urinledare (nefrokalinos (**Bild SF2**)), och en fisk hade en stor urinsten (urolithiasis) vilket är icke-infektiösa tillstånd. De rödingar som inkom från Malgomaj var väldigt ljusa i färgen och smala medan röding från övriga vattenområden var välnärda och hade normal färgteckning (**Bild SF2**). Inga sjukdomstecken noterades på rödingarna från Malgomaj.



Bild SF2. Övre raden från vänster till höger: sik med multipla parasitgranulom i hjärtat, öring med multipla, potentiella BKD- granulom i njuren. Mellersta raden från vänster till höger: sik med simblåsemask, röding med nefrokalcinosis. Undre raden från vänster till höger: röding från Malgomaj och röding från Överuman.

Vatten och sediment (eDNA)

Från den provtagningspunkt där fyra dunkar vatten samlats in filtrerades vatten från två dunkar, i övrigt filtrerades vattnet från alla dunkar från alla provtagningsplatser. Beroende på mängden partiklar i vattnet varierade filtreringstiden (ca 20 - 120 min) och mängden vatten som kunde filtreras (ca 3 - 5 L) innan filtret täppte igen.

De sex sedimentproverna från första omgången luktade och såg ut som rester av foder och avföring. I de två uppföljningsproverna fanns ingen lukt och texturen var som sandbotten. Från vardera av de åtta sedimentproverna togs 8 delprover á 0.25 g ut, vilket genererade totalt 64 delprover.

Analys

Fisk

En fisk var för liten (8 g) för att få tillräckligt med material för ELISA. En njursvabb från denna fisk har därför analyserats med PCR utan föreliggande ELISA-resultat. Av resterande 1058 fiskar var 52 st (4.9%) positiva för BKD med ELISA. Fyra fiskar var precis positiva (0.1-0.11) medan resterande 46 var tydligt positiva (>0.11) och åtta till och med hade mycket höga absorptionsvärden (0.6-1.2). Utöver de 52 fiskar som var ELISA-positiva hade 17 fiskar förhöjda värden (0.06 – 0.099) i analysen (dvs. inte positiva men inte heller tydligt negativa). Antal och andel ELISA-positiva fiskar per art och vattensystem finns i **Tabell SF3**. Geografisk fördelning av alla analysresultaten finns i **Bild SF3**. Resultat specificerade per provtagningspunkt och art finns i **Bilaga SF, Tabell SF4** (Västerbotten) och **Tabell SF5** (Jämtland). Av de 52 ELISA-positiva fiskarna kom majoriteten (n = 50) från Ljungans vattensystem och bestod framför allt av sik (**Tabell SF3**). Förekomsten av positiva prover var högst i de två fiskeplatser som ligger närmast nedströms fiskodlingen i Börtnessjön (**Bilaga SF, Tabell SF5**). ELISA-positiva prover kom från fisk som fångats i temperaturintervallet 10.4–15.0°C (**Figur SF1**). Enbart en av de 52 ELISA-positiva fiskarna var positiv i PCR. Uppföljande ELISA konfirmerade resultaten från den primära ELISA:n. Detta innebär att inga ospecifika reaktioner har skett och av 52 ELISA-positiva prover räknas 51 prover som misstänkt positiva och 1 prov är verifierat positivt genom PCR.

Tabell SF3. Provtagning avseende BKD i vildfisk 2020. Jämförelse mellan antalet analyserade fiskar och positiva ELISA-analyser uppdelat på art och vattensystem.

Vattensystem	Röding		Öring		Harr		Sik		Totalt	
	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)
Umeälven	20	0 (0.0%)	71	0 (0.0%)	3	0 (0.0%)	163	0 (0.0%)	257	0 (0.0%)
Ångermanälven	79	1 (1.3%)	70	0 (0.0%)	10	0 (0.0%)	93	0 (0.0%)	252	1 (0.4%)
Faxälven	26	0 (0.0%)	69	1 (1.4%)	51	0 (0.0%)	109	0 (0.0%)	255	1 (0.4%)
Ljungan	19	0 (0.0%)	26	1 (3.8%)	13	6 (46.2%)	236	43 (18.2%)	294	50 (17.0%)
Totalt	144	1 (0.7%)	236	2 (0.8%)	77	6 (7.8%)	601	43 (7.2%)	1058	52 (4.9%)

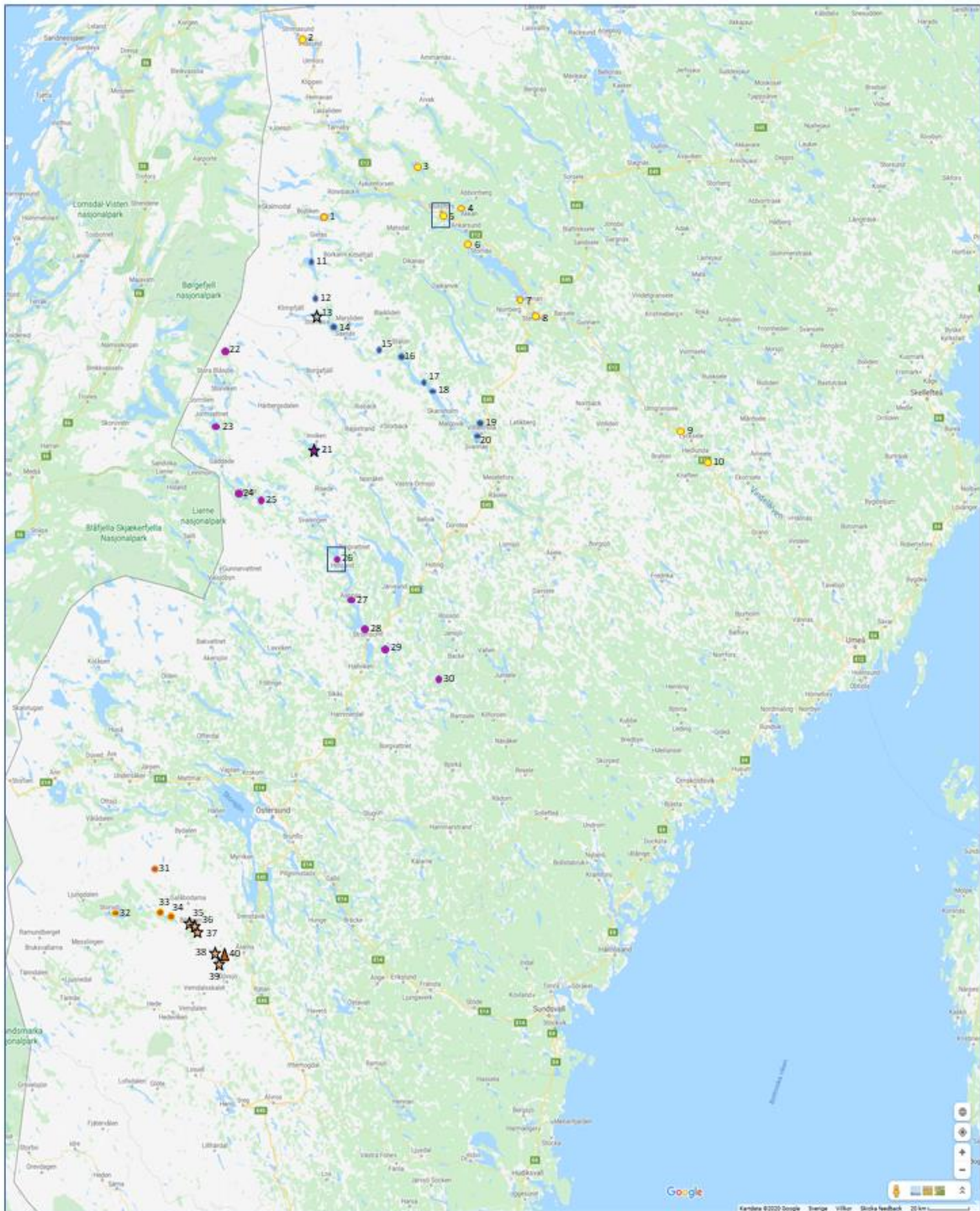
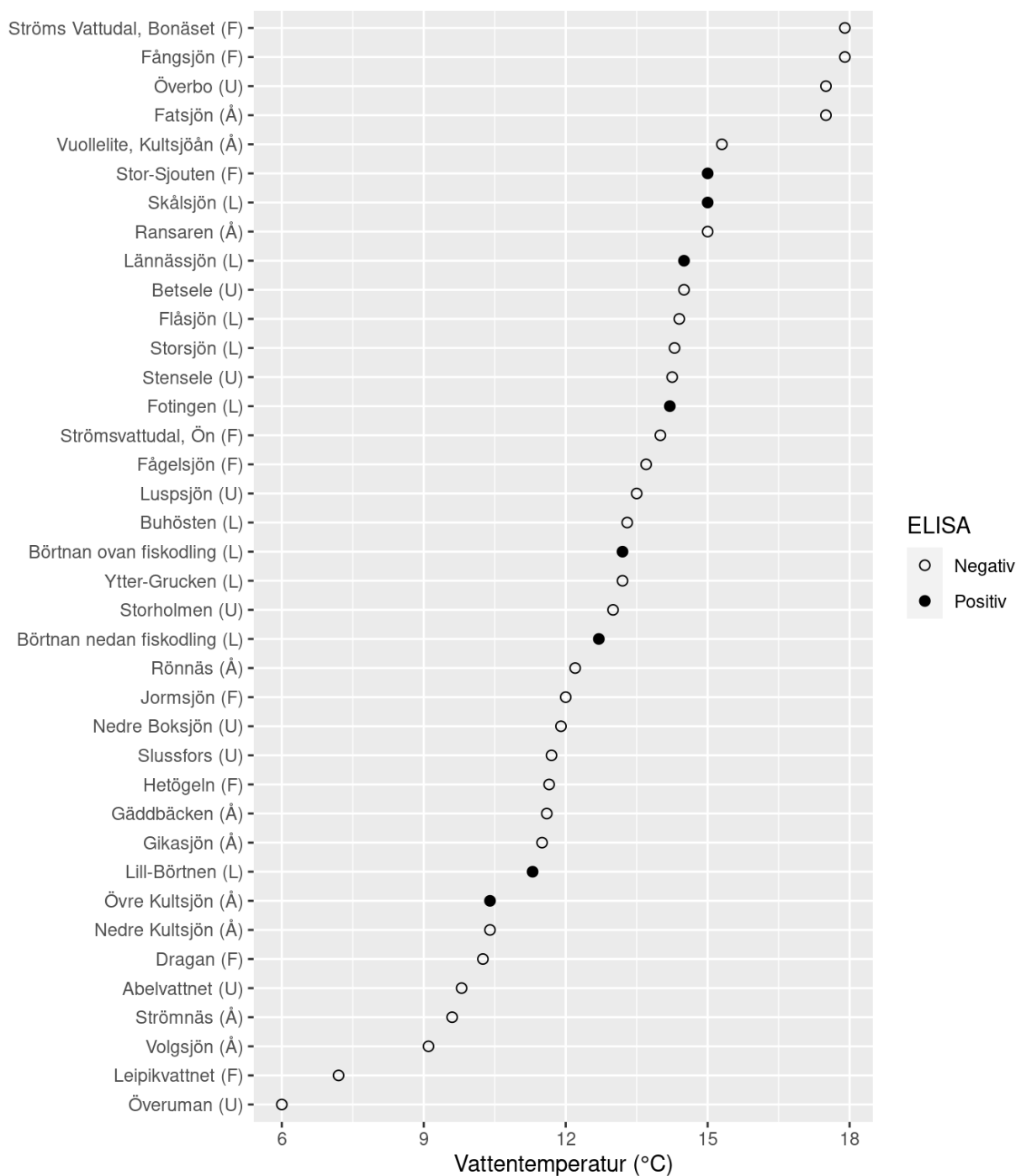


Bild SF3. Provtagningspunkter med analysresultat avseende BKD i fisk respektive vatten (eDNA). Rund punkt = all fisk negativ i ELISA, stjärna = ≥ 1 fisk positiv i ELISA, triangel = ≥ 1 fisk positiv i ELISA och PCR, inramad cirkel = PCR-positivt vattenprov. 1-10 = Umeälven, 11-20 = Ångermanälven, 21-30 = Faxälven och 31-40 = Ljungan. Specifik analysinformation per provtagningspunkt finns **Bilaga 2**, **Tabell SF4** och **Tabell SF5**. Kartunderlag från Google maps.



Figur SF1. Fördelning av vattentemperatur i de olika provtagningspunkterna samt ELISA-resultat (alla fiskar negativa eller minst en fisk positiv). Det vattensystem varje provtagningspunkt tillhör är indikerat med (U): Umeälven, (Å): Ångermanälven, (F): Faxälven eller (L): Ljungan.

Vatten och sediment (eDNA)

I vattenprover från 2 av 38 provtagningspunkter (Dragan, Faxälven respektive Slussfors, Umeälven) påvisades renibakterie-DNA, medan öring-DNA påvisades från 34 av 38 provtagningspunkter. Öring skulle enligt uppgift finnas i alla provtagningsområden. Data avseende eDNA-analysen samt huruvida öring och/eller röding fanns i den fångst som bärgades i samband

med att vattenproverna togs finns i **Bilaga 3, Tabell SF6**. De två provtagningspunkter (nr 4 och nr 30) som inga analyser genomförts för har utelutits ur tabellen av utrymmesskäl.

Från sedimentproverna påvisades renibakterie-DNA i fyra av sex prover från provtagningsomgången i juli (**Tabell SF7**). Två av tre prover (O1-O3) som tagits i odlingsläge som nyligen innehållit BKD-infekterad fisk var positiva, där alla delprover var positiva i en provtagningspunkt (O3). Båda prover (O4, O5) som tagits i odlingsläge där BKD-infekterad fisk förvarats för flera månader sedan var positiva i vardera ett delprov medan referensprovet (O6) var negativt i alla delprover. Alla delproverna från provtagningsomgången i oktober var negativa avseende renibakterie-DNA. Öring-DNA påvisades i två av 64 delprover. Av de 48 delproverna från första provtagningen skickades 12 st till Naturhistoriska riksmuseet. Regnbåge-DNA påvisades i alla 10 prover från odlingsläget, varav fem även var positiva för renibakterie-DNA medan de två proverna från kontrollpunkten var negativa både för renibakterie-DNA och för regnbåge-DNA.

Tabell SF7. Provresultat avseende eDNA i sedimentprover. Siffrorna anger antalet delprover per provtagningspunkt där eDNA påvisades respektive inte påvisades.

Provtagningsomgång		Juli						Oktober	
		O1	O2	O3	O4	O5	O6	O3	O6
Parameter (eDNA)									
Renibakterie-DNA	Påvisat	2	0	8	1	1	0	0	0
	Ej påvisat	6	8	0	7	7	8	8	8
Öring-DNA	Påvisat	1	0	0	1	0	0	0	0
	Ej påvisat	7	8	8	7	8	8	8	8
Regnbåge-DNA	Påvisat	2	2	2	2	2	0	-	-
	Ej påvisat	0	0	0	0	0	2	-	-

DISKUSSION

Studien visar att BKD kan få en omfattande spridning i vildfisk i vattenområden där kass-odling är eller har varit infekterad med sjukdomen. Resultaten är dock förvånande ur flera aspekter, vilka diskuteras nedan. Det planerade antalet fiskar kunde inte provtas. Vi saknar helt data från två provtagningspunkter och från tre provtagningspunkter hade det varit önskvärt med mer fisk men totalt sett är ändå provstorleken fullgod. Med den här provtagningen har vi fått en ögonblicksbild av infektionens utbredning, men hur förändras bilden över tiden? Eftersom vattensystemen möjliggör förflyttning av infekterade fiskar och smittämnen är det rimligt att det finns en dynamik i spridningen av BKD.

Många fiskar var positiva i ELISA men endast en var positiv i PCR

Påvisande av BKD i en fiskodling leder till spärr och sanering av infekterad anläggning. Användandet av två kompletterande analysmetoder blir därför viktig för att säkerställa att aktiv smitta finns i anläggningen innan spärr upprättas. Det kan finnas flera anledningar till att resultaten med de två analysmetoderna inte stämmer överens.

En sekundär ELISA visade att proverna i denna studie var sant positiva för renibakterie-protein, varför vi känner oss trygga med att säga att BKD-infektion finns i vildfiskpopulationen även om vi inte kunnat verifiera aktiv infektion utom hos en fisk.

Proteinet som detekteras med ELISA är vattenlösligt och kan sprida sig i hela njuren, dvs inte enbart där själva infektionshärden finns, medan påvisande av DNA (PCR) kräver att man får med bakterier i provet. Om svabben inte dragits genom hela njuren utan bara tagits i en punkt kan det alltså ge ett falskt negativt resultat. SVA svabbar alltid längs hela njuren, men i ca 20% av fiskarna fanns i princip ingen njure kvar efter att material för ELISA-analys tagits ut, varför det kan ha varit svårt att få med bakterier på svabben. Detta kan dock inte förklara att 51 av 52 prover blev negativa i PCR.

Prover som ligger på gränsen för vad som anses ELISA-positivt (0.1) är ofta negativa i PCR. Detta beror sannolikt på en relativt inaktiv infektion (indikerat av en låg proteinproduktion). Få bakterier gör det svårare att fånga upp dem med svabben eller bakterierna är döda medan proteiner finns kvar under en tid. I denna studie var det enda PCR-positiva provet precis ELISA-positivt, och totalt var endast 8 prover svagt positiva, varför inte heller detta kan förklara resultaten.

En möjlighet är att sik och harr är relativt infektionskänsliga men inte utvecklar sjukdom, att infektionen läkt av under vinterhalvåret men att bakterie-protein fortfarande kvarstår i njuren.

Vattentemperaturens inverkan på analysresultaten

Alla fiskar som var ELISA-positiva var provtagna inom det optimala temperaturintervallet 7 - 15°C (**Figur SF1**). Detta borde garantera aktiva bakterier (förökning) och öka chansen för att påvisa infektion även med PCR. I en provtagningspunkt skedde fiske vid 6°C, dvs. precis under renibakteriens optimala temperaturintervall. Detta skulle potentiellt kunna leda till att en infekterad fisk blir negativ i ELISA - om infektionen varit låggradig redan innan den kalla perioden och bakterierna inte hunnit komma igång finns inte tillräckligt med protein för att ge positivt utslag i ELISA:n. Några dagar till en vecka över optimalt temperaturintervall kan göra att bakterierna hinner inaktiveras, men åtminstone ELISA borde i dessa fall fortfarande bli positiv om infektion förelåg vid fångst.

Sik och harr var i högre grad ELISA-positiva än röding och öring

Röding och Atlantlax är de arter som förekommer naturligt i Sverige som anses mest känsliga för BKD, medan öringen anses intermediärt känslig och det finns begränsad kunskap om infektionen hos harr och sik. Endast 3 av 52 ELISA-positiva fiskar var röding eller öring, vilket skulle kunna tolkas som att sik och harr är mycket mer mottagliga än röding och öring. De flesta fiskarna med BKD-liknande symptom kom från Börtnessjön och Lill-Börtnen, vilket också var de provtagningspunkter där flest ELISA-positiva fiskar fångades. Symptomen var dock inte grava (exempelvis sågs inga tydligt svullna njurar) och granulom kan orsakas av annat än BKD, något som kan indikera att sik och harr i likhet med regnbåge är infektionskänsliga men relativt resistent mot att utveckla sjukdom. En ytterligare faktor som skulle kunna tala för detta är avsaknaden av PCR-positiva resultat (se föregående diskussionspunkt) vilket kan indikera en infektion under avläkning. Hög infektionskänslighet med samtidig sjukdomsresistens skulle kunna bidra till smittspridning och permanentande av smitta i vattendragen. Om röding och öring i högre grad utvecklar sjukdom och dör skulle det kunna vara en rimlig förklaring till att man inte hittar infekterad röding och öring i provtagningspunkter där man förväntar sig att kunna hitta smitta. Om populationerna var så kraftigt påverkade borde det dock finnas larmrapporter om sjuk fisk och minskade bestånd.

Nästan alla ELISA-positiva hittades i Ljungan

Det var en viss skillnad i artfördelning mellan vattensystemen, där Ljungan hade störst andel sik (80% jämfört med 37 – 63% i övriga vattensystem). Detta känns dock inte som en rimlig förklaring, eftersom sik utgjorde minst hälften av fångsten i alla vattenområden där arten finns. Trots att provtagning skett nära infekterade eller relativt nyligen infekterade anläggningar i alla fyra vattensystem var det enbart i Ljungan fiskar från dessa provtagningspunkter var ELISA-positiva. Fisk i odling går tätt, vilket gör att ett högt smittryck kan byggas upp inom respektive infekterad kasse. Dessutom kommer smittrycket att överföras till omgivande vatten vilket kan sprida infektionen vidare till vildfisk som uppehåller sig runt kassarna. Beroende på hur smittrycket späds ut i vattenvolymen och hur vattenutbytet sker med andra delar av vattensystemet, liksom benägenheten hos vildfisk att förflytta sig i vattensystemet kommer utbredningen av infektionen att påverkas. Börtnessjön och nedströms provtagna ELISA-positiva punkter (Lill-Börtnen, Fotingen, Länsässjön och Skålsjön) är volymmässigt mycket mindre än Storuman, Malgomaj och Ströms Vattudal. Detta innebär, obeaktat huruvida det finns tätare fiskbestånd i någon av sjöarna, att samma mängd utsöndrade renibakterier från ett BKD-infekterat odlingsläge ger en högre indirekt smittöverföring i Ljungan. I Börtnessjön är fisken provtagen i mycket nära anslutning till tidigare infekterad anläggning, vilket kan indikera att den direkta smittöverföringen varit hög. Det är möjligt att även provtagning närmare övriga odlingslägen skulle generera BKD-positiva prover.

Enstaka ELISA-positiva fiskar hittades i uppströms provtagningspunkter

När det gäller fisken från Övre Kultsjön finns vattenväg ner till Malgomaj. I Kultsjöån finns dock Dimforsen, som bedöms vara ett vandringshinder för migration uppströms från Malgomaj. Uppströms Dimforsen finns sjöarna Vuolelite, Gaskalite och Bijelite. Här har fisk planterats ut, och Länsstyrelsen bedömer att forsarna mellan Bijelite och Kultsjön eventuellt kan tillåta migration. Om BKD-infekterad fisk av misstag (okänd smittstatus) planterats ut i sjöarna skulle därför smitta potentiellt kunna ha flyttats uppströms till Kultsjön. Odlings-anläggning har tidigare funnits i Kultsjön, men denna lades ner 2004 efter flera års träda och SVA hittar inga uppgifter om att vi påvisat BKD i den odlingen. Smittvägen går dock inte att utesluta helt.

Stor-Sjouten valdes som referenslokal för Faxälven då sjön inte har öppen vandringsväg till det systemet och det inte har skett utsättning av fisk. Trots detta hittades en ELISA-positiv fisk i sjön. Vattenskotrar och båtar flyttas mellan Ströms Vattudal och Stor-Sjouten, vilket skulle kunna tänkas vara en smittväg om dessa legat i vattnet nära smittat odlingsläge. Denna smittväg misstänks vara orsak till introduktion av BKD i Kvarnbergsvattnet, som provtogs av SVA 2015 inom ett annat projekt (SVA, 2016).

eDNA-metodiken behöver utvecklas om den ska kunna utvärderas fullt ut

Både vatten- och sedimentprovtagning gjordes för att utvärdera metodiken. Endast två vattenprover var positiva för renibakterie-DNA och det fanns ingen korrelation punkter där många fiskprover var ELISA-positiva. Båda provtagningspunkterna låg strax nedströms odlingslägen, och möjligen skulle resultaten kunna spegla pågående BKD-infektion i dessa. Den öring-PCR som användes kunde inte påvisa eDNA i alla delprover trots att öring finns i alla provtagna vattenområden. Resultatet var inte heller direkt korrelerat till huruvida öring (eller röding, som PCR:en också detekterar DNA från) fanns med i fångsten i samband med att vattenprovet togs. Utspädningseffekter vara en orsak till negativa resultat, dvs stora vattenvolymer som konstant är i rörelse gör att bakterier och fisk-DNA sprids ut. Beståndstäthet och mängden infekterad fisk påverkar mängden utsöndrat DNA/bakterier och det faktum att fisk kan uppehålla sig varsomhelst i vattenpelaren påverkar förekomsten av fisk-DNA och eventuella utsöndrade bakterier i olika

skikt. Dessutom har fritt DNA och bakterier en benägenhet att adherera till partiklar och sedimentera. Detta kan innebära att ytvatten är undermåligt som provmaterial och vill man använda vatten bör andra provtagningsstrategier utarbetas för att utvärdera om smittan hittas lättare i andra delar av vattenpelaren.

Bakterierna/delar av bakterier hamnar uppenbarligen i sedimentet, vilket innebär att detta kan vara ett intressant provtagningsmaterial. Det är dock uppenbart att ett antal delprover behövs för att fånga upp bakterier i ett sedimentprov och metodiken behöver optimeras. Det är också oklart hur tillförlitlig metodiken skulle vara för bottensediment som inte är i direkt anslutning till ett odlingsläge. Det är okänt hur länge renibakterier överlever i sediment och en PCR kan inte avgöra om påvisat DNA kommer från levande eller döda bakterier. Därmed kan inte eDNA användas för att bedöma ett eventuellt smittryck från sedimentet. Att regnbåge-DNA kunnat påvisas visar att fisk-DNA, fritt eller bundet till faeces/vävnad under nedbrytning också kan detekteras i sedimentproverna. Att alla fem BKD-positiva prover som testades för regnbåge var positiva även för regnbåge-DNA innebär att renibakterie-DNA:t kan komma från fiskvävnad under nedbrytning istället för från levande bakterier. Det finns ett stort värde i att kunna visa om positiva resultat för förekomst av renibakterie-DNA kan konfirmeras med odling för att visa om det finns levande och infektiösa bakterier, och i så fall hur länge bakterierna förblir levande, i denna typ av provmaterial. SVA har metodik för odling av renibakterier men har inte gått vidare med sådan undersökning i detta fall, då proverna varit frusna vilket försvårar isolering av levande bakterier. Dessutom torde inte renibakterier vara de enda bakterier som hamnar i sedimentet, vilket skapar en blandflora. Renibakterier är långsamväxande, det kan krävas odling i 6 - 12 veckor innan man ser resultat. Detta vilket innebär en hög risk för att mer snabbväxande bakterier från en blandflora tar över och förhindrar upptäckt av renibakterier. En metod för rening av sedimentet för att separera ut eventuella renibakterier behöver därför utvecklas om odling ska utföras.

SLUTSATS

SVA:s rutindiagnostik fungerar bra som metodik för påvisande av BKD i vildfisk, medan eDNA-metodiken kräver utveckling. Infektionen sprider sig till vilda fiskbestånd och fördröjd sanering av infekterade anläggningar innebär därmed en hög risk för smittöverföring till vild fisk. Ytterligare faktorer påverkar smittspridningen inom vattensystemen och upprepade provtagningar behövs för att följa infektionsdynamiken.

REFERENSER

- Gustavson, M.S., Collins, P.C., Finarelli, J.A., Egan, D., Conchúir, R.Ó., Wightman, G.D., King, J.J., Gauthier, D.T., Whelan, K., Carlsson, J.E.L., Carlsson, J. (2015). An eDNA assay for Irish *Petromyzon marinus* and *Salmo trutta* and field validation in running water. *Journal of Fish Biology* 87: 1254–1262
- Jansson, E., Hongslo, T., Höglund, J., Ljungberg, O. (1996). Comparative evaluation of bacterial culture and two ELISA techniques for the detection of *Renibacterium salmoninarum* antigens in salmonid kidney tissues. *Diseases of aquatic organisms* 27: 197-206.
- Jansson, E., Lindberg, L., Säker, E., Aspán, A. (2008). Diagnosis of bacterial kidney disease by detection of *Renibacterium salmoninarum* by real-time PCR. *Journal of Fish Diseases* 31(10): 755-63
- Rusch, J.C., Hansen, H., Strand, D.A., Markussen, T., Hytterød, S., Vrålstad, T. (2018). Catching the fish with the worm: a case study on eDNA detection of the monogenean parasite *Gyrodactylus salaris* and two of its hosts, Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Parasites & Vectors*, 11(1): 333
- SVA (2016). Överföring av BKD-smitta mellan odlade och vilda bestånd i ett vattenområde. Slutrapport till Jordbruksverket inom anslag 1:6 ”Bekämpande av smittsamma husdjursjukdomar 2015”. <https://kxs-sva.s1.umbraco.io/media/yeljpw31/jv-bkd-slutrapport.pdf>
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M.T.P., Orlando, L., Willerslev, E. (2012). Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA, *Molecular Ecology* 21(11): 2565–73
- Wilcox, T. M., Carim, K.J., McKelvey, K.S., Young, M. K., Schwartz, M.K. (2015). The dual challenges of generality and specificity when developing environmental DNA markers for species and subspecies of *Oncorhynchus*, *PLoS ONE* 10(11): e0142008

BILAGA SF – TABELL SF1, SF2 SAMT SF4-SF6

Tabell SF1. Data avseende provinsamling i Västerbottens län.

Vatten-system	Provtagningspunkt	Laxfisk i vattenområdet	Antal fiskar ¹	Datum för fiske	Vattentemp °C
Umeälven					
1	Abelvattnet	öring	30	21/7	9.8
2	Överuman	röding, öring	30	30/6, 1/7	6.0, 6.0
3	Nedre Boksjön	röding, öring	30	2/7	11.9
4	Gardsjön	röding, öring	Ingen laxfisk i näten		
5	Slussfors	röding, öring, harr, sik	30	26/6	11.7
6	Storholmen	röding, öring, harr, sik	30	25/6	13.0
7	Luspsjön	röding, öring, harr, sik	30	23/6	13.5
8	Stensele	öring, harr, sik	30	17/6, 18/6	14.2, 14.3
9	Betsele	öring, harr, sik	30	15/6, 15/6	14.0, 15.0
10	Överbo	öring, harr, sik	17	17/6, 17/6	16.5, 18.5
Ångermanälven					
11	Ransarn	röding, öring	9	12/8	15.0
12	Gikasjön	röding, öring	24	7/7, 8/7	11.5, 11.6
13	Övre Kultsjön	röding, öring	30	9/7	10.4
14	Nedre Kultsjön	röding, öring	29	10/7	10.4
15	Vuollete, Kultsjöån	röding, öring	25	26/6	15.3
16	Malgomaj, Gäddbäcken	röding, öring, harr, sik	30	17/6	11.6
17	Malgomaj, Strömnäs	röding, öring, harr, sik	30	11/6	9.6
18	Malgomaj, Rönnäs	röding, öring, harr, sik	30	17/6	12.2
19	Fatsjön, Eriksberg	röding, öring, harr	17	23/6	17.5
20	Volgsjön	röding, öring, harr, sik	29	9/6	9.1

¹ Antalet provtagna fiskar

Tabell SF2. Data avseende provinsamling i Jämtlands län

Vatten-system	Provtagningspunkt	Laxfisk i vattenområdet	Antal fiskar ¹	Datum för fiske	Vattentemp °C
Faxälven					
21	Stor-Sjouten	röding, öring	30	12/8	15.0
22	Leipikkvattnet	röding, öring	30	8/7, 9/7	7.2, 7.8
23	Jormsjön	röding, öring	30	12/7	12.0
24	Hetögeln	röding, öring, harr, sik	30	22/6, 24/6	11.5, 11.8
25	Fågelsjön	röding, öring, harr, sik	26	21/6	13.7
26	Ströms Vattudal, Dragan	röding, öring, harr, sik	24	11/7, 12/7	10.2, 10.3
27	Ströms Vattudal, Bonäset	öring, harr, sik	30	30/6	17.9
28	Ströms Vattudal, Ön	öring, harr, sik	25	maj-juli	14.0
29	Fångsjön	röding, öring, harr, sik	30	31/7, 9/8	17.8, 18.0
30	Vängelsjön	öring, harr, sik	ej fiskat på grund av fel temperatur		
Ljungan					
31	Buhösten	röding, öring	30	2/7	13.3
32	Storsjön	röding, öring, harr, sik	26	3/8	14.3
33	Ytter-Grucken	öring, harr, sik	30	26/7	13.2
34	Flåsjön	öring, harr, sik	28	1/8	14.4
35	Börtnessjön, uppströms odling	öring, harr, sik	30	14/7	13.2
36	Börtnessjön, nedströms odling	öring, harr, sik	30	14/7	12.7
37	Lill-Börtnen	röding, öring, harr, sik	30	7/7	11.3
38	Fotingen	öring, harr, sik	30	17/7, 20/7	14.1, 14.3
39	Lännässjön	öring, harr, sik	30	18/6	14.5
40	Skålsjön	öring, harr, sik	30	15/6	15.0

¹ Antalet provtagna fiskar

Tabell SF4. Data avseende artfördelning, symptom och analysresultat för fisk i Västerbottens län

Vattensystem		Antal fiskar	Symptom		ELISA positiv förhöjd)	PCR positiv
Provtagningspunkt						
Umeälven						
1	Abelvattnet	Öring	30	2	0	-
2	Överuman	Röding	10	0	0	-
		Öring	20	0	0	-
3	Nedre Boksjön	Röding	10	0	0	-
		Öring	20	0	0	-
4	Gardsjön	-				
5	Slussfors	Harr	1	0	0	-
		Sik	29	1	0 (1)	-
6	Storholmen	Harr	1	0	0	-
		Sik	29	0	0	-
7	Luspsjön	Harr	1	0	0	-
		Sik	29	0	0	-
8	Stensele	Sik	30	2	0	-
9	Betsele	Öring	1	0	0	-
		Sik	29	2	0	-
10	Överbo	Sik	17	0	0	-
Ångermanälven						
11	Ransarn	Röding	2	0	0	-
		Öring	7	0	0	-
12	Gikasjön	Röding	13	0	0	-
		Öring	11	0	0	-
13	Övre Kultsjön	Röding	25	0	1	0
		Öring	5	0	0	-
14	Nedre Kultsjön	Röding	22	2	0 ¹	0 ¹
		Öring	7	1	0 (1)	-
15	Vuollelite, Kultsjöån	Öring	25	0	0	-
16	Malgomaj, Gäddbäcken	Röding	4	0	0	-
		Öring	4	0	0	-
		Harr	8	0	0	-
		Sik	14	0	0	-
17	Malgomaj, Strömnäs	Röding	6	0	0	-
		Öring	1	0	0	-
		Harr	1	0	0	-
		Sik	22	1	0	-
18	Malgomaj, Rönnäs	Röding	1	0	0	-
		Harr	1	0	0	-
		Sik	28	0	0	-
19	Fatsjön, Eriksberg	Röding	2	0	0	-
		Öring	15	0	0	-
20	Volgsjön	Sik	29	0	0	-

¹en fisk för liten för ELISA-analys, analyserad med PCR i stället

Tabell SF5. Data avseende artfördelning, symptom och analysresultat för fisk i Jämtlands län

Vattensystem		Antal fiskar	BKD- symptom	ELISA positiv (förhöjd*)	PCR positiv	
Provtagningsspunkt						
Faxälven						
21	Stor-Sjouten	Öring	30	0	1	0
22	Leipikkvattnet	Röding	19	0	0	-
		Öring	11	0	0	-
23	Jormsjön	Röding	7	0	0	-
		Öring	23	0	0	-
24	Hetögeln	Harr	15	0	0	-
		Sik	15	0	0	-
25	Fågelsjön	Harr	9	3	0	-
		Sik	17	0	0	-
26	Ströms Vattudal, Dragan	Harr	1	1	0	-
		Sik	23	1	0	-
27	Ströms Vattudal, Bonäset	Harr	4	0	0	-
		Sik	26	1	0	-
28	Ströms Vattudal, Ön	Öring	1	0	0	-
		Harr	11	0	0	-
		Sik	13	0	0	-
29	Fångsjön	Öring	4	0	0	-
		Harr	11	0	0	-
		Sik	15	0	0	-
30	Vängelsjön	-	-	-	-	-
Ljungan						
31	Buhösten	Röding	18	0	0	-
		Öring	12	0	0	-
32	Storsjön	Röding	1	0	0	-
		Öring	3	0	0	-
		Sik	22	0	0	-
33	Ytter-Grucken	Öring	2	1	0	-
		Harr	1	0	0	-
		Sik	27	0	0	-
34	Flåsjön	Öring	3	0	0	-
		Harr	3	0	0	-
		Sik	24	0	0	-
35	Börtnessjön, uppstr odling	Sik	30	0	2 (4)	0
36	Börtnessjön, nedstr odling	Harr	4	1	3 (1)	0
		Sik	26	10	15 (7)	0
37	Lill-Börtnen	Öring	1	1	1	0
		Harr	4	4	3	0
		Sik	25	25	18	0
38	Fotingen	Öring	2	0	0	-
		Sik	28	0	2 (2)	0
39	Lännässjön	Öring	1	0	0	-
		Harr	1	0	0	-
		Sik	28	2	1	0
40	Skålsjön	Öring	2	0	0	0
		Sik	28	7	5 (1)	1

Tabell SF6. Data avseende resultat av eDNA-analyser på vattenprover.

Vattensystem	Provtagningsspunkt	eDNA renibakterier ¹	eDNA öring ¹	Öring/röding i fångst ²	
Umeälven	1	Abelvattnet	Ej påvisat	Påvisat	ja
	2	Överuman	Ej påvisat	Påvisat	ja
	3	Nedre Boksjön	Ej påvisat	Påvisat	ja
	5	Slussfors	Påvisat/Ej påvisat	Påvisat	nej
	6	Storholmen	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	nej
	7	Luspsjön	Ej påvisat	Påvisat	nej
	8	Stensele	Ej påvisat	Ej påvisat/Påvisat	nej
	9	Betsese	Ej påvisat	Ej påvisat/Påvisat	ja /nej
	10	Överbo	Ej påvisat	Påvisat	nej
	11	Ransarn	Ej påvisat	Påvisat	ja
	12	Gikasjön	Ej påvisat	Påvisat	ja
	13	Övre Kultsjön	Ej påvisat	Påvisat	ja
	14	Nedre Kultsjön	Ej påvisat	Påvisat	ja
	Ångerman-älven	15	Vuollelite, Kultsjöån	Ej påvisat	Påvisat
16		Malgomaj, Gäddbäcken	Ej påvisat	Påvisat	ja
17		Malgomaj, Strömnäs	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	ja
18		Malgomaj, Rönnäs	Ej påvisat	Ej påvisat	ja
19		Fatsjön, Eriksberg	Ej påvisat	Påvisat	ja
20		Volgsjön	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	nej
21		Stor-Sjouten	Ej påvisat	Påvisat	ja
22		Leipikkvattnet	Ej påvisat	Påvisat	ja
23		Jormsjön	Ej påvisat	Påvisat	ja
24		Hetögeln	Ej påvisat	Ej påvisat	nej
Faxälven	25	Fågelsjön	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	nej
	26	Ströms Vattudal, Dragan	Påvisat/Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	nej
	27	Ströms Vattudal, Bonäset	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	nej
	28	Ströms Vattudal, Ön	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	ja
	29	Fångsjön	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	ja
	31	Buhösten	Ej påvisat	Påvisat	ja
	32	Storsjön	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	ja
	33	Ytter-Grucken	Ej påvisat	Ej påvisat/Påvisat	ja
	34	Flåsjön	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	ja
	Ljungan	35	Börtnessjön, ovan odling	Ej påvisat	Ej påvisat/Påvisat
36		Börtnessjön, nedan odling	Ej påvisat	Påvisat/Ej påvisat	nej
37		Lill-Börtnen	Ej påvisat	Ej påvisat/Påvisat	ja
38		Fotingen	Ej påvisat	Ej påvisat/Påvisat	ja
39		Lännässjön	Ej påvisat	Ej påvisat	ja
40		Skålsjön	Ej påvisat	Ej påvisat	ja

¹Provtagningsspunkter där resultaten skiljer mellan de två 5 L-delproverna rapporteras som prov 1/prov 2. ²Provtagningsspunkter med två fisken där öring och/eller röding funnits med i ena fångsten rapporteras som fiske 1/fiske 2

Akutmedel

Totalt har sex fall avseende sötvattenslevande fisk tagits in för undersökning med hjälp av akutmedel under 2020. Dessa redovisas nedan i kronologisk ordning.

Fall 1. Rödingar med kraftig maskförekomst

Tre rödingar från ett fjällvatten i Gällivare kommun inkom i april. Orsaken var att en ökad frekvens parasitangripna rödingar noterats i flera sjöar i samband med pimpling. Fiskar med mycket mask upplevdes som slöa och missbildade med stort huvud och mager kropp. Vid ankomst var fiskarna buköppnade och hade omfattande kadaverösa förändringar. I bukhålan återfanns rikligt med trematoder (bandmask), ca 1.5 – 6 cm långa och 3 mm breda. På grund av förruttelsen gick det inte att avgöra om masken ursprungligen legat i tarmen eller bukhålan. Undersökning av maskarna under lupp/mikroskop visade att det rörde sig om *Eubotrium* sp., sannolikt *E. salvelini* som har röding som slutvärd och lever i fiskens tarm. Parasiten kan genomföra sin livscykel med bara en mellanvärd (små kräftdjur), och kan orsaka försämrad tillväxt och kondition hos infekterad fisk då den konkurrerar med värdjuret om näringen i födan. I värsta fall kan masken orsaka hål i magtarmväggen med påföljande läckage till bukhålan och inflammatoriska processer. Parasiten är inte zoonotisk, det vill säga den smittar inte till människor. Norska Veterinärinstitutet har ett projekt där bandmask från fisk i inlandszonen undersöks, och dessa maskar kommer att artbestämmas med molekyldiagnostik inom ramen för det projektet.

Fall 2. Harr med massiva granulom i buken

Fixerat magtarpaket från en harr fångad i Stora Lulevatten, Gällivare, inkom i augusti. Fisken hade först rapporterats i rapportportalen. Magtarpaketet, lever och mjälte var fulla av granulomlikande förändringar (**Bild SF4**), varför en histopatologisk undersökning genomfördes. Vävnaden var i gott skick då den fixerats relativt snabbt efter att harren avlivats. I magsäcksväggen och på utsidan av magsäcksväggen samt i levern observerades multipla granulom av varierande ålder. Några innehöll bara degenererat material medan ett flertal innehöll hålrum med bandmasklarver. Mjälten innehöll två granulom med degenererat material. Enstaka friliggande rundmaskar noterades utanpå magsäcken.

Bandmask har en livscykel som inkluderar flera värdjur, och bandmasklarver som hamnar i en mellanvärd tar sig genom bukväggen för att kapsla in sig på inre organ. När larverna sedan blir uppätta av sin huvudvärd utvecklas vuxna maskar i värdjurets tarm. SVA har inte kunnat identifiera någon bandmask som har harr som mellanvärd. Vi bedömer att det handlar om *Triaenophorus nodulosus*, en av två arter som kallas gäddbandmask och alltså har gädda som huvudvärd, och som förekommer i Sverige. *T. nodulosus* har bland annat abborre och lake som mellanvärd, där larverna återfinns som cystor i levern. Här har en immunreaktion skett och stoppat larvernas migration, sannolikt beroende på att det inte är en naturlig mellanvärd som blivit infekterad. Fyndet av rundmask klassades som ett bifynd och vi har inte försökt artbestämma dem.



Bild SF4. Multipla granulom i inre organ. Foto: Lapplands djurklinik

Fall 3. Gädda med tumör i bukhålan

Fixerad vävnad från en misstänkt tumör i bukhålan på en gädda inkom i augusti. Fisken hade rapporterats i rapportportalen och hade fångats vid spinnfiske i Norrsjön, Skinnskattebergs kommun. Enligt uppgift var gäddan pigg vid fångst (spinnfiske) men luktade mycket illa. Den hade sår på sidan och ryggen, bild på detta saknas. Vid rensning hittades en stor brunröd (leverfärgad) knöl långt fram i buken, fäst mot ryggsidan (**Bild SF5**). Rapportören hade fryst knölen, och SVA skickade ut en burk formalin för att den skulle kunna fixeras innan inskick.



Bild SF5. Nybildning i buken på gädda. Foto: Cathy Karlsson

Den histopatologiska undersökningen visade omfattande nedbrytning av cellerna på grund av frysningen. Det gick fortfarande att se en basal organstruktur, som visade att knölen utgick från njuren. Fördelningen av de olika strukturerna (filtrerande/blodbildande) som bygger upp njuren var normal. Det fanns en del celler som fortfarande föreföll intakta i kanalsystemet till den filtrerande vävnaden. Dessa misstänktes vara encelliga parasiter. I extrafärgningar sågs dessa celler tydligare vilket stödjer att det rörde sig om en encellig parasit.

Det har inte kunnat säkerställas exakt vad som orsakat nybildningen. Storleken och utseendet på knölen talar för en tumör. För att säkert kunna klassificera en tumör måste prov tas ut och fixeras på helt färskt material. Detta för att kunna bedöma s.k. mitosfrekvens (hur stor andel av cellerna som delar sig), ett tecken på hur elakartad tumören är. Aggressiva tumörer växer dessutom ofta oorganiserat. Lymfosarkom/gäddsarkom är en tumör som utgår från blodbildande celler. Om det varit en sådan tumör borde den blodbildande vävnaden i njuren ha tagit överhanden, vilket inte var fallet här. Den normala strukturen talar för en godartad tumör alternativt för en så kallad reaktiv hyperplasi, vilket innebär att vävnaden reagerat på något genom att växa till onormalt mycket. Det fanns misstänkta encelliga parasiter men på grund av vävnadens skick kunde det inte bedömas säkert vad det rör sig om. För att kunna säkerställa detta måste man kunna se dem på plats i de celler de eventuellt växer till i (i detta fall sannolikt i ytskiktet i kanalsystemet) samt olika stadier i deras livscykel. Det är mycket möjligt att parasiterna orsakat en reaktion i njuren som lett till den lokalt kraftiga tillväxten, men det är också möjligt att de är ett bifynd i en godartad tumör. Den kraftiga lukten som gäddan hade kan bero på sårinfektion eller vävnadsdöd i såren. Eftersom bilder saknas kan SVA inte bedöma vad det handlar om, men då nybildningen inte bedöms som lymfosarkom är det mindre sannolikt att det finns en koppling mellan såren och nybildningen.

Fall 4. Uppföljning av harren med granulom (Fall 2).

Efter att ytterligare fiskar med misstänkta granulom noterats i Stora Lulevatten skickades två nyfångade harrar in för obduktion. Harrarna inkom innan den histopatologiska undersökningen av harren i Fall 2 var klar. Harrarna var av måttlig storlek (strax under 300 g). Den ena hade ett sår på stjärtpolen. Båda harrarna hade en något förstorad mjälte. Inga granulomatösa förändringar noterades på de inre organen. Bakteriologisk odling gjordes från njure på båda fiskarna, då en förstorad mjälte indikerar en pågående infektion. Från båda fiskarna växte måttligt med bakterier

tillhörande släktet *Aeromonas* sp. *Aeromonas* är svåra att artbestämna, och i detta fall har det inte lyckats. Det kunde dock uteslutas att det rörde sig om *Aeromonas salmonicida salmonicida* (ASS), som orsakar den allvarliga sjukdomen furunkulos. Huruvida denna infektion på sikt skulle påverka harrarna är oklart, men infektionen är helt orelaterad till de parasitgranulom som identifierades i Fall 2.

Fall 5. Röding och regnbåge har försvunnit från en sjö

En regnbåge, en röding och fyra gäddor inkom från Trolltjärnen, Umgransele. Sjön har inplanterade bestånd av röding och regnbåge efter rotenonbehandling. Gädda har återkommit till sjön efter översvämningar för många år sedan. Förut har sjön "kokat" av ädelfisk, men i år har det i princip varit dött. Nu hade man lyckats fånga en röding och en regnbåge samt ett antal gäddor i nät och ville ha fiskarna undersökta avseende infektioner.

Regnbågen var välnärd och hade en tydligt rundad, normalfärgad mjälte. I övrigt inga tecken på infektion. Rödingen var välnärd och lekmogen utan yttre tecken på sjukdom. Njuren var bitvis något svullen, vid genomskärning var bakre polen gråaktig i utseendet. De fyra gäddorna uppvisade inga yttre tecken på infektion. Tre var relativt små (47 – 49 cm) och tunna i hullet. En av de små gäddorna hade mörka utbuktningar på hjärtat, en något rundad mjälte samt en full magsäck, övriga hade tom magsäck och inga onormala inre fynd. Bakteriologisk odling gjordes från njure på regnbågen och rödingen. På rödingen gjordes även BKD-analys på grund av njurens utseende. Histopatologisk undersökning gjordes på olika inre organ från regnbågen, rödingen och två gäddor.

BKD-analysen var negativ. Från rödingen växte *Pseudomonas fluorescens* i renkultur. Från regnbågen växte en morfologiskt liknande bakterie i blandflora men artbestämning gjordes inte. Histopatologiskt noterades inga tecken på infektion. Regnbågens mjälte var kraftigt blodfylld utan tecken på ökad immunologisk aktivitet. I rödingens njure noterades visst ödem, men bakterier kunde inte observeras i snittet. Övriga undersökta organ hos de båda fiskarna såg helt normala ut. De mörka utbuktningarna på den ena gäddans hjärta var akuta blödningar mellan hjärta och hjärthinna. Hos den andra gäddan hittades inget onormalt.

Ingen uppenbar infektion som kan förklara en dödlighet i röding-/regnbågsbeståndet påvisades. Lindriga förändringar förenliga med BKD-infektion noterades i rödingen men analysen var negativ. Detta tyder på att BKD inte är orsak till nedgången i beståndet. Bakterien *P. fluorescens* har beskrivits orsaka sjukdom i odlingsanläggning, men bedöms inte relevant under dessa vilda förhållanden. Bakterien är naturligt förekommande i jord och vatten.

Fall 6. Sik med hudblödningar, sår och svamp

Sik med hudblödningar, hudsår och svamp rapporterades i början av november efter nätfångst vid Junkön, Bottenviken, Luleå kommun. En sik som varit infrysad inkom i början av december för undersökning.

Siken vägde 806 g, hade medelgott hull och var lindrigt förruttnad. Huden kring fenbaser, huvud och sidolinjen hade partier med svampangrepp (**Bild SF6**). Svampen hade också angripit bröst-, buk-, anal- och stjärtfena. Blodiga missfärgningar, en frysartefakt, noterades i höger öga samt gonader och lever. Provtagning på njure och hud gjordes med avseende på bakterier och svamp. Från njuren växte måttligt av *Aeromonas* sp. i ospecifik blandflora. Från hud växte sparsamt av *Yersinia ruckeri* renkultur. I svampodlingen förekom måttlig växt av ospecifik blandflora av jäst- och mögelsvamp utan relevans. Ingen växt av *Saprolegnia* identifierades.

Yersinia ruckeri påvisades på hud, vilket kan innebära att den bidrar till de hudblödningar som noterats på sik i området. Vid klinisk yersinios (sår och blödningar) brukar man dock kunna isolera bakterien från inre organ och här växte sparsamt av bakterien och endast på hud, varför det är osannolikt att den varit relevant för just denna fisk. Förekomsten av *Aeromonas* sp. i blandflora från njuren är sannolikt inte heller relevant. Bakteriell tillväxt sker i samband med förruttelse och blandfloran indikerar att denna process var etablerad. Svampodling påvisade inte fynd av relevans. Sannolikt har siken varit nedsatt då de leker under senhösten. Detta gör fisken mottaglig för infektioner av olika slag, bland annat har olika svamparter lätt för att få fäste i fisken.



Bild SF6. Svampangrepp på huvud, runt bröstfena och längs sidolinjen. Foto: SVA

Rapportportalen

Totalt kom 86 rapporter rörande sötvattenslevande fisk in under 2020. Sik och gädda var de arter som förekom mest med 20 rapporter vardera (**Tabell SF7**).

Tabell SF7. Artfördelning i inkomna rapporter om sötvattenslevande fisk 2020

Familj	Art	Antal
Laxfiskar	Sik	20
	Röding	11
	Stationär öring	10
	Harr	3
Gäddor	Gädda	20
Abborrfiskar	Abborre	12
	Abborrfiskar annan	1
Karpfiskar	Björna, Braxen, Faren	6
	Benlöja	2
	Sutare	1
Totalt		86

Rapporter om gäddor kom från hela landet och från både skärgård och inlandszon. I nio av rapporterna (11 fiskar) förekom misstänkta gäddsarkom, sår som skulle kunna vara gäddsarkom eller inre nybildning (**Tabell SF8**). Gäddsarkom rapporteras vanligen från skärgården, men intressant nog rörde sex av åtta rapporter insjöar eller älv/å. SVA har därför tagit kontakt med några länsstyrelser och diskuterat möjligheten att samla in gäddor för undersökning under 2021, och föreslog i november till HaV att 2021 års projekt avseende sötvattenslevande fisk ska ägnas åt gäddsarkom. Syftet är då bland annat att utreda om gäddsarkom av olika aggressivitet förekommer. Detta kommer att göras genom att obducera fisk för att undersöka metastasering, histopatologisk bedömning av tumörerna samt genom att undersöka förekomst av det orsakande retroviruset, även i gäddor med misstänkt avläkta sarkom.

Tabell SF8. Rapportering avseende gäddor under 2020.

Län	Månad	Fyndplats	Fynd
Skåne	Augusti	Ballingslövssjön	Mek skada + löss
Blekinge	Mars	Lyckebyån	Sår, ev gäddsarkom
	Maj	Havet, Karlskrona	Gäddsarkom, två gäddor
Kronoberg	April	Örsjön	Gäddsarkom, två gäddor
Jönköping	Augusti	Fängen	Gäddsarkom
Stockholm	Mars	Mälaren	Tre gäddor, fiskade och slängda vid stranden?
	Maj	Långsjö - Tutsviken	Invärtes parasiter
	Maj	Långsjö - Tutsviken	Sår
	Juli	Urösundet	Oklart (bild och info saknas)
	Juli	Sjö/hav	Oklart (bild och info saknas)
	Augusti	Orlången	Tunn, hudblödningar, gul beläggning
	Augusti	Bagghusfjärden Norrtälje	Gäddsarkom
Västmanland	Augusti	Norrnsjön. Färna	Pigg men luktade mycket illa, vid rensning hittades en stor nybildning i buken
Gävleborg	Juni	Lövstabukten	Sår, misstänkta sälskador (flera gäddor)
	Augusti	Öjaren	Gäddsarkom
	Augusti	Öjaren	Liten nybildning i mungipa, sarkom eller fibrom
Jämtland	Juli	Ströms Vattudal	Gäddsarkom eller fibrom
Västerbotten	Juni	Högfjärden Lövånger	Svamp/vita fläckar
Norrbotten	April	Torneälven	Sår (mekanisk skada)

Avseende sik kom 11 rapporter från Bottenviken, varav sju var rapporterade av en person och tre rapporterade av en person. Femton sikar var svampangripna, två rapporter gällde invärtes parasiter varav en rapport från Storsjön rörde massiv förekomst av parasitcystor i köttet på sik (70 sikar fångade). Övriga tre rapporter handlade om sår, hudblödningar och rodnad.

Röding rapporterades främst från Vättern samt Locknesjön i Ljungans vattensystem (fyra rapporter vardera). Övriga tre rapporter kom från olika lokaler. Sår, hudblödningar och svamp är det som rapporterats utom i ett fall där en kraftigt missbildad röding med grumliga/blodsprängda ögon hade hittats (**Bild SF7**). Det förekommer ingen utplantering i sjön varför ryggradskrökningen sannolikt inte är en genetiskt betingad defekt. Orsaken kan vara en felaktig balans på näringsämnen (ex. brist eller överskott på vissa vitaminer/mineraler) under någon fas i livet.

Av de tio rapporterna avseende stationär öring handlade sex om svampangrepp, varav en inkom i juni och resterande inkom i oktober-november. Två rapporter avhandlade plötslig massdöd i en å (samma fall). Fiskarna hade uppspärade gällock vilket tyder på akut syrebrist men orsaken till detta har inte klarlagts. Två rapporter handlade om förekomst



Bild SF7. Röding med ryggsdeformation och misstänkt panoftalmi. Foto: Bo Eriksson

av parasiter. I en rapport förekom massiva granulom på inre organ och enstaka rundmaskar i bukhålan hos en fisk. Den andra rapporten gällde flera sjöar i Ångermanälvens avrinningsområde och det rapporterades riklig förekomst av löss och simblåsemask, och hos en fisk även bandmaskcystor.

Rapporterna om abborrar rörde sårskador (4 st), varav den ena hade mycket bleka gälar och lever (anemisk) samt cystor/förhårdnader i levern. Två rapportörer hade hittat vita fläckar (myxosporidieinfektion) i köttet vid rensning av abborre, en hade hittat en bandmasklarv, två rapporter handlade om svampangrepp, en om löss, en om förkortning av gällock.

Rapporter avseende braxen/björkna/faren och sutare rapporterade fynd som hudblödningar och sår. En rapport gällde en svag fisk med ett buktande öga och ett sår vid analöppningen. Två rapporter rörde massdöd i samma sjö och inkom mitt i sommaren. Dödsorsaken är oklar, syrebrist misstänktes. Benløjorna hade rapporterade parasitangrepp (svartfläcksjuka/sugmask respektive okänd).

För harr rapporterades granulom i buken (se **Fall 2** ovan under Akutmedel), nystan av misstänkta parasiter i buken samt lusangrepp.

Del 5.

Kräftdjur

Inga undersökningar av havslevande kräftdjur har genomförts under året och därför finns ingen separat bilaga avseende dessa djur. Alla fall i denna bilaga avhandlar sötvattenslevande kräftdjur. Inga fall har hanterats på akutmedel och inga fynd har rapporterats via rapportportalen.

SAMMANFATTNING

Fisksektionen har under 2020 handlagt elva uppdrag rörande sjukdom/dödlighet på flodkräftor samt ett uppdrag avseende eDNA (kräftpest och kräftarter). Det material som har sänts in har varit färska, frysta eller spritfixerade hela eller delar av kräftor samt filter efter vattenfiltrering. Materialet har kommit från kommuner, länsstyrelser och fiskevårdsföreningar. Sex fall av kräftpest hos flodkräfta har rapporterats till Jordbruksverket och HaV under året. Utöver diagnostik har metodutveckling avseende *Thelohania* spp. skett samt en obduktionsjournal anpassad för kräftdjur (oavsett habitat och art) har skapats (**Bilaga HK/SK**).

INTRODUKTION

För sötvattenslevande kräftdjur är det främst kräftpest, orsakat av algsvampen *Aphanomyces astaci*, som ställer till problem. Infektionen orsakar 100 % dödlighet hos flodkräftor (*Astacus astacus*) medan den fortgår med subkliniskt förlopp hos signalkräftor (*Pacifastacus leniusculus*) såvida individen inte är nedsatt. Kräftpesten introducerades i Sverige 1907, men den stam av *A. astaci* som förekommer idag introducerades 1960 (<https://www.havochvatten.se/arter-och-livsmiljoer/arter-och-naturtyper/kraftpest.html>). Flodkräftan är naturligt förekommande i Sverige medan signalkräftan introducerades under 1960-talet eftersom det fanns en tro att den gav bättre avkastning än flodkräftan, och dessutom hade flodkräftpopulationen minskat på grund av kräftpesten. Eftersom signalkräftan oftast bär på kräftpest utan att visa symptom har dock situationen förvärrats och varhelst den förekommer försvinner flodkräftorna. Signalkräftan klassas numera som en invasiv främmande art av EU och flytt av kräftor får inte genomföras. Övervakning av signalkräftors och flodkräftors förekomst görs av SLU. SVA övervakar sedan många år förekomsten av kräftpest genom att misstänkta fall skickas in och diagnosticeras.

Vitprickig kräftdjurssjuka/Whitespot syndrome (WSS) är en exotisk virussjukdom som förekommer framför allt i Sydostasien och ger massdödlighet i odlingar av jätteräkor. Sjukdomen kan drabba alla arter av kräftdjur, även om samma höga dödlighet inte har rapporterats för kräftarter som för räkararter. Eftersom sjukdomen rapporterats inom EU bör all sjukdom/dödlighet som inte kan förklaras av andra orsaker undersökas avseende WSS-virus (WSSV) för att tidigt upptäcka eventuell introduktion av sjukdomen. Även parasitinfektionerna porslinssjuka (*Thelohania* spp.) och psorospermium (*Psorospermium* spp.), främst då den första, kan orsaka problem hos sötvattenslevande kräftor. Övervakningen av sötvattenskräftor kan även omfatta diagnostik på individer av andra vildfångade kräftdjur än flodkräftor, till exempel signalkräftor, med misstänkt sjukdom. Under 2020 har dock bara flodkräftor skickats in för analys.

Syfte

Syftet med övervakningen av sötvattenslevande kräftor är främst att påvisa om kräftpest är orsak till dödlighet hos flodkräftor. Om kräftpest inte påvisas utreds fallet vidare för att utesluta WSS, porslinssjuka eller psorospermium som dödsorsak.

MATERIAL OCH METODER

Provinsamling

Material inkommer i fall av sjukdom eller dödlighet efter avisering till SVA. Kräftor kan skickas levande eller döda färska, frysta eller spritfixerade (hela eller delar av kräftor) för diagnostik. Dessutom kan filter efter vattenfiltrering skickas in för att påvisa eDNA från *A. astaci*, flodkräftor eller signalkräftor.

Obduktion och provuttag

Förekomst av svamphyfer från algsvampar undersöktes mikroskopiskt i hud och skaldelar från döda flodkräftor. Bitar av hud och muskel togs samtidigt ut för molekylärbiologisk analys (se under rubriken Laboratorieanalyser).

Thelohania spp. (orsakar porslinssjuka) och *Psorospermium* spp. är två encelliga parasiter som i dagsläget undersöks genom makroskopisk och mikroskopisk undersökning. Sporer av *Psorospermium* är tillräckligt stora för att kunna påvisas vid direktmikroskopering av vävnad. *Thelohania* lägger sig insprängt i muskelvävnad i små lokaliserade "öar". Kraftig infektion kan anas vid makroskopisk undersökning genom att undersidan av kräftans stjärt får ett kokt/porslinsvitt utseende. Parasiten går inte att påvisa vid direktmikroskopering, utan det krävs histopatologisk preparation med färgning av vävnaden för mikroskopisk diagnostik.

Diagnostikutveckling

Den obduktionsjournal som SVA hittills använts är utvecklad för fisk, vilket innebär att det är lätt att missa saker som bör noteras för kräftdjur. Under 2020 skapades därför en särskild obduktionsjournal för kräftdjur (**Bilaga HK/SK**).

Laboratorieanalyser

En ny, och i förhållande till den tidigare metoden mer specifik, realtids-PCR användes för att påvisa DNA från *A. astaci*. Metoden togs fram av Veterinärinstitutet i Oslo under 2019 (opubl.) Metoden användes för både kräftvävnad och eDNA. Även förekomst av WSS-virus i kräftvävnad undersöktes med hjälp av realtids-PCR (Sritunyalucksana et al., 2006). eDNA-prover analyserades även för förekomst av flod- respektive signalkräfta med hjälp av realtids-PCR.

Diagnostikutveckling

Låggradig infektion med *Thelohania* spp. är lätt att missa vid histologisk undersökning. Under året har därför diagnostikutveckling avseende en realtids-PCR för *Thelohania* spp. genomförts och är nu i utvärderingsfas. Preliminära resultat visar att denna metodik är säkrare än histopatologisk undersökning för att fastställa förekomst av *Thelohania*. Därför kommer alla kräftor som kommit in 2020 att undersökas avseende *Thelohania* med den nya metoden under början av 2021. Resultaten kommer att redovisas i årsrapporten för 2021.

RESULTAT

Resultat avseende inkomna uppdrag har kontinuerligt svarats ut till insändare, HaV samt berörd länsstyrelse. Sex fall av kräftpest hos flodkräfta har påvisats under året, och då har K4 utgått till

Jordbruksverket och länsstyrelserna. När kräftpest inte kunnat påvisas som orsak till dödlighet har kräftorna även undersökts för WSSV, men i inget fall har detta virus påvisats. Nedan beskrivs fallen separat i kronologisk ordning.

Kräftor

Geografiskt ursprung för uppdragen kan ses i **Bild SK1**. Siffrorna för provtagningspunkterna på kartan motsvarar uppdragsnumren nedan.

Uppdrag 1 & 2

En självdöd kräfta skickades in med misstanke om kräftpest, då en stor mängd döda flodkräftor påträffats i en damm i Kristianstads kommun. Inskicket kompletterades dagen efter med en döende kräfta som hittats i en mjärde. Dammen är ett helt slutet vattensystem om ca 1200 m², med flodkräftor inplanterade från Gotlandskräftan 1995. I år har döda kräftor flutit upp i dammen och man har sett många döda kräftor vid strandkanten.

Den första kräftan hade klor, gångben och pleopoder i behåll. Ryggskölden hade släppt från stjärt delen som om kräftan ömsat skal. Skalet var tomt förutom att kräftstenarna (gastroliterna) låg kvar inuti skalet. Dessa utgör kräftans kalkreserv och åtgår vid bildande av nytt skal, därför är det märkligt att de fanns kvar i det tomma skalet. Den andra kräftan saknade klor men hade gångben och pleopoder i behåll. Även på denna kräfta hade ryggskölden släppt från stjärt delen som om kräftan ömsat skal. Kroppshålan var tom på innehåll, medan stjärtmuskulaturen fanns kvar i stjärt delen.

PCR-analys avseende *Aphanomyces astaci* var negativ. Eftersom kräftpest inte kunde påvisas analyserades proverna även avseende WSSV, men inte heller detta agens kunde påvisas. *Psorospermium* observerades inte vid mikroskopi.

Dödsorsaken har inte kunnat fastställas. En möjlighet är att kräftorna dött i samband med skalbyte, kanske på grund av höga vattentemperaturer, eller att de då är extra utsatta för predation av tex fåglar.

Uppdrag 3

Två flodkräftor inkom för undersökning då de påträffats döda i Rännsjöbäcken, Ockelbo kommun. Kräftorna hade frysts in innan insändandet. Kräftorna hade en vikt av 22 respektive 10 gram och var stadda i förruttelse, särskilt kräfta nr 2, som saknade en klo och de flesta av gångbenen.

Psorospermium observerades inte vid mikroskopi. *Aphanomyces astaci* påvisades hos båda kräftorna vid PCR-analys. Kräftpest bedöms därför vara orsaken till kräftornas död.

Uppdrag 4

En flodkräfta från sjön Storljusen, Sala kommun, inkom för undersökning för eventuell kräftpest. Kräftan hade påträffats död på sjöbotten och förvarades fryst innan den kördes in till SVA. Alla gångben, pleopoder och klor var intakta inga sjukliga förändringar noterades. *Psorospermium* observerades inte vid mikroskopi.

PCR-analys avseende *Aphanomyces astaci* var negativ. Eftersom kräftpest inte kunde påvisas analyserades provet även avseende WSSV, men inte heller detta agens kunde påvisas. Dödsorsaken har inte kunnat fastställas.

Uppdrag 5

Tre flodkräftor från en bäck med anslutning till Nedre Idetjärn, Vänersborgs kommun. Kräftorna (två hannar och en hona med rom) hade påträffats döda och frysts in och sedan fixerats innan insändning. En av kräftorna saknade en klo, i övrigt noterades inga anmärkningsvärda förändringar. *Psorospermium* observerades inte vid mikroskopi. PCR-analys avseende *Aphanomyces astaci* var negativ. Eftersom kräftpest inte kunde påvisas analyserades provet även för WSSV, men inte heller detta agens kunde påvisas. Dödsorsaken har inte kunnat fastställas.

Uppdrag 6

Två flodkräftor inkom för undersökning då de påträffats döda i Värsjön, Örskällungas kommun. Båda kräftorna var i gott skick, kräfta nr 1 saknade klor men båda hade gångben och pleopoder i behåll. *Psorospermium* observerades inte vid mikroskopering. *Aphanomyces astaci* påvisades hos båda kräftorna vid PCR-analys. Kräftpest bedöms därför vara orsaken till kräftornas död.

Uppdrag 7

Två flodkräftor inkom från Åmåls kommun, Västra Götaland. Den första kräftan var stadd i förruttelse, medan den andra var levande men slö vid ankomst till SVA. *Psorospermium* observerades inte vid mikroskopering. Förekomst av *Aphanomyces astaci* påvisades hos båda kräftorna vid PCR-analys. Kräftpest bedöms därför vara orsaken till kräftornas död.

Uppdrag 8

En upphittad klo skickades in från Älgemoälven i Upperudsälvens avrinningsområde, Dals-Eds kommun. Levande flodkräftor kunde inte påträffas. *Psorospermium* kunde inte bedömas i insänt material. Förekomst av *Aphanomyces astaci* påvisades vid PCR-analys. Kräftpest bedöms därför vara orsaken till kräftans död och att inga levande kräftor har påträffats i området.

Uppdrag 9

Intorkat skal (med bitmärken av mink) samlades in i Lilla Ulevattnet, Upperudsälvens avrinningsområde, Dals-Eds kommun, då levande flodkräftor ej kunnat observeras där. *Psorospermium* kunde inte bedömas i insänt material. Skaldelarna undersöktes för förekomst av *Aphanomyces astaci* med hjälp av PCR analys. *A. astaci* påvisades från materialet, varför kräftpest bedöms vara orsaken till kräftornas död.

Uppdrag 10

En levande kräfta samt en påse med skaldelar inkom med förfrågan om kräftpest. Kräftan burfångades i Hultsjön, Åmåls kommun den 28/9. Kräftan uppvisade inga tecken på sjukdom. Kräftan avlivades och prov för kräftpestanalys togs ut från kräftan och de insända skaldelarna. *Psorospermium* observerades inte vid mikroskopi. PCR-analys avseende *Aphanomyces astaci* var negativ. Eftersom kräftpest inte kunde påvisas analyserades provet även för WSSV, men inte heller detta agens kunde påvisas. Orsaken till att kräftor dött har inte kunnat fastställas.

Uppdrag 11

En självdöd flodkräfta skickades in från Länsstyrelsen Blekinge län, med misstanke om kräftpest. Kräftan var i gott skick, med klor, gångben och pleopoder i behåll. *Psorospermium* observerades inte vid mikroskopering. Förekomst av *Aphanomyces astaci* påvisades vid PCR-analys. Kräftpest bedöms därför vara orsaken till kräftans död.

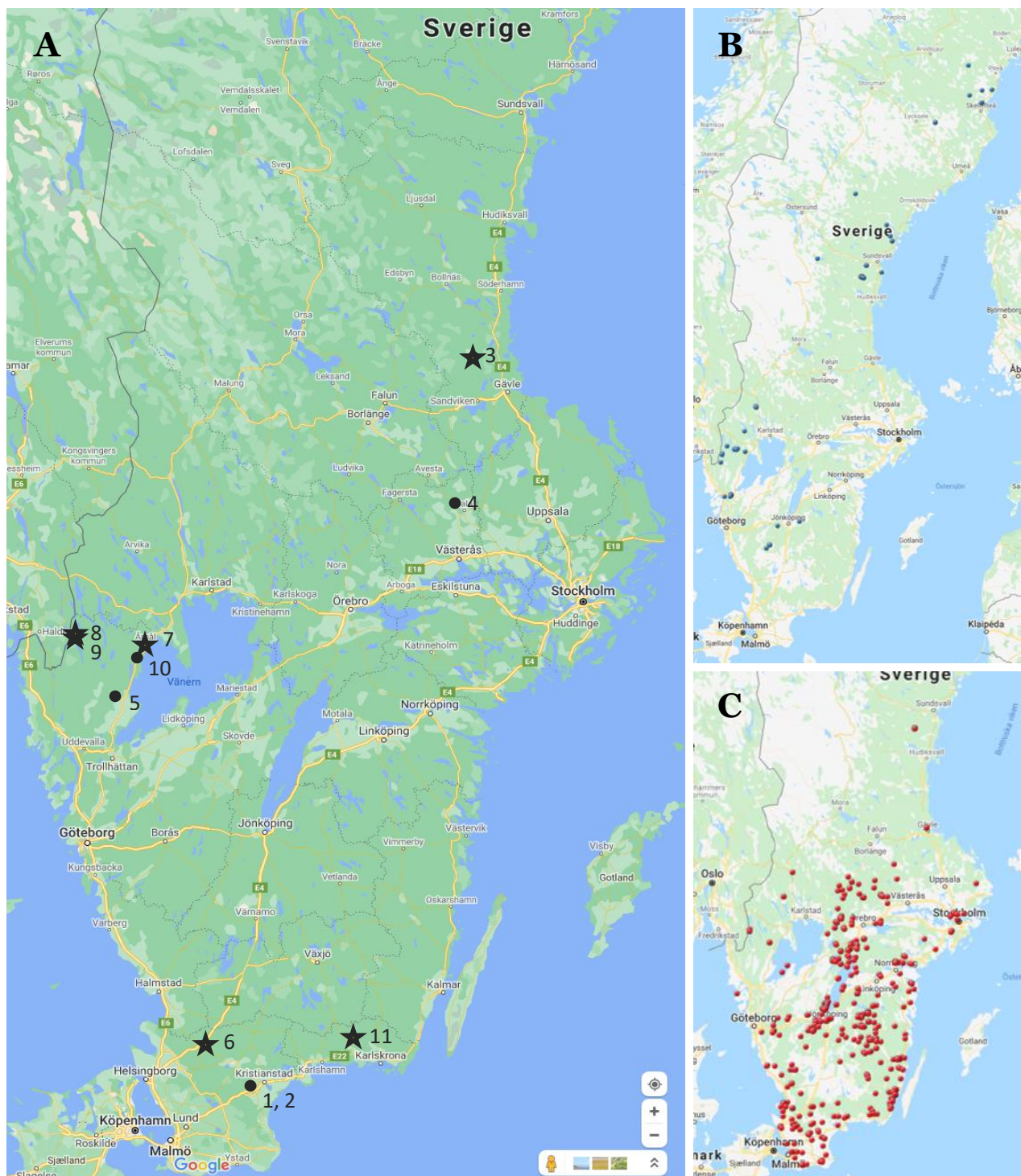


Bild SK1. A) Geografisk lokalisering av fyndplatser för kräftor som undersökts inom hälsoövervakningen av sötvattenskräftor 2020. Stjärnor representerar punkter där kräftpest påvisats. Kartunderlag från Google Maps. Rappporter avseende förekomst av **B)** Flodkräfta och **C)** signalkräfta under 2019. Kartor från Artportalen/SLU Artdatabanken, <https://www.artportalen.se/>

eDNA-analyser

Länsstyrelsen i Värmland har under året fortsatt att följa utvecklingen av förekomsten av kräftpest, flod- och signalkräfta inom Billälvens vattensystem. Detta arbete ingår i det nya Interreg-projektet

SNEIF (Svensk-norsk innsats for edelkreps/flodkräftor) och kommer att redovisas inom projektets ramar. Sammanfattningsvis kan vi säga att DNA från flodkräfta har påvisats i vattensystemet på svensk sida om gränsen vid fler tillfällen under året, utan att levande flodkräftor har observerats. Vi hoppas att detta betyder att det finns en livskraftig population av flodkräftor på norsk sida, och att det eDNA vi detekterar härrör från denna population, och inte från döda kräftor. Vid filtrerings-tillfället fanns levande flodkräftor på norsk sida av gränsen. Det intressanta är att lokal ”Nedströms Slussebron”, en av lokalerna där eDNA från flodkräfta detekteras grovt uppskattat ligger 7 km nedströms lokalen där flodkräftor finns i Norge. SVA undersökte även tarminnehåll från två gäddor och en lake som gått in i en kräftfrysja i Billälven under sommaren, eftersom dessa fiskar äter kräftor. Varken DNA från *A. astaci*, flodkräfta eller signalkräfta påvisades i materialet.

Uppdrag 12

Förutom Billälven provtog Länsstyrelsen i Värmland två olika vattensystem som inte ingår i Interreg-projektet, nämligen Lilla Ulevattnet och Vitlandaån (**Tabell SK1, Bild SK2 A-C**).

Vid punkt 2, **Bild SK2B** hade det den 14 september hittats skal från kräfta, som dött av kräftpest (Uppdrag 9). Från vattenprover tagna den 8 oktober kunde varken kräftpest eller DNA från flod- eller signalkräfta påvisas i motsvarande provtagningspunkt, eller från två andra provtagningspunkter (1, 3, **Bild SK2B**) i samma vattensystem. Däremot kunde kräftpest påvisas från ett vattenprov taget samma datum i Vitlandaån (**Bild SK2C**, punkt 6), där kräftor inskickade till SVA för analys visat sig ha kräftpest (Uppdrag 7). DNA från flod- eller signalkräfta kunde inte påvisas i de tre provtagningspunkterna i detta vattensystem.

Tabell SK1. Provtagningspunkter och resultat avseende eDNA (Uppdrag 12).

Provtagningspunkt			eDNA		
			<i>A. astaci</i>	Flodkräfta	Signalkräfta
Bild SK2B					
1	Stora Holmvattnet	Utlopp	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
1	Stora Holmvattnet	Utlopp	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
2	Lilla Ulevattnet	Utlopp	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
2	Lilla Ulevattnet	Utlopp	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
3	Getbroälven		ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
3	Getbroälven		ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
Bild SK2C					
4	Käppesjö	Uppströms dammen	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
4	Käppesjö	Uppströms dammen	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
5	Nedströms Käppesjö	Nedströms dammen	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
5	Nedströms Käppesjö	Nedströms dammen	ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
6	Vitlandaån		ej påvisad	ej påvisad	ej påvisad
6	Vitlandaån		påvisad	ej påvisad	ej påvisad

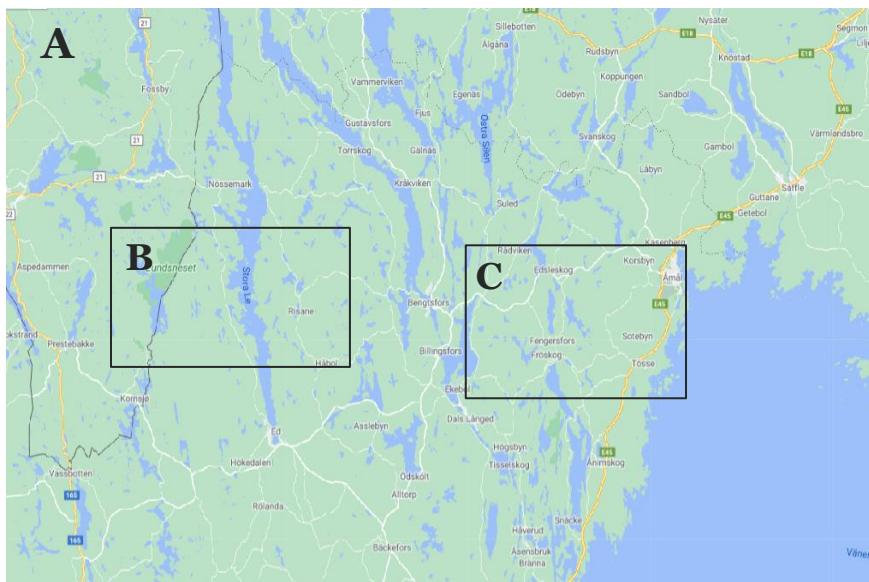
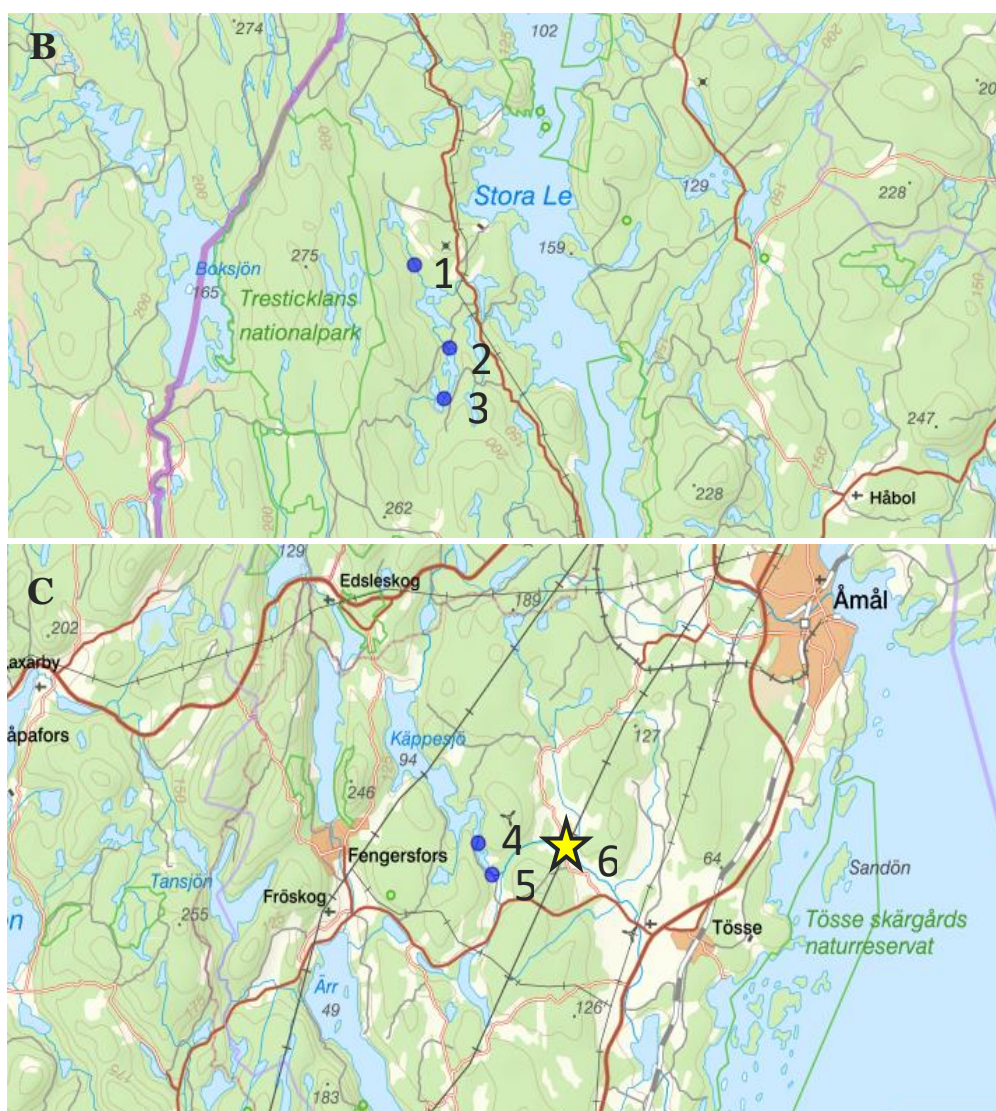


Bild SK2. A) Översiktskarta för provtagningsområde B) och C). B) Provtagningsplatser avseende eDNA i Lilla Ulevattnet, Dals Eds kommun. C) Provtagningsplatser avseende eDNA i Vitlandaån, Åmåls kommun.



DISKUSSION

Resultaten från undersökningarna 2020 visar att kräftpest fortsätter att sprida sig i Sverige, då tre av de sex påvisade fallen 2020 ligger i randzonen mellan flodkraftans och signalkraftans utbredningsområde (Bild SK1 A-C). Beståndet med flodkräfta är litet och det är av yttersta vikt att

det skyddas. Hittills har en passiv övervakning i form av diagnostik på misstänkta fall varit den främsta övervakningsmetodiken. Viss aktiv övervakning har genomförts i Värmland. Inför övervakningsåret 2021 föreslår SVA en mer aktiv övervakning genom insamling och filtrering av vatten för undersökningar av eDNA avseende kräftpest och kräftarter, främst i randzonen. Provtagningen bör ske i samband med att kräftorna ömsar skal alternativt leker (vår/tidig sommar, höst) för att maximera chansen att hitta DNA från flodkräfta respektive signalkräfta.

WSSV har inte påvisats i något av de prover som analyserats. Antalet prover är litet, varför detta inte kan tas som en garanti för att viruset inte finns i svenska vatten. Fortsatt övervakning är viktig, då viruset inte är värdspecifikt utan kan drabba ett brett spektrum av kräftdjursarter och konsekvenserna om WSSV börjar sprida sig i Europa kan därför blir omfattande. Av den anledningen uppmanar EU:s referenslaboratorium för kräftdjur alla nationella referenslaboratorier att övervaka sjukdomen. För ytterligare information om WSSV, se CABI Invasive Species Compendium (<https://www.cabi.org/isc/datasheet/59574#E543B2D6-B463-40A4-9BEA-1368FC394226>).

Den diagnostik avseende *Thelohania* spp. som hittills används har låg känslighet, det är stor risk att man missar fall av låggradig infektion och analys brukar därför inte göras utom vid tydlig misstanke. Den realtids-PCR som satts upp ger lovande resultat i preliminära bedömningar, och vi bedömer därför att vi från och med 2021 kommer att ha större chans att diagnosticera fall där infekterade kräftor fångas. Ett problem med parasiten är dock att den paralyserar kräftan, vilket innebär att infekterade djur blir svåra att fånga.

Slutsats

Kräftpesten fortsätter att sprida sig i Sverige men ännu finns inga tecken på introduktion av WSSV i populationerna av sötvattenskräftor. SVA föreslår att en aktiv övervakning avseende kräftpest påbörjas med hjälp av eDNA-prover från randzonen, och att övriga sjukdomar fortsatt övervakas vid sjukdomsfall där kräftpest inte påvisas.

REFERENSER

Sritunyalucksana, K., Srisala, J., McColl, K., Nielsen, L., Flegel, T. W. (2006). Comparison of PCR testing methods for white spot syndrome virus (WSSV) infections in penaeid shrimp. *Aquaculture* 255: 96-104

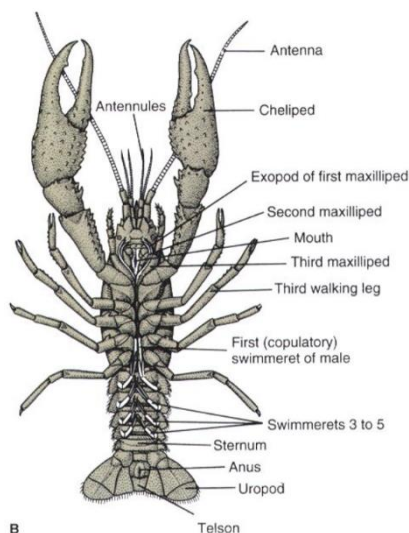
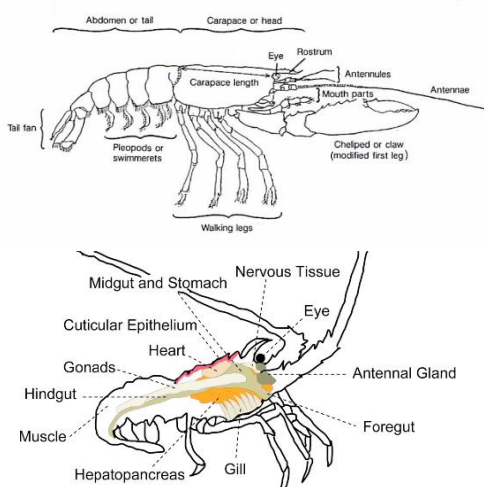
BILAGA HK/SK - OBDUKTIONS PROTOKOLL FÖR KRÄFTDJUR

Uppdrag ID	Ankomstdatum	Handläggare	Paket nr/märkning

Skick vid ankomst Ua fryst ruttet annat.....

Insändare / djurägare	
--------------------------	--

Noteringar:



Nr	Obduktionsfynd och undersökningar	Art	Kön	KF
Skal	u.a <input type="checkbox"/>	Vikt (g) med / utan klor:		
Hud under stjärt	u.a <input type="checkbox"/>	Längd (cm) med / utan klor:		
Telson	u.a <input type="checkbox"/>	Längd / bredd (cm) carapax:		
Uropoder	u.a <input type="checkbox"/>	Uttagna prover		
Klor	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Bakt:		
Gångben	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Virus:		
Pleopoder	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Histo Formalin:		
Rom	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Histo Davidssons:		
Gälar	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Parasitolog:		
Ögon	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Annat:		
Gonader	u.a <input type="checkbox"/>	Övriga anteckningar:		
Hepatopancreas	u.a <input type="checkbox"/>			
GI-kanal	u.a <input type="checkbox"/>			
Hjärta	u.a <input type="checkbox"/>			
Hjärna	u.a <input type="checkbox"/>			

Nr	Obduktionsfynd och undersökningar	Art	Kön	KF
Skal	u.a <input type="checkbox"/>	Vikt (g) med / utan klor:		
Hud under stjärt	u.a <input type="checkbox"/>	Längd (cm) med / utan klor:		
Telson	u.a <input type="checkbox"/>	Längd / bredd (cm) carapax:		
Uropoder	u.a <input type="checkbox"/>	Uttagna prover		
Klor	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Bakt:		
Gångben	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Virus:		
Pleopoder	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Histo Formalin:		
Rom	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Histo Davidssons:		
Gälar	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Parasitolog:		
Ögon	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Annat:		
Gonader	u.a <input type="checkbox"/>	Övriga anteckningar:		
Hepatopancreas	u.a <input type="checkbox"/>			
GI-kanal	u.a <input type="checkbox"/>			
Hjärta	u.a <input type="checkbox"/>			
Hjärna	u.a <input type="checkbox"/>			

Nr	Obduktionsfynd och undersökningar	Art	Kön	KF
Skal	u.a <input type="checkbox"/>	Vikt (g) med / utan klor:		
Hud under stjärt	u.a <input type="checkbox"/>	Längd (cm) med / utan klor:		
Telson	u.a <input type="checkbox"/>	Längd / bredd (cm) carapax:		
Uropoder	u.a <input type="checkbox"/>	Uttagna prover		
Klor	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Bakt:		
Gångben	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Virus:		
Pleopoder	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Histo Formalin:		
Rom	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Histo Davidssons:		
Gälar	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Parasitolog:		
Ögon	u.a <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Annat:		
Gonader	u.a <input type="checkbox"/>	Övriga anteckningar:		
Hepatopancreas	u.a <input type="checkbox"/>			
GI-kanal	u.a <input type="checkbox"/>			
Hjärta	u.a <input type="checkbox"/>			
Hjärna	u.a <input type="checkbox"/>			

Bilaga 6.

Blötdjur

HAVSLEVANDE BLÖTDJUR

Övervakning av havslevande blötdjur skedde under 2020 inom ett projekt finansierat av Europeiska havs- och fiskerifonden. Dessutom utnyttjas materialet för ett gemensamt forskningsprojekt mellan SVA och Uppsala universitet. Årets aktiviteter redovisas därför enbart översiktligt.

Under året provtogs 150 platta ostron (*Ostrea edulis*) samt 150 blåmusslor (*Mytilus edulis*). Varje individ obducerades, vägdes, mättes och hullbdömdes. Från varje individ togs prover för histopatologisk undersökning samt för PCR. Undersökningarna är främst inriktade på att detektera parasiterna *Marteilia refringens* och *Bonamia ostrea* men både andra parasiter och skador på organ kan detekteras. Vid misstanke om marteilos eller bonamios används PCR-teknik för att bekräfta diagnosen. För båda djurslagen genomfördes provtagningar på 5 lokaler med 30 individer från varje lokal. Från vissa lokaler har både ostron och musslor provtagits. Obduktioner och provuttag är genomförda och prover från alla individer har preparerats för histopatologisk undersökning men histologin från alla individer är i dagsläget ej bedömd. Ett antal prover tas i forskningssyfte som ej är relevanta för ett övervakningsprogram.

Metodutveckling

Inför 2021 genomfördes metodutveckling avseende ostrondiagnostik. De encelliga parasiterna *Microcytos mackini* samt *Perkinsus marinus* är A-listade av EU. A-listning innebär att det inte finns någon känd förekomst av patogenen inom unionen och att övervakning bör ske för att snabbt upptäcka introduktion. Vid fynd ska patogenen om möjligt utrotas. Det är därför väsentligt att ha bekräftande diagnostik för att möjliggöra tidig upptäck om misstanke uppstår vid histopatologisk undersökning. Dessa parasiter har aldrig påträffats i Sverige men är ett stort problem i många länder utanför EU. Metoderna är uppsatta, utvärderade och redo att användas.

Under året har också ett specifikt protokoll för obduktion och provuttag från blötdjur utarbetats. Detta på grund av att befintligt obduktionsprotokoll varit anpassat för fisk, vilket gör det lätt att missa viktiga observationspunkter. Den första sidan i obduktionsprotokollet återfinns i **Bilaga HB/SB**. Efterföljande sidor i protokollet är en upprepning av den nedre stora rutan för registrering av individer.

SÖTVATTENSLEVANDE BLÖTDJUR

Flodpärlmusslan är en hotad art och i flera svenska populationer har hög dödlighet noterats de senaste åren. Det är oklart exakt vad som är orsak till dödligheten och därför är det svårt att skapa ett hälsoövervakningsprogram. Under 2020 har Sportfiskarna samlat in 40 flodpärlmusslor från Stommebäcken och Teåkersälven, som båda mynnar i Teåkerssjön i Västra Götalands län. Bestånden har minskat kraftigt de senaste åren och massdöd har observerats. Dessa vattendrag är Tio musslor samlades från Stommebäcken och 20 musslor från Teåkersälven. Fem musslor togs även från en referenspunkt utan ökad dödlighet i vardera vattendrag. Undersökningarna bekostas av akutmedel. Musslorna har obducerats och histologiska prover har preparerats. Dock är proverna ännu inte bedömda. Detta ska göras snarast och en separat delrapport skrivs så snart resultat finns.

På initiativ av SVA och med stöd av SMHI har ett myndighetsövergripande nätverk skapats där frågor rörande hälsan hos flodpärlmusslan och hur situationen för arten ska förbättras diskuteras.

BILAGA HB/SB - OBDUKTIONS PROTOKOLL FÖR BIVALVER

Uppdrag ID	Ankomstdatum	Handläggare	Paket nr/märkning

Skick vid ankomst Ua levande fryst annat.....
 spritfixerat ruttet

Insändare / djurägare	

Noteringar:

Nr	Obduktionsfynd och undersökningar	Art	Kön	Vikt (g)	L (cm)	Hull	KF
Skal	u.a <input type="checkbox"/>	Uttagna prover <input type="checkbox"/> Bakt: <input type="checkbox"/> Virus: <input type="checkbox"/> Histo: <input type="checkbox"/> Parasit: <input type="checkbox"/> Annat: Övriga anteckningar:					
Mantel	u.a <input type="checkbox"/>						
Gälar	u.a <input type="checkbox"/>						
Muskel	u.a <input type="checkbox"/>						
Gonader	u.a <input type="checkbox"/>						
Fot	u.a <input type="checkbox"/>						
Mun	u.a <input type="checkbox"/>						
Mage	u.a <input type="checkbox"/>						
Digestionskörtel	u.a <input type="checkbox"/>						
Tarm	u.a <input type="checkbox"/>						
Hjärta	u.a <input type="checkbox"/>						
Njure	u.a <input type="checkbox"/>						

Del 7.

Rapportportalen

Rapportportalen har funnits tillgänglig sedan maj 2016 och var från början främst avsedd för rapportering av laxfisk. Förändringar har gjorts årligen för att öka användarvänligheten, men arbete kvarstår och det kommer sannolikt att vara en kontinuerlig process beroende på förändrade behov, framsteg inom IT etc. Totalt planerades förbättringar och aktiviteter på nio områden inför 2020. Dessa redovisas punktvis nedan med status genomfört/ej genomfört samt kommentar.

PLANERADE FÖRBÄTTRINGAR 2020

1. Ett "epost-larm" läggs in för att nya fynd ska upptäckas direkt, eftersom tidsbrist annars kan leda till att man glömmet att kontrollera rapportportalen.
Status: Genomfört. Funktionen lades in tidigt under 2020 och två personer på fisk får nu en daglig mailrapport från systemet, där det antingen står "inga fynd rapporterade igår" eller så står fynden listade och en direktlänk till fyndlistan finns med.
2. Rapportering av säl och tumlare har förekommit och dessa ska rapporteras till Naturhistoriska riksmuseet (NRM). För att undvika rapporter som måste vidare rapporteras kommer en kommentar tillsammans med länk till NRM att hänvisa anmälare till korrekt rapporteringssida för säl och tumlare.
Status: Genomfört. Högst upp i rapporteringsformuläret finns direktlänkar till de korrekta rapporteringssidorna.
3. En tanke avseende lättillgänglighet för brukaren var att skapa en app. Att utveckla en sådan är dock kostsamt. Rapportportalen finns i en mobilanpassad version och det finns möjlighet att lägga en applikande direktlänk på mobiltelefonens hemskärm. SVA kommer därför att via olika kanaler gå ut med uppmaning om att göra detta.
Status: Delvis genomfört. Punkten bör ses som ett kontinuerligt arbete snarare än en punkt som genomförs och sedan är klar. SVA påpekar hur rapportering kan underlättas närhelst rapportportalen nämns, till exempel i samband med föreläsningar.
Förbättringspotential: Gå ut med mer specifik information om möjligheten till FVOF, Sportfiskeföreningar etc.
4. SVA migrerade i början av 2020 sin web till en ny plattform med annorlunda struktur på hemsidan, vilket vi hoppades per automatik skulle leda till högre användarvänlighet då folk har haft svårighet att hitta länk till portalen på SVA:s hemsida.
Status: Genomfört. På SVA:s ingångssida www.sva.se finns en tydlig länk i högerspalten "Rapportera döda fiskar/vilda djur". En nackdel är att länken leder direkt till formuläret för att rapportera vilda djur (exkl fiskar) och man måste upptäcka att det finns en sida som rör rapportering av fisk i övre listen. För den som går in på Fisks ingångssida om vild fisk, kräftdjur, musslor och ostron <https://www.sva.se/vilda-djur/fisk-kräftdjur-musslor-och-ostron/> finns tre tydliga länkar i blått, varav en heter "Rapportera sjuka eller döda fiskar".
Förbättringspotential: Länken på SVA:s ingångssida borde i stället leda till sidan "Inledning" <https://rapporteravilt.sva.se/Home/Inledning> som är kopplad till rapporteringen. Här finns nämligen tydliga länkar beroende på om man vill rapportera fisk,

vilda djur, sälar eller tumlare vilket även underlättar för rapportörer av de två sistnämnda djurslagen.

5. Sportfiskarna har meddelat att de har för avsikt att lägga med länk till och information om rapportportalen i samband med att digitala fiskekort skickas när man köper fiskekort via www.fiskekort.se. Länk och information kommer även finnas på www.fiskekort.se och på www.sportfiskarna.se, samt en folder med information kommer att läggas med till det informationsmaterial Sportfiskarna lämnar ut på Sportfiskemässan.
Status: Ej genomfört. Information finns varken på www.fiskekort.se eller www.sportfiskarna.se. Folder delades aldrig ut eftersom Covid-19 stoppade sportfiskemässan.
Förbättringspotential: Under 2021 måste SVA jobba för att Sportfiskarna lägger ut informationen på respektive sidor. Då ingen sportfiskemässa kommer att genomföras får foldern vänta till 2022.
6. Fiskevattenägarna är villiga att lägga in en länk till rapportportalen på www.ifiske.se.
Status: Ej genomfört. Information saknas på www.ifiske.se
Förbättringspotential: Under 2021 måste SVA jobba för att Fiskevattenägarna lägger ut länken på sidan.
7. FVOF i de olika länen bör få information om rapporteringsmöjligheten (via Länsstyrelsen?) och FVOF bör uppmuntra sportfiskare att rapportera.
Status: Delvis genomfört. SVA påminner länsstyrelser om rapportfunktionen och även FVOF som vi kommer i kontakt med. Punkten får ses som en del i ett kontinuerligt arbete
Förbättringspotential: Mer aktivt jobba för att få ut information till FVOF.
8. Göra portalen mer intressant för fiskare och allmänhet samt i större utsträckning göra information mer lättanvänd för media. Planen var att skapa en diagramfunktion som uppdateras veckovis. Diagram skulle göras för all rapportering, all lax samt vid behov för enskilda vattendrag.
Status: Delvis genomfört. En diagramfunktion har genererats men det var oklart om det gick att få dem automatiskt upplagda eller om Fisk var tvungna att lägga upp dem manuellt, vilket blir ett extra arbetsmoment. Dessutom blev de automatgenererade diagrammen inte bra. Projektet gick i stå på grund av ökad arbetsbelastning både på Fisk och IT.
Förbättringspotential: Diagramfunktionen kommer att ses över både avseende utseende/användarvänlighet och att de bör läggas upp per automatik.
9. SVA skulle stå i myndighetsmontern på sportfiskemässan 2020 för att informera om rapportportalen och ge besökare möjlighet att testrapportera på plats för att öka medvetenheten hos fiskeintresserade. Det var även planerat att vi skulle hålla ett kort föredrag för att lyfta fram vikten av rapportering.
Status: Ej genomfört då Sportfiskemässan ställdes in på grund av Covid-19.
Förbättringspotential: Sportfiskemässan ska genomföras 2022. SVA har betalat för platsen i myndighetsmontern 2020, vilket innebär att vi kan delta 2022 istället.

INFÖR 2020 ICKE PLANERADE AKTIVITETER SOM GENOMFÖRTS

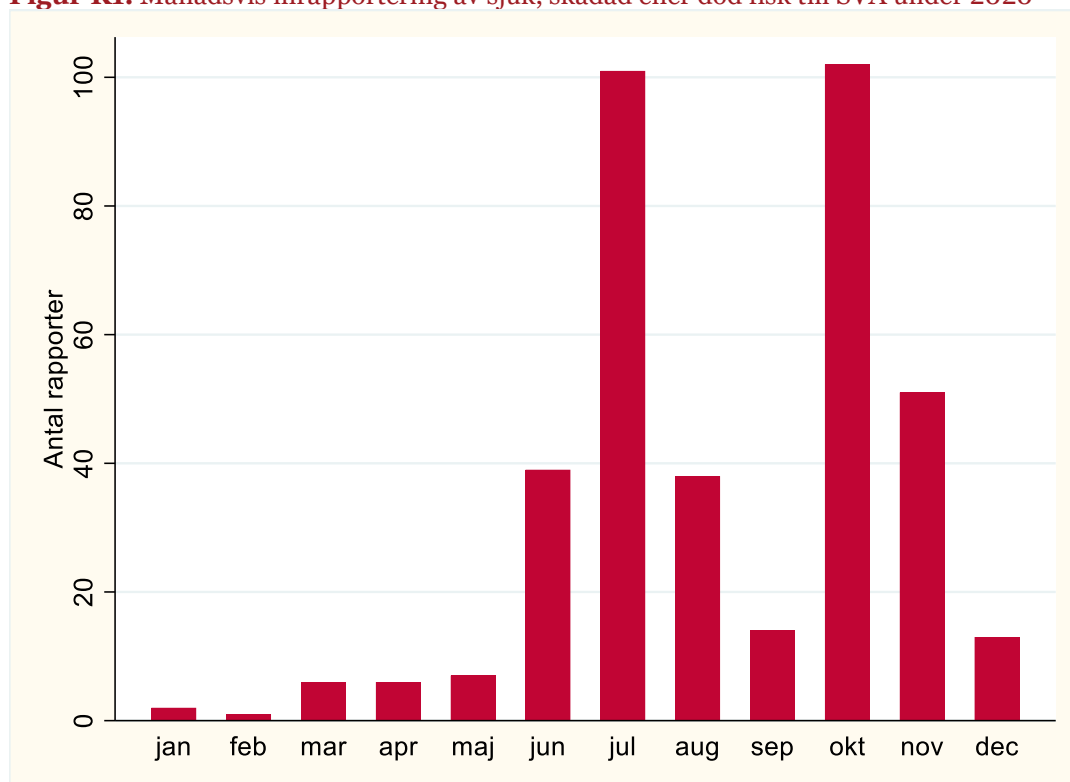
Tidigare har allmänheten kunnat övervaka inrapporterade fynd via en karta där fynden plottas ut automatiskt med hjälp av angivna koordinater (<https://rapporterafisk.sva.se/Fynd/Map>). Kartan är sökbar utifrån år (fr o m 2017) samt fiskgrupp. I slutet av 2020 skapades även en förenklad och anonymiserad version (utan namn eller kontaktuppgifter till rapportör) som öppna data: <https://rapporterafisk.sva.se/Fynd/InrapporteradeFynd>. Samtidigt skapades en funktion som genererar län och kommun för respektive fynd utifrån angivna koordinater. I listan syns rapporteringsdatum, fiskgrupp, fyndplats, län, kommun, latitud och longitud och det går att filtrera data utifrån dessa variabler. Det möjliggör för till exempel länsstyrelser att snabbt kontrollera sin region avseende eventuella fynd. För att optimera funktionen bör dock variabeln ”fyndplats” bytas mot ”vattensystem” då ”fyndplats” till exempel kan representeras av text som ”vid strandkanten” eller ”längs promenaden”.

SUMMERING AV INKOMNA RAPPORTER 2020

Tids- och artmässig fördelning av rapporter

Under 2020 kom totalt 380 rapporter avseende fisk in via SVA:s rapporteringssida. Antalet rapporter för 2020 var lägre än för 2019 (456 st). Rapportering skedde under alla årets månader. Rapporteringen per månad var: januari 2 st, februari 1 st, mars 6 st, april 6 st, maj 7 st, juni 39 st, juli 101 st, augusti 38 st, september 14 st, oktober 102 st, november 51 st och december 13 st (**Figur R1**). Ett bimodalt mönster kan ses med en topp under sommaren och en topp under senhösten.

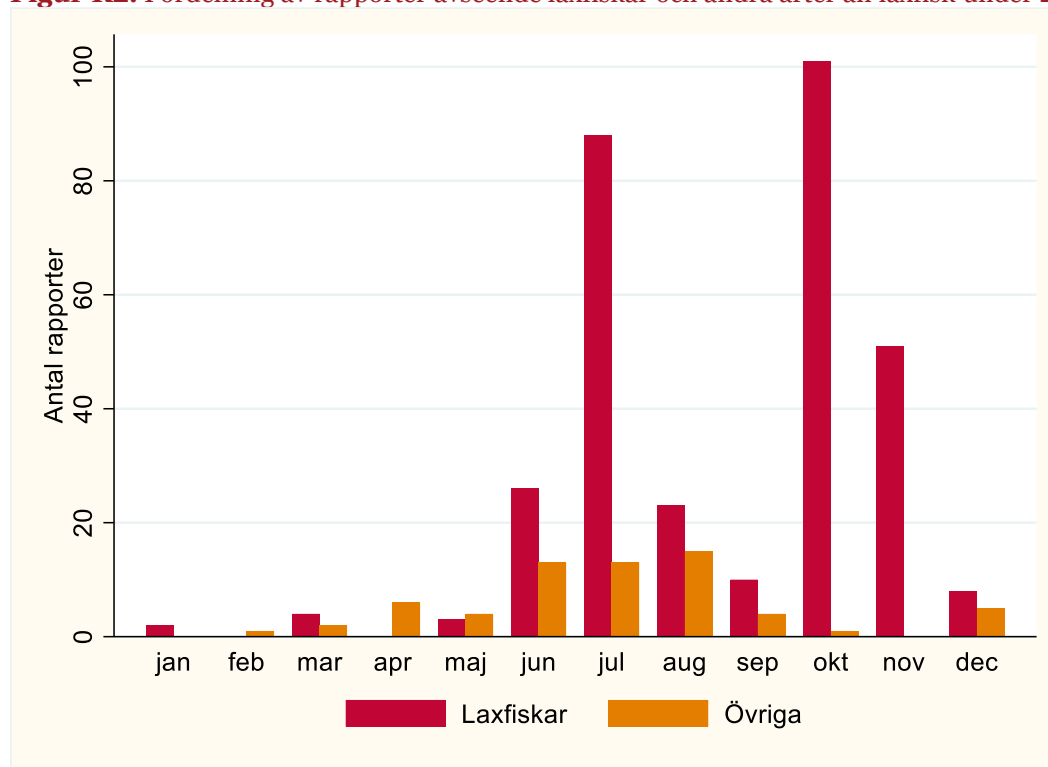
Figur R1. Månadsvis inrapportering av sjuk, skadad eller död fisk till SVA under 2020



Laxfiskar dominerade rapporteringen med 316 rapporter, vilket innebär att 64 rapporter rörde andra fiskfamiljer. Det var också laxfiskarna som bidrog till det bimodala mönstret (**Figur R2**).

Det bimodala mönstret avseende rapportering om laxfiskar har setts under alla fem år som portalen varit aktiv. Topparna kom under juli och oktober, vilket är samma månader som 2019.

Figur R2. Fördelning av rapporter avseende laxfiskar och andra arter än laxfisk under 2020.



I årets rapportering för familjen laxfiskar ingick arterna lax (*Salmo salar*), havsöring och stationär öring (*Salmo trutta*), sik (*Coregonus* sp.), röding (*Salvelinus alpinus*) och harr (*Thymallus thymallus*). I det fall där art inte kunde säkerställas (lax eller havsöring) benämns rapporterna som ”laxfisk annan”. Lax dominerade antalet rapporter följt av havsöring, sik, röding, stationäröring och harr. (**Tabell R1**).

Tabell R1. Fördelning av rapporter inom gruppen laxfiskar under 2020

Art	Antal
Lax	216
Havsöring	41
Sik	20
Röding	11
Laxfisk annan	15
Stationär öring	10
Harr	3
Totalt	316

Avseende andra inrapporterade arter än laxfiskar förekom främst gädda och abborre, och arter från sammanlagt 13 andra fiskfamiljer rapporterades. För rapporter där art ej kunde fastställas utan endast familj klassas art som ”familjenamn annan” (**Tabell R2**).

Tabell R2. Fördelning av rapporter per fiskgrupp utom laxfiskar under 2020

Familj	Art	Antal
Gäddor	Gädda	20
Abborrfiskar	Abborre	12
	Abborrfiskar annan	1
Karpfiskar	Björna, Braxen, Faren	6
	Löja (benlöja)	2
	Sutare	1
Ålfiskar	Ål	5
Plattfiskar	Skrubba	4
Spiggar	Storspigg	2
	Spigg annan	2
Torskfiskar	Torsk	2
Makrillfiskar	Makrill	1
	Tonfisk	1
Kantnålsfiskar	Kantnålsfiskar annan	1
Nejonögonfiskar	Havsnejonöga	1
Smörbultfiskar	Svartmunnad smörbult	1
Makrillgäddefiskar	Makrillgädda	1
Klumpfiskar	Klumpfisk	1
Totalt		64

Typ av observationer

”Fångst-/observationsmetod” (**Tabell R3**) har registrerats eller i efterhand kunnat kategoriseras för 315 rapporter. Vanligast var att fisken var svag/döende (92 st) följt av observerad död (88 st), fiskar som hade fiskats med spinnspö (43 st) eller flugspö (26 st). Dessutom hade 21 nätfångster, sex fångster med håv och två fällfångster noterats. 37 fall är kategoriserade som ”Annan”. För 65 rapporter om saknas fångst-/observationsmetod.

Tabell R3. Fördelning av fångst-/observationsmetoder i rapporter för 2020

”Fångstmetod” Art/fiskgrupp	Totalt	Död	Svag/ döende	Spinn	Fluga	Trolling/ harling	Pimpel	Nät	Håv	Fälla	Annan	Okänt
Lax	216	58	62	16	22	-	-	4	1	-	14	39
Lax el. havsöring	15	2	3	1	-	-	-	-	-	-	4	5
Havsöring	41	6	18	3	-	-	-	-	-	-	6	8
Stationär öring	10	1	4	1	1	-	-	-	-	-	1	2
Röding	11	2	1	5	-	-	-	-	-	1	2	-
Sik	20	1	1	-	-	-	-	13	1	-	-	4
Harr	3	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1
Abborrfiskar	13	2	-	4	-	-	-	1	1	1	3	1
Gädda	20	3	-	10	2	-	-	1	-	-	3	1
Karpfiskar	9	2	2	-	-	-	-	1	1	-	3	-
Plattfiskar	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ål	5	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2
Övriga	13	5	1	2	-	-	-	-	2	-	1	2
Totalt	380	88	92	43	26	-	-	21	6	2	37	65

Typ av skada/symptom har angetts i 355 rapporter. I 246 rapporter har ett symptom noterats, i 55 rapporter har två symptom noterats och i resterande 54 rapporter har tre till sex symptom noterats. Svamp var det vanligaste symptomet och förekom i totalt 224 rapporter (**Tabell R4**), varav 161 rapporter angav svamp som enda symptom. Svamp representerades därmed i flertalet rapporter med multipla symptom. Trasiga fenor, rodnad och hudblödning rapporterades ofta på svampangripen fisk, men när fisken väl är svampangripen är det svårt att avgöra om rodnad eller blödning är orsakat av svampen eller fanns där från början och det är sannolikt att många av de övriga symptom som noterats (t ex rodnad och blödning) är relaterade till svampangreppet och inte har föregått detta. Likaså förekom ”utvärtes parasiter” tillsammans med svamp i nio rapporter, och utifrån bifogade foton har sannolikt svampen tolkats som en parasit. Sårskador som rapporterades var både av mekaniskt, misstänkt infektiöst eller oklart ursprung (gamla, inflammerade sår).

Tabell R4. Symptom som rapporterats under 2020. Alla enskilda registreringar av symptom finns med i tabellen, vilket innebär att samma rapport i 109 fall representeras av minst två symptom.

Rapporterat symptom	Antal
Ingen synlig skada	22
Bit-/rivsår	19
Annat sår	35
Rodnad	38
Blödning	39
Fjällförlust	28
Svamp	224
Utvärtes parasiter	18
Invärtes parasiter	17
Trasiga fenor	42
Annan typ av fläckar	29
Annat	42

DISKUSSION

Rapporteringen av laxfiskar fortsätter att vara hög, vilket är kopplat såväl till den pågående hälsoproblematiken som till att det är en populär art att sportfiska. Antalet rapporter från allmänhet/lokalbefolkningen avseende laxfisk är också relativt hög men vi vet att under-rapportering förekommer från till exempel Kalixälvsområdet trots att det ska finnas kännedom om rapporteringsmöjligheten. Därmed blir det svårt att följa utvecklingen i dessa älvsystem.

Kvaliteten på rapporteringen varierar. Vid rapportering är det obligatoriskt att fylla i vattensystem, fiskgrupp (ett antal olika förval, dvs. ej fritext), kön, längd och vikt och det har förekommit enstaka rapporter där vattensystem anges som ”älv” och sedan anges till exempel laxfisk och kön men längd och vikt sätts till noll. En sådan rapport måste kasseras då det inte går att avgöra vilket vattensystem den berör. Detta handlar dock om enstaka rapporter. Flertalet lämnar kontaktuppgifter vilket har gjort att vi kunnat komplettera vid avsaknad av uppgifter, funderingar eller till och med ta in fisken i fråga för undersökning. Många rapportörer noterar under ”Övrig information” att de vill veta vad det är de har observerat för förändring eller konstig fisk. Vi gör vårt bästa för att hinna med att återkoppla, det händer ofta att vi mejlar och tackar för rapporten bara för att visa vår uppskattning.

Rapportportalen är ett bra verktyg för passiv övervakning och vi jobbar kontinuerligt för att förbättra användarvänligheten för både rapportörer och oss själva.

Del 8.

Invasiva främmande arter

SAMMANFATTNING

Havsborstmasken *Polydora websteri*, en invasiv främmande art, upptäcktes i Stillahavsostrom (*Magallana gigas*) på västkusten hösten 2020. Vi undersökte inhemska platta ostron (*Ostrea edulis*) från två produktionsområden, fixerade havsborstmaskar från platta ostron i området där *P. websteri* först påvisades samt fixerade havsborstmaskar från Stillahavsostrom i ett produktionsområde. Flera olika arter av havsborstmask, inklusive en potentiell *Polydora* sp, påvisades. *Polydora websteri* påvisades inte i platta ostron men påvisades i Stillahavsostrom från en lokal.

INTRODUKTION

Under oktober 2020 rapporterades fynd av skalskador hos Stillahavsostrom (*M. gigas*). Djuren hade samlats in utanför Lysekil, inom ett forskningsprojekt där Svenska Miljöinstitutet (IVL) studerar jätteostron, efter att en ostronodlare uppmärksammat IVL på problemet. I skalskadorna hittades havsborstmask, som med hjälp av DNA-sekvensering kunde hänföras till arten *Polydora websteri* (SeAnalytics AB, 2020), en skalborrande havsborstmask som anses vara en invasiv främmande art och som inte tidigare beskrivits i Sverige. Det är oklart om *P. websteri* också kan orsaka skador hos vårt inhemska platta ostron (*Ostrea edulis*).

Syfte

Undersökningar har under november och december genomförts för att se om *P. websteri* kan påvisas i inhemska platta ostron med skalskador. I tillägg har fixerade havsborstmaskar från platta ostron samt Stillahavsostrom analyserats under januari – februari 2021.

MATERIAL OCH METODER

Provinsamling

SVA undersökte 60 ostron som skickats in för övervakning avseende bonamios och martelios inom ett projekt finansierat av Europeiska havs- och fiskerifonden. Ostronen samlades in utanför Norra Fjällbacka (n=30, produktionsområde 123) respektive utanför Stenungssund (n=30, produktionsområde 158, Halsefjorden) (**Bild IAS1**). Dessutom undersöktes spritfixerade havsborstmaskar från platta ostron i Kalvhagen, Gåsö (stjärna, **Bild IAS1**), den lokal där *P. websteri* först identifierades, samt spritfixerade havsborstmaskar från Stillahavsostrom insamlade från produktionsområde 158 (Halsefjorden) (**Bild IAS1**). De fixerade havsborstmaskarna skickades in av Livsmedelsverket i Uddevalla samt IVL/Svenska Miljöinstitutet AB i Fiskebäckskil.

Obduktion av platta ostron

I samband med ordinarie provuttag för analys av *Marteilia refringens* och *Bonamia ostreae* (ostron från Fjällbacka och Stenungssund) har förekomst av skalskador dokumenterats och skal-skadornas utseende samt grad bedömts. Skadade områden har undersökts avseende förekomst av borstmaskar, som i sin tur utvärderats avseende morfologiska artkaraktäristika.

Fixerade havsborstmaskar

Från Gåsö undersöktes sex havsborstmaskar från sex platta ostron. Från Halsefjorden undersöktes sex havsborstmaskar från lika många Stillahavsostrom. Några prover var märkta ”stor

havsborstmask”, dvs. de hade identifierats som morfologiskt annorlunda än övriga fixerade havsborstmaskar.

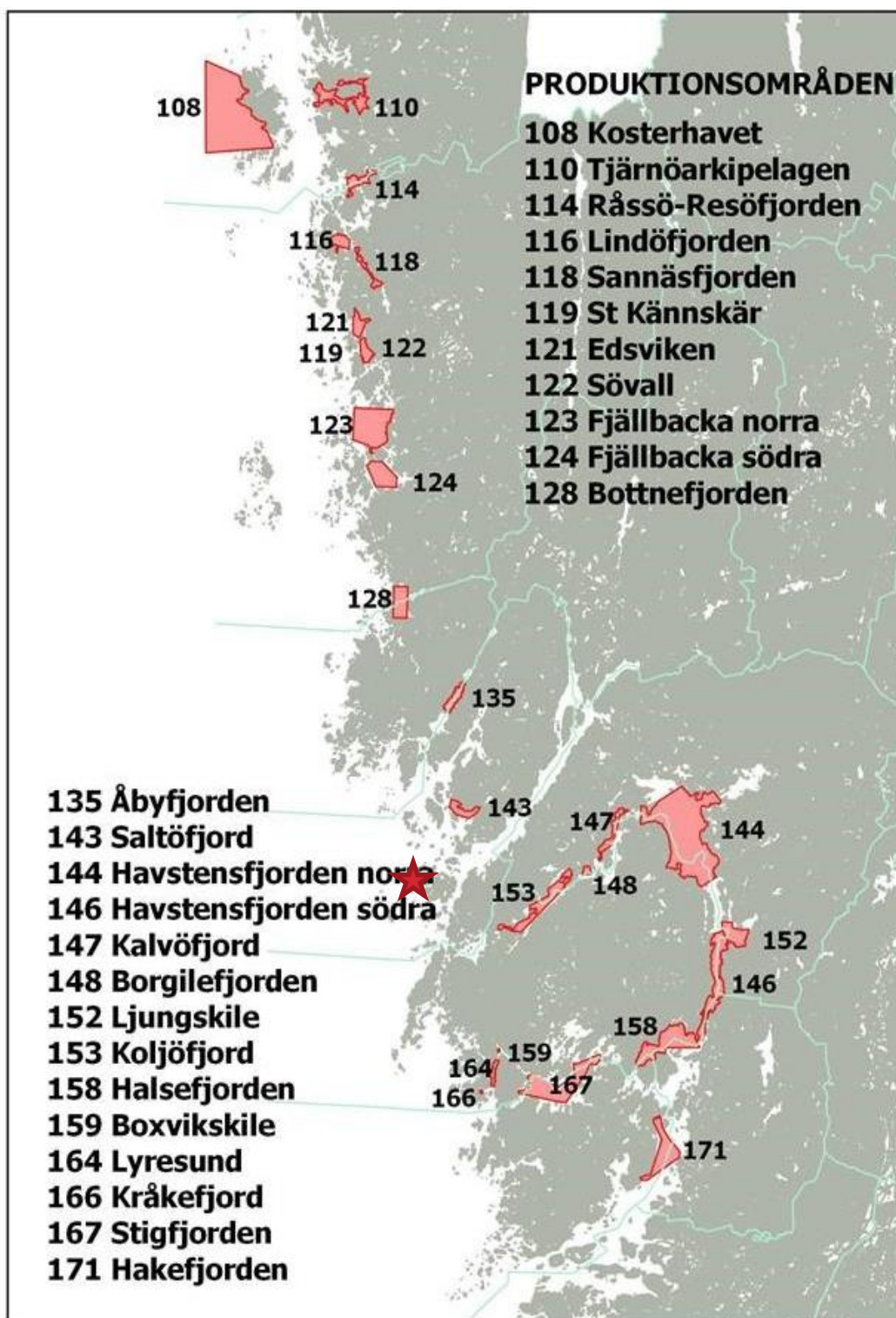


Bild IAS1: Produktionsområden för blötdjur i Sverige, karta från Livsmedelsverket. Platta ostron från område 123 och 158 har undersökts. Fixerade havsborstmaskar från Stillaohavs-ostron från område 158 har undersökts. Dessutom har fixerade havsborstmaskar från platta ostron insamlade vid Gåsö (röd stjärna) undersökts. Det var i detta produktionsområde *P. websteri* först påvisades på Stillaohavsostron.

Laboratorieanalyser

Två gener som generellt används för att karakterisera havsborstmaskar, 18S rRNA och cytochrome oxidase I (COI) har amplifierats med hjälp av konventionell PCR. För COI har två PCR använts, en allmän men som inte identifierar *Polydora* (COI F) en som specifikt identifierar *Polydora* (COI D) (Folmer et al., 1994; Williams et al., 2017; Martellini et al., 2019). PCR-produkterna sekvenserades och sekvenserna har jämförts med sekvenser i GenBank; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

RESULTAT

Obduktion av platta ostron

Nio (30%) platta ostronen från Fjällbacka och 11 (37%) platta ostronen från Halsefjorden hade skalskador. Vanligaste typen av skada var förtunnade innerskal, där insidan av skalet krackelerade som om det vore flera tunna lager av is som lätt bryts sönder vid tryck, se **Bild IAS2**. Andra observationer har varit smala gångbildningar, uppluckring där skalet lokalt har pulveriserats/blivit skörare eller en allmän försvagning där skalet lätt kunnat brytas itu vid skalöppning. I dessa skador, mellan inner- och ytterskal, påträffades havsborstmaskar (hos åtta ostron) eller stora äggliknande strukturer (hos ett ostron). I flera fall har det rört sig om juvenila borstmaskar utan tydliga artkaraktistika.



Bild IAS2. Platt ostron från Fjällbacka, uppvisande skalskada orsakad av havsborstmask.

Laboratorieanalyser

Från några ostron har flera maskar preparerats och analyserats. En PCR-produkt samt sekvens för 18S och/eller COI erhöles för havsborstmaskar från åtta platta ostron från Fjällbacka och sex platta ostron från Halsefjorden. Produkt och sekvens från minst en av generna erhöles också från fixerade havsborstmaskar från fem platta ostron (Gåsö) samt alla sex Stillahavsostrom från Halsefjorden. Totalt har fem olika arter av havsborstmask och dessutom flera familjer/genera där art inte kunnat bestämmas definitivt påvisats (**Tabell IAS1**). Fyra av dessa finns representerade i **Bild IAS3 A-D**.

Tabell IAS1. Resultat av DNA-sekvensering av havsborstmaskar från platta ostron och Stillahavsostron insamlade under senhösten 2020.

Individ ¹	Ostronart ² , prod.plats	Resultat av blastning mot Genbank		
		18S ³	COI F	COI D
SVA6		<i>Eulalia</i> sp.	<i>Eulalia viridis</i>	-
SVA10		<i>Platynereis</i> sp.	<i>Platynereis dumerilii</i> (R)	-
SVA14a		Ingen produkt	<i>Eulalia viridis</i>	-
SVA22c		<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA22d	<i>Oe</i> ,	Ingen produkt	<i>Dodecaceria concharum</i> (F)	-
SVA26	Fjällbacka	<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA28	norra	<i>Typosyllis</i> sp.	Ingen träff	-
SVA29a	123	<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA29b		<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i> (F)	-
SVA29c		Ingen produkt	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA30a		<i>Troligen Polydorid</i>	Ingen produkt	<i>Polydora</i> sp.
SVA30b		<i>Troligen Polydorid</i>	Ingen produkt	<i>Polydora</i> sp.
SVA31a		<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA31b		<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA31c		<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA31d	<i>Oe</i> ,	<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	<i>Dodecaceria concharum</i>	-
SVA32	Halsefjorden	<i>Troligen Alitta</i> sp.	<i>Alitta/Hediste</i>	-
SVA33	158	<i>Troligen Polydorid</i>	Ingen produkt	Ingen produkt
SVA34		<i>Troligen Alitta</i> sp.	<i>Alitta/Hediste</i>	-
SVA35a		<i>Nereimyra</i> sp.	Ingen träff	-
SVA35b		<i>Troligen Alitta</i> sp.	<i>Alitta/Hediste</i>	-
SVA36		<i>Troligen Alitta</i> sp.	<i>Alitta/Hediste</i>	-
IVL1		<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	Ingen träff	-
IVL2		Ingen träff	Ingen träff	-
IVL3	<i>Oe</i> , Gåsö	<i>Platynereis</i> sp.	<i>Platynereis dumerilii</i>	-
IVL4		<i>Ctenodrilus/Dodecaceria</i>	Ingen träff	-
IVL5		<i>Platynereis</i> sp.	<i>Platynereis dumerilii</i>	-
IVL6		<i>Pygospio</i> sp.	Ingen träff	-
SLV6		<i>Polydora</i> sp.	Ingen produkt	Ingen produkt
SLV8		<i>Polydora</i> sp.	Ingen produkt	<i>Polydora websteri</i>
SLV11	<i>Mg</i> ,	<i>Polydora</i> sp.	Ingen produkt	<i>Polydora websteri</i>
SLV12	Halsefjorden	<i>Polydora</i> sp.	Ingen produkt	<i>Polydora websteri</i>
SLV13	158	<i>Polydora</i> sp.	Ingen produkt	<i>Polydora websteri</i>
SLV14		<i>Troligen Alitta</i> sp.	Ingen träff	-

¹ a-d efter individnumret innebär att har flera DNA-preparationer gjorts; ² *Oe*=*Ostrea edulis*, *Mg*=*Magallana gigas*; ³ Artbestämning utifrån 18S ej tillförlitlig, resultatet av blastning måste ses som ett riktmärke och behöver kompletteras med COI-sekvensering; (F) = enbart forward-sekvens läsbar (R) = enbart reverse-sekvens läsbar

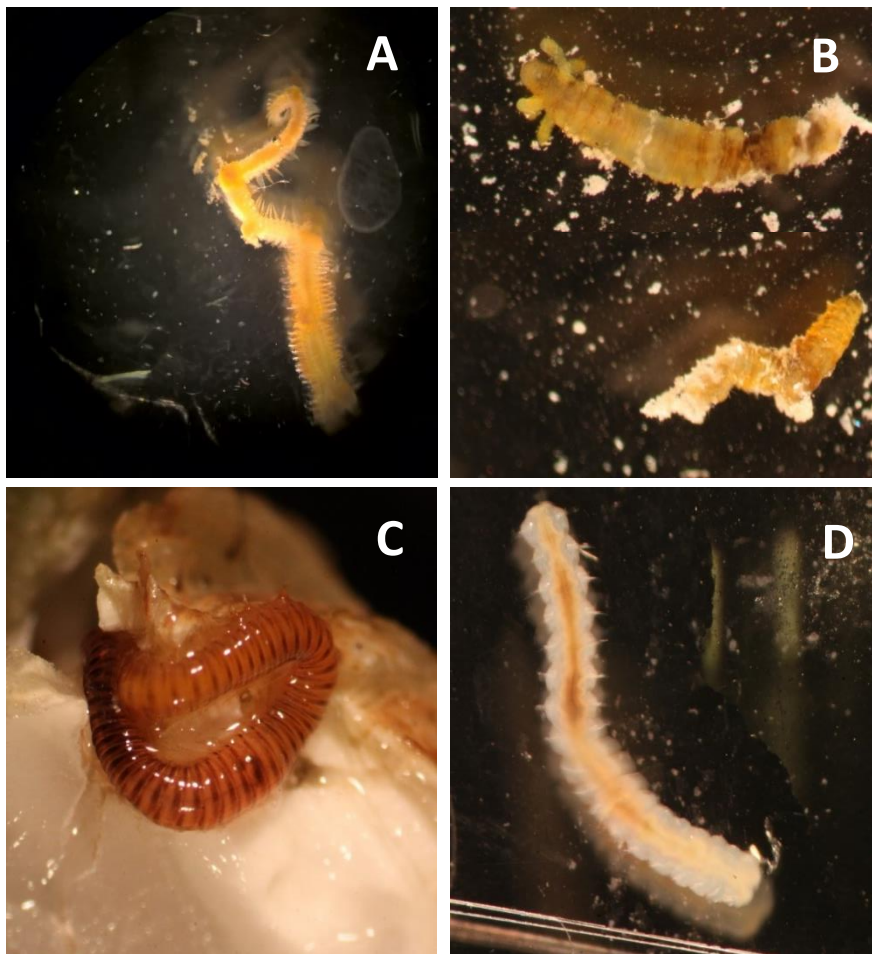


Bild IAS3. A) *Eulalia viridis*, B) *Dodecaceria concharum*, C) *Typosyllis* sp., D) *Polydora* sp. Fotografierna är tagna i samband med SVA:s undersökningar av ostron från Fjällbacka norra.

Enligt Dyntaxa (Svensk taxonomisk databas, www.dyntaxa.se) är arterna *Dodecaceria concharum* (saknar svenskt namn), *Eulalia viridis* (pistagepaddelfoting) och *Platynereis dumerilii* (ålgräsrovmask) bofasta och reproducerande i Sverige. *Dodecaceria concharum* är enligt Evans (1969) en kalkborrande art, men föredrar äldre skal där *Polydora*-arter redan borrar hål. *Dodecaceria concharum* bildar då kolonier och utvidgar befintliga hål. På Artdatabankens hemsida står att "Arten är beskriven ur 'maskstungna' ostronskal fr. Skagen, Fredrikshavn & Hellebæk" (<https://www.artdatabanken.se/globalassets/ew/subw/artd/1-om-arter-och-natur/fakta-om-arter/hansson/annelida-sipunculaskarp>). För pistagepaddelfotingen finns flera studier av födobiologi genomförda, men de är gjorda på Brittiska öarna, på en sydlig variant som numera anses vara en egen art (*E. clavigera*). *Eulalia clavigera* lever på dött material (Rodrigo et al., 2015). Om samma födobiologi gäller för pistagepaddelfotingen är den troligen ett sekundärfynd. Ålgräsrovmasken beskrivs trots sitt namn som en herbivor (Gambi et al., 2011), och orsakar troligen inga skador på ostron. Sekvenserna som ger resultatet *Typosyllis* sp. är mest lika en art som heter *Typosyllis armillaris*, syn. *Syllis armillaris*, som är bofast i Sverige. SVA har inte kunnat hitta någon uppgift om dietval hos denna art och det finns en mängd olika *Syllis*-arter som är herbivorer, omnivorer eller detritivorer. Vad gäller *Pygospio* sp. är arten *Pygospio elegans* bofast i Sverige och lever av fytoplankton (<https://artfakta.se/naturvard/taxon/pygospio-elegans-227345>). Släktet *Alitta* omfattar fyra arter, varav två är kända från svenska vatten

(<https://artfakta.se/artbestamning/taxon/alitta-1015937>). Arterna kan bli upp till en meter långa och är inte parasitära, utan livnär sig på döda växt- och djurdelar. Sekvenserna för *Nereimyra* sp. liknar *Nereimyra punctata* (tigersprattelmasken), som är en av de vanligaste sprattelmaskarna i Sverige (<https://artfakta.se/artbestamning/taxon/nereimyra-punctata-226847>). De vuxna djuren är aktiva rovdjur som livnär sig av små ryggradslösa djur, framför allt andra havsborstmaskar och kräftdjur, men de beskrivs inte som kalkborrande. *Polydora* sp. tillhör gruppen polydorider, som är kända för att kunna borra hål i olika typer av kalkmaterial. Om det fynd vi gjort från ett platt ostron verkligen tillhör *Polydora* sp. eller någon annan art av polydorider kan vi inte säkert säga, det finns för få referenssekvenser tillgängliga och vi får inte någon exakt träff på erhållna sekvenser mot någon tidigare beskriven art. Vi kan dock utesluta att det rör sig om *P. websteri*, som är väl beskriven och där det finns många deponerade sekvenser att tillgå. Två arter av *Polydora* (*P. ciliata* och *P. cornuta*) är bofasta och reproducerande i Sverige (<https://artfakta.se/artbestamning/taxon/polydora-1007532>).

Utöver havsborstmaskar hittades flera äggcellslikande strukturer (**Bild IAS4**). Då juvenila borstmaskar påvisats gick det inte att utesluta att dessa strukturer indikerade förökning av någon borstmaskart, och därför preparerades och sekvenserades material från ett ostron. Resultatet från 18S-sekvensering visade på *Gromia* sp., encelliga eukaryoter tillhörande gruppen Cercozoa. De erhållna sekvenserna matchar inte mot någon tidigare beskriven art i GenBank. *Gromia* finns inte omnämnd i Dyntaxa eller i Artdatabanken, och har tidigare inte beskrivits från Sverige. I [Encyclopedia of life](#) beskrivs de som "Cercozoan amoeboids, common marine protists".



Bild IAS4. *Gromia* sp. fotograferad vid undersökningar av platta ostron från Fjällbacka.

DISKUSSION

SVA har inte påvisat *P. websteri* i något prov från platta ostron, däremot kan vi bekräfta fyndet av arten i Stillahavsstron från en av provtagningspunkterna som ingick i vårt material. Att inkludera havsborstmaskar från platta ostron vid Gåsö var mycket viktigt, eftersom detta område uppenbart hade Stillahavsstron infekterade med *P. websteri*. Sannolikheten att påvisa *P. websteri* skulle därmed vara hög om även våra platta ostron var infektionskänsliga för arten. Vi kunde också visa att *P. websteri* förekommer i Stillahavsstron i Halsefjorden (produktionsområde 158) men inte i platta ostron i samma område. Detta talar ytterligare för att *P. websteri* inte infekterar platta ostron. Att *P. websteri* påvisats i Stillahavsstron i två relativt geografiskt skilda lokaler indikerar att introduktionen inte är helt ny, utan har skett för något/några år sedan.

Skalskador hos platta ostron i Sverige finns beskrivet sedan tidigare, och det har förekommit på ostron som SVA provtagit inom hälsoövervakningen av musslor och ostron. Dock har SVA inte tidigare noterat skador i den omfattning som förekommit i höstens prover. De skalskador SVA noterat hos platta ostron från Fjällbacka och Stenungssund varierar till utseende och utbredning och stämmer dåligt överens med de skador som drabbar Stillahavsostrom infekterade med *P. websteri* (mörka fläckar under pärlemorskiktet på insidan av skalet, hålbildningar med ansamlingar av sediment) men är ändå oroande. Av de undersökta ostronen uppvisade totalt 33% skalskador som innehöll havsborstmaskar eller stora encelliga organismer. De flesta havsborstmaskar som påvisades på platta ostron är bofasta och reproducerande i Sverige. Den dominerande arten som påträffades var *Dodecaceria concharum*. Det är känt att denna art kan borra sig in i skal, men oftast sker invasionen efter att skalet redan skadats, till exempel av kalkborrande *Polydora*-arter.

18S-genen har inte tillräcklig upplösning för definitiv artbestämning, vilket innebär att arttillhörighet inte kan säkerställas vid avsaknad av COI-sekvens. Detta gäller till exempel provet med *Nereimyra* sp., som var mycket lik *Nereimyra punctata* (tigersprattelmask) på 18S. Med tanke på att tigersprattelmask är vanligt förekommande i Sverige är det troligt att det rör sig om den arten. En ytterligare komplikation avseende artbestämning är att det finns väldigt lite sekvenseringsdata avseende COI hos vissa genera deponerat i GenBank samtidigt som det finns många tusen arter av havsborstmaskar beskrivna utifrån morfologi. I många fall var de havsborstmaskar som undersöktes juvenila, vilket innebär att artkaraktistika saknades och inte kunde användas som komplement till den genetiska undersökningen.

Ett fynd av vad som troligen är en *Polydora*-art på platta ostron är oroande. Denna kan vara den primära orsaken till de observerade skalskadorna, varpå andra havsborstmaskar och parasiter/detritivorer kan passera in och förvärra skadorna hos ostronen. Att dessa skador påträffas nu skulle kunna bero på att andra främmande *Polydora*-arter än *P. websteri* hittat till de svenska kustområdena. Det skulle också kunna bero på av klimatförändringar som orsakar uppvärmning och försurning av havet. Detta kan i sin tur förändra den kemiska sammansättningen i skalen och göra dem skörare och därmed mer utsatta för skador av inhemska arter av havsborstmaskar som tidigare inte utgjort något stort problem.

SLUTSATS

Polydora websteri har ännu inte påvisats i platta ostron, inte ens i en lokal där Stillahavsostrom är hårt drabbade, men frekvensen skalskador och förekomst av flera olika arter av havsborstmaskar i skadorna är oroande. Dessutom finns några fynd där art inte kunnat identifieras. För att följa utvecklingen bör makroskopisk undersökning av skalskador ingå rutinmässigt i den fortsatta övervakningen av hälsan hos platta ostron och blåmusslor. Potentiella *Polydora*-maskar bör undersökas med PCR och sekvensering åtminstone tills det säkerställts vilken art det rör sig om, samt vid tydliga indikationer på fynd av *Polydora websteri*.

REFERENSER

- Evans, J.W. (1969). Borers in the shell of the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *American Zoologist* 9: 775-782
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299
- Gambi, M.C., Zupo, V., Buia, M.C., Mazzella, L. (2000). Feeding ecology of *Platynereis dumerilii* (Audouin & Milne-Edwards) in the seagrass *Posidonia oceanica* system: The role of the epiphytic flora (Polychaeta, Nereididae). *Ophelia* 53 (3): 189-202
- Martinelli, J.C. et al. 2019, Lopes, H.M., Hauser, L., Jimenez-Hidalgo, I., King, T.L., Padilla-Gamiño, J.L., Rawson, P., Spencer, L.H., Williams, J.D., Wood, C.L. (2019). Confirmation of the shell-boring oyster parasite *Polydora websteri* (Polychaeta: Spionidae) in Washington State. *Scientific Reports* 10, Artikel nr 3961 (2020). <https://www.nature.com/articles/s41598-020-60805-w>
- Rodrigo, A.P., Costa, M.H., Alves de Matos, A.P., Carrapiço, F., Costa, P.M. (2015). A study on the digestive physiology of a marine polychaete (*Eulalia viridis*) through microanatomical changes of epithelia during the digestive cycle. *Microscopy and Microanalysis* 21(1): 91-101. doi: 10.1017/S143192761401352X
- SeAnalytics (2020). DNA-based species identification. Report no 2020:24, <http://seanalytics.se>
- Williams, L.G., Karl, S.A., Rice, S., Simon, C. (2017). Molecular identification of polydorid polychaetes (Annelida: Spionidae): is there a quick way to identify pest and alien species? *African Zoology* 52 (2). <https://doi.org/10.1080/15627020.2017.1313131>