

# Hälsöövervakning av vildlevande fisk, kräftdjur och blötdjur 2022

---

oktober 2023



Diarienummer hos SVA: SVA AVTAL 2021/39

Diarienummer hos HAV: 741-21

Publiceringsdatum: 23-10-2023

Revideringar:

Huvudförfattare: Charlotte Axén

Övriga författare: Hampus Hällbom, Anna Aspán, David Persson, Ludvig Orsén

Omslagsbild: Jorunn Hellman, krabbtaska rapporterad från Tjuvkils huvud 2022-05-06

## Innehåll

Inledning .....	9
Bakgrund .....	9
Uppdrag .....	9
Kvalitetssäkring vid SVA .....	11
Del 1. Havslevande fisk .....	12
Övervakning av torsk, sandskädda och skrubbskädda .....	12
Sammanfattning .....	12
Syfte .....	13
Material och metoder .....	13
Provinsamling .....	13
Obduktion och provuttag .....	14
Laboratorieanalyser .....	14
Databearbetning .....	16
Resultat .....	16
Provinsamling .....	16
Obduktion och provuttag .....	17
Referenser .....	37
Bilaga HF1 – Klassificering av utvärtes fynd .....	38
Bilaga HF2 – Klassificering av parasitbörda .....	39
Akutmedel .....	40
Undersökningar av fisk som provtagits nära Nord Stream-läckan .....	40
Bakgrund .....	40
Metoder .....	41
Databearbetning .....	42
Resultat .....	42
Bedömning av fotografier .....	44
Histopatologisk och cytologisk bedömning .....	45
Diskussion .....	51
Slutsats .....	53
Referenser .....	53
Undersökningar från SLU:s kustprovfiske i Hanöbukten 2022 .....	54
Sammanfattning .....	54
Material och metoder .....	54
Resultat .....	54

Torsk .....	54
Skrubbskädda .....	54
Bedömning/Diskussion .....	55
Referenser.....	55
Rapportportalen .....	55
Del 2. Anadrom fisk.....	56
Sammanfattning .....	56
Introduktion .....	56
Syfte .....	57
Övervakning av <i>Gyrodactylus salaris</i> .....	58
Material och metoder.....	58
Provtagningspunkter .....	58
Provtagning.....	58
Laboratorieanalyser .....	58
Databearbetning.....	58
Resultat .....	58
Förekomst av <i>Gyrodactylus</i> sp. i provtagna vattensystem och lokaler .....	58
Artbestämning och haplotypning .....	60
Diskussion .....	60
Slutsats.....	62
Referenser.....	62
Återvändande lax.....	63
Material och metoder.....	63
Provtagningspunkter och antal fiskar .....	63
Fångst och förvaring av fisk .....	63
Obduktion och provtagning.....	63
Blodpreparering och blodanalyser i fält.....	64
Laboratorieanalyser .....	64
Resultat .....	65
Genomförande av provtagningar .....	65
Diskussion .....	65
Slutsats.....	66
Referenser.....	66
Avelsfisket.....	67
Syfte .....	67

Metod .....	67
Resultat .....	67
Lax .....	67
Öring .....	67
Diskussion .....	68
Inventering av leksträckor .....	71
Resultat .....	71
Kalixälven (Linaälven och Ängesån) .....	71
Kågeälven .....	71
Vindelälven .....	71
Öreälven .....	72
Ljungan .....	72
Mörrumsån .....	72
Örekilsälven .....	73
Diskussion .....	73
Sammanfattning .....	75
Undersökningar avseende vintervingel .....	75
Genomförda undersökningar .....	75
Resultat .....	75
Bedömning/Diskussion .....	76
Diagnostik av <i>Saprolegnia</i> sp. ....	77
Introduktion .....	77
Syfte .....	77
Material och metoder .....	77
Provinsamling och provuttag .....	77
Laboratorieanalyser .....	78
Resultat .....	78
Diskussion .....	80
Slutsats .....	81
Referenser .....	81
Rapportportalen .....	82
Torneälvens vattensystem .....	83
Ume- och Vindelälvens vattensystem .....	83
Klarälvens vattensystem .....	83
Ätrans vattensystem .....	83

Del 3. Katadrom fisk.....	84
Provtagningsprogram .....	84
Sammanfattning .....	84
Introduktion .....	84
Syfte .....	84
Material och metoder.....	85
Provinsamling .....	85
Obduktion och provuttag.....	85
Laboratorieanalyser .....	85
Databearbetning.....	85
Resultat .....	86
Provinsamling .....	86
Obduktion och provuttag.....	87
Laboratorieanalyser .....	87
Diskussion .....	91
Slutsats.....	92
Referenser.....	92
Akutmedel.....	93
Fall 1. Död ål upphittad vid Olsnäs, Tjörn .....	93
Fall 2. Åldöd i Väneren, Kristinehamns kommun.....	93
Rapportportalen .....	94
Del 4. Sötvattenslevande fisk.....	95
Gäddsarkom-projektet.....	95
Sammanfattning .....	95
Introduktion .....	95
Syfte .....	96
Material och metoder.....	96
Provinsamling .....	96
Provtagningspunkter .....	96
Fisk .....	96
Obduktion och provuttag.....	96
Laboratorieanalyser .....	97
Resultat .....	98
Fisk .....	98
Esoxid herpesvirus 1 (EsHV-1).....	110

Diskussion .....	112
Slutsats.....	116
Referenser.....	116
BKD-undersökningar i Vätterns och Siljans vattensystem.....	117
Sammanfattning .....	117
Introduktion.....	117
Syfte .....	118
Material och metoder.....	119
Provinsamling .....	119
Provuttag .....	119
Laboratorieanalyser .....	120
Databearbetning.....	120
Resultat.....	120
Provinsamling .....	120
Provuttag och analyser .....	121
DISKUSSION.....	122
Slutsats.....	123
Referenser.....	123
Akutmedel.....	124
Fall 1. Abborre med utstående ögon.....	124
Fall 2. Röding med eroderad stjärtfena .....	125
Rapportportalen .....	125
Del 5. Kräftdjur.....	128
Övervakningsprogram .....	128
Sammanfattning .....	128
Introduktion.....	128
Syfte .....	129
Material och metoder.....	129
Provinsamling .....	129
Obduktion och provuttag.....	130
Laboratorieanalyser .....	130
Resultat .....	131
Misstänkta fall av kräftpest .....	131
Uppföljning av kräftpesten i Öresjö.....	133
SNIEF-projektet .....	133

Vatten med bestånd av både flodkräftor och signalkräftor utan dödlighet i kräftpest .....	134
Kinesiska ullhandskrabbor från Mälaren .....	134
Diskussion .....	135
Slutsats.....	138
Referenser.....	139
Akutmedel och Rapportportalen .....	139
Referenser.....	142
Del 6. Blötdjur .....	143
Sötvattenslevande blötdjur .....	143
Havslevande blötdjur.....	143
Sammanfattning .....	143
Introduktion .....	143
Syfte .....	144
Material och metoder.....	144
Provinsamling .....	144
Provuttag .....	144
Laboratorieanalyser .....	145
Resultat .....	146
Slutsats.....	148
Referenser.....	148
Del 7. Rapportportalen .....	149
Summering av inkomna rapporter 2022.....	149
Tids- och artmässig fördelning av rapporter .....	149
Typ av observationer .....	151
Diskussion .....	153



# Inledning

## BAKGRUND

Övervakning av vilda djurs hälsa har pågått drygt 70 år i Sverige. Under hela denna period har förekomst och spridning av kräftpest hos flodkräftor övervakats och sedan 90-talet har även förekomst av parasiten *Gyrodactylus salaris* hos laxungar i västkust-mynnande älvar övervakats. Under 2000-talet har flera fall av försämrad hälsa hos vild fisk uppmärksammats. Exempel på detta är torsk med sårskador i Hanöbukten, en ökad frekvens av parasiter hos torsk samt en generell försämring av torskbeståndens hälsa i Östersjön samt sjuklighet och dödlighet på lax i Östersjöälvarna. Från och med 2020 har Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) ett uppdrag från Havs- och Vattenmyndigheten (HaV) ett uppdrag att genomföra en omfattande övervakning av hälsan hos fisk, kräftdjur och blötdjur.

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.

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

Utformningen av övervakningen, med olika delprogram för att kunna täcka in olika livsmiljöer och levnadssätt för fisk, kräftdjur och blötdjur har utarbetats i samarbete mellan SVA och HaV. Vissa program är etablerade och upprepas från år till år, medan vissa program är under utveckling och andra bedrivs som årsvis projekt. Övervakningen är av största vikt för att samla kunskap gällande effekter av smittsamma sjukdomar. Dessutom ges bild av hur ekosystemen påverkas av klimatförändringar, miljöföroreningar samt av introduktion av invasiva främmande arter. Kunskap om olika bestånders hälsostatus behövs för att kunna utföra en ekosystembaserad och hållbar fiskförvaltning, övervaka miljöns tillstånd, tillse livsmedelsförsörjning samt för att förhindra smittspridning.

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

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.
- **Delmål 1 under huvudmålet ”Kunskap och kommunikation” i ”Gemensam strategi för fiskets framtid” (2020, HaV och Jordbruksverket).**

”Gemensam strategi för fiskets framtid” är ett för HaV och Jordbruksverket gemensamt **regeringsuppdrag, där huvudmålet ”Kunskap och kommunikation” definieras som ”Kunskapen om de akvatiska ekosystemen samt om fiskets och vattenbrukets samhällsnyttor har ökat och sprids genom informationsinsatser och utbildningar”**. Under delmål 1 anges bland annat att kunskapen avseende hälsoläge hos vilda akvatiska organismer och kring risker med invasiva arter behöver förbättras, vilket faller inom ramen för SVA:s uppdrag.

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 de första åren har stort fokus lagts på att pröva vilka metoder som ger bäst resultat och därmed är lämpliga att använda även framgent. Vid behov inkluderas olika externa resurser som länsstyrelser och SLU 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.

I tillägg undersöker SVA om bakterier som isoleras från fisk i olika miljöer kan användas för att titta på resistensläget avseende olika antibiotika. På vild fisk är detta inte viktigt ur ett behandlingsperspektiv, men då resistens kan spridas även via vilda djur är det viktigt att få en bild av förekomst av antibiotikaresistens hos sjukdomsframkallande bakterier eller miljöbakterier i vilda populationer och att kunna följa trender i dessa populationer. Problemet är att många av de bakterier som isoleras inte är vanliga patogener inom fiskodlingar. Därmed saknas referensvärden och brytpunkter för vad som skulle innebära resistens mot olika antibiotika och dessutom saknas standarder för vilka förhållanden (temperaturer, inkubationstider) som ska användas vid undersökningen. Arbetet kommer därför att pågå under flera år.

Programmet samordnas i möjligaste mån med (miljögifts- och bestånds-övervakning) av fisk, kräft- och blötdjur 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, och som i vissa fall kan leda till provtagning via akutmedel.

Resultaten från varje område samt hur provtagningarna genomförts redovisas i denna rapport. I uppdraget ingår ett datavårdskap 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->

[kraftdjur-musslor-och-ostron/halsolage-for-vildlevande-fisk-kraftdjur-musslor-och-ostron/halsoovervakning-av-vildlevande-fisk-och-skaldjur/](https://kraftdjur-musslor-och-ostron/halsolage-for-vildlevande-fisk-kraftdjur-musslor-och-ostron/halsoovervakning-av-vildlevande-fisk-och-skaldjur/). Publiceringen av öppna data kommer att påbörjas under hösten 2023 och beräknas vara klart 2024 för data insamlade 2020–2023.

Rapportportalen, som funnits sedan 2016, redovisar redan öppna data. Där finns en kartfunktion för fynd (<https://rapporterafisk.sva.se/Fynd/Map>), en fyndlista med ex fiskgrupp, län och kommun men anonymiserad avseende rapportör (<https://rapporterafisk.sva.se/Fynd/InrapporteradeFynd>) samt en statistikfunktion avseende totalantalet rapporter per månad och antalet laxfiskrapporter per månad (<https://rapporterafisk.sva.se/Fynd/Statistik>).

### **Kvalitetssäkring vid SVA**

SVA är certifierade enligt ISO 9001:2015 (kvalitet), ISO 14001:2015 (miljö) och ISO 45001:2018 (arbetmiljö). SVA är ackrediterat enligt ISO/IEC 17025 och granskas årligen av Swedac. SVA:s sektion för fisk är nationellt referenslaboratorium för fisk-, kräftdjurs- och blötdjurs-sjukdomar. Metodiken för av EU listade sjukdomar följer de diagnostiska manualer som EU:s referenslaboratorier föreskriver utifrån EU:s lagstiftning (EU) 2018:1882, alternativt utifrån OIE:s diagnostiska manualer för sjukdomar som listas av OIE men inte listas av EU och som Sverige har nationella åtgärder för enligt Djurhälsolagen (EU) 2016/429, Kap 4, Art 226. För vissa sjukdomar saknas föreskriven metodik. Om övervakning av sjukdomen ligger under offentlig kontroll (statlig övervakning, som till exempel renibakterios/BKD), används metodik som är validerad, ackrediterad och godkänd av Jordbruksverket. Annan metodik som används inom rutindiagnostiken är alltid validerad men inte alltid ackrediterad. Metodik som är under utveckling är inte validerad då det är en del av utvärderingsprocessen.

# Del 1.

## Havslevande fisk

### Övervakning av torsk, sandskädda och skrubbskädda

#### SAMMANFATTNING

Under 2020 påbörjade SVA Fisk på uppdrag av HaV en 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 under 2022 en ökad frekvens av sårskador samt en ökad frekvens av svullna njurar och mjältar på skäddor, medan påverkan på lever och njurar sågs vid vävnadsundersökningar, samt tecken på inflammation, cancer (leukemi) eller ökad produktion av röda blodkroppar (icke-malign erythropoies) kunde ses i skäddornas blodbild. Hos torsk noterades främst en ökad frekvens av *Contraecaecum* (Österjöprovtagningen).

#### 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. 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 bottenar, sårskador, samt ökad förekomst av lever- och muskelparasiter (torsk-/sälmask), ochäven på skrubbskädda (*Platichthys flesus*) har liknande sårskador noterats (SVA, 2016).

Förekomst av torskmask/sälmask (*Contraecaecum* sp. i levern och *Pseudoterranova decipiens* i muskulatur) samt spiralmask (*Anisakis simplex*, med tumlare som slutvärd) hos Östersjötorskar 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 2019). Alla tre parasitarterna kan potentiellt påverka fiskens kondition.

Hälsoövervakningen inkluderar torsk och plattfisk i Östersjön och i Västerhavet. I Västerhavet är sandskädda (*Limanda limanda*) mer frekvent förekommande än skrubbskädda och därför inkluderas sandskädda i framför allt Västerhavsprovtagningarna. Sandskädda förekommer inte i mellersta och norra Östersjön, varför skrubbskäddan är fokusart i Österjöprovtagningarna. Ytterligare en aspekt som föranleder inkludering av sandskädda är att ICES har tagit fram ett så kallat Fish Disease Index (FDI) för denna art. Påbörjade FDI-mallar finns för torsk och skrubbskädda men de är ännu inte kompletta. FDI är en metod för att bedöma hälsan hos vildlevande fisk (Lang & Wosniok, 2008) och bygger på att parametrar som bedöms vara viktiga för att avgöra fiskens hälsa samlas in vid provfisken till havs. Parametrarna viktas utifrån en för respektive parameter förbestämd konstant och ett index-värde räknas ut. Avsikten är att skapa 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. SVA har haft som mål att jobba enligt dessa mallar och att bidra till att

mallarna för torsk och skrubbskädda färdigställs. FDI är sedan 2022 under utvärdering och omarbeting av Thünen Institute for Fisheries Ecology med stöd av ICES arbetsgrupp för patogener och sjukdomar hos marina organismer (WGPDMO). Arbetet kommer att ta flera år och SVA fortsätter under tiden att arbeta enligt de mallar som vi började bygga upp programmet kring.

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 provfiske, och ytterligare fall kan identifieras via SVA:s rapportportal för fisk <https://rapporterafisk.sva.se>, via sociala medier eller genom kontakt med 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 SLU:s provfiske International Bottom Trawl Survey i kvartal 3 (IBTSQ3, Västerhavet) medan SLU utförde provtagningen enligt instruktion från SVA på Baltic International Trawl Survey i kvartal 1 (BITSQ1). SLU:s insamling av fisk sker genom ett antal hal (trålningar) på olika positioner inom ICES-områdena 24,25, 27 och 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). Närbilder på gälar saknades. Torsken från IBTSO3 var mycket liten och merparten hade fotograferats tillsammans i den låda de samlades i inför obduktion. Därmed saknades möjlighet att genomföra efterbedömning av dessa fiskar.

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  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Från 50 torsk ( $>35$  cm) från respektive resa skulle lever tas för digererering och räkning av torsk-/sälmask (*Contracaecum* sp.). Antalet maskar på torsklevernarnas yta (mot buksidan) räknades och kategoriserade enligt en dansk manual (opubl.). Levrarna 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). Levrarna frystes inför transport och vidare analys.

## Laboratorieanalyser

### *Contracaecum* sp. hos torsk

Levrarna tinades och digererades i digestionsvätska (16 mL saltsyra och 10 g pepsin i 2 L  $\sim 45^{\circ}\text{C}$  kranvatten) enligt metod från EU:s referenslaboratorium för parasiter ([Istituto Superiore di Sanità, Italien](#)) men med vissa modifikationer (30 ml 37% saltsyra, 30 ml pepsin i 1 L  $40\text{--}42^{\circ}\text{C}$  vatten) 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 levrarnas totala innehåll av *Contracaecum* spp. enligt den danska manual som används för kategorisering av antalet maskar på leverns yta (0=0 maskar, 1=1–10 maskar, 2=11–20 maskar, 3=21–30 maskar, 4= $>30$  maskar).

### Histopatologi och cytologi

Histopatologiska prover bäddades, snittades och rutinfärgades (Hematoxylin & Eosin). Blodutstryk fixerades och färgades med SNABB-DIFF (Labex AB). Läsning gjordes vid  $40\text{--}1000$  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, makrofoagcentra, inflammation, cellödem, blödningar, FCA och tumörer. Hos skrubbskadda och sandskadda 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 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 x 4 + 1 enligt ovanstående klassning). En kategorisering av poängen för sjuklighetsgrad gjordes 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 ≥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 genomför virologisk odling enligt av EU:s referenslaboratorium för fisk och kräftdjur föreskriven metodik för detektion av viral hemorrhagisk septikemivirus (VHSV) och infektiös hematopoietisk nekrosvirus (IHNV). Denna metodik möjliggör en bred screening då ett flertal virus som kan påverka våra svenska bestånd kan isoleras. Två parallella cellkulturer används - bluegill fry (BF-2) samt fathead minnow (FHM). Odling görs under totalt två veckor, där odlingsplattorna avläses regelbundet från dag 4, med slutavläsning dag 14. Vid förekomst av virus genomförs vidare diagnostik med ELISA eller direkt med qPCR beroende på misstanke. Vid positivt ELISA-test



(IPNV, IHNV, VHSV, SVCV) konfirmeras diagnosen med qPCR 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 cellinjer används vid misstanke om specifika virus som inte växer på ovanstående celler.

### **Bakteriologisk odling**

Vid förekomst av sår genomförs bakteriologisk odling, som standard på hästblod- och Tryptone Yeast Extract 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 genomförs.

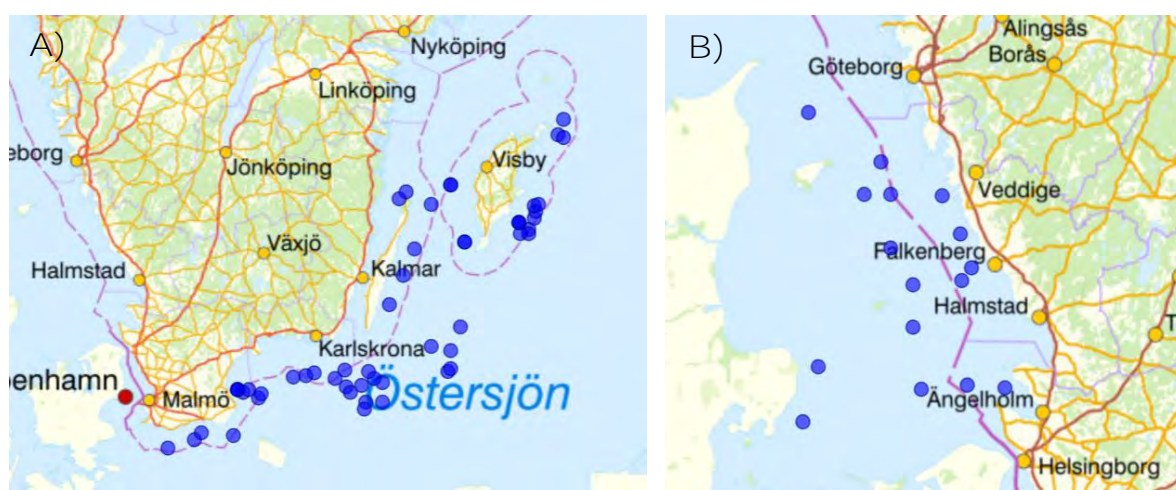
### **Databearbetning**

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,  $\chi^2$ -test, Fisher's exact test samt enkel linjär regression för att undersöka samband. GPS-koordinater avseende drag lades in på <https://rl.se/rt90> för generering av kartunderlag.

## **RESULTAT**

### **Provinsamling**

Provtagning inom BITSQ1 genomfördes 22 februari till 4 mars. Provtagning inom IBTSQ3 genomfördes 28–31 augusti. Startpositioner för de drag, totalt 34 för BITSQ1 och 18 för IBTSQ3 som ingick i SVA:s provtagning finns inkluderade i Bild HF2 A-B.



**Bild HF2.** Startpositioner för de drag inom **A) BITSQ1** och **B) IBTSQ3** varifrån fisk för SVA:s hälsoövervakning av havslevande fisk tagits under 2022. Kartunderlag från <https://rl.se/rt90>



## Obduktion och provuttag

Totalt provtogs 200 fiskar (100 torsk, 99 skrubbskäddor och en sandskädda) under BITSQ1 och 200 fiskar (100 torsk, 11 skrubbskäddor och 89 sandskäddor) under IBTSQ3. Morfometriska data presenteras i Tabell HF1.

**Tabell HF1. Morfometriska data avseende fiskar provtagna inom hälsoövervakningen av havslevande fisk 2022, fördelat på respektive provtagning.**

	Torsk		Skrubbskädda		Sandskädda	
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3
Totalt antal fiskar	100	100	99	11	1	89
Kön <sup>1</sup>						
hane	41	1	57	2	0	41
hona	58	1	42	9	1	48
kön oklart	1	98	0	0	0	0
Längd (cm) <sup>2</sup>						
alla	37 (35, 50)	9 (7.5, 27)	25 (20, 34)	30 (24, 37)	28	21 (15, 26)
hane	37 (35, 50)	23	24 (20, 30)	27 (24, 31)	-	20 (16, 25)
hona	38 (35, 45)	24	28 (23, 34)	30 (29, 37)	28	22 (15, 26)
kön oklart	35.5	9 (7.5, 27)	21	-	-	-
Vikt (g) <sup>2</sup>						
alla	475 (341, 994)	6 (3, 201)	176 (91, 421)	266 (144, 440)	266	76 (38, 195)
hane	476 (341, 994)	102	145 (91, 241)	229 (144, 314)	-	70 (38, 123)
hona	475 (363, 887)	127	243 (145, 421)	266 (217, 440)	266	89 (40, 195)
kön oklart	380	6 (3, 201)	-	-	-	-
Konditionsfaktor (CF) <sup>2</sup>						
alla	0.90 (0.71, 1.39)	0.82 (0.58, 1.23)	1.09 (0.77, 1.51)	0.99 (0.85, 1.11)	1.28	0.92 (0.73, 1.19)
hane	0.88 (0.77, 1.16)	0.84	1.03 (0.77, 1.27)	1.08 (1.05, 1.11)	-	0.94 (0.73, 1.01)
hona	0.91 (0.71, 1.39)	0.92	1.16 (0.86, 1.51)	0.91 (0.85, 1.07)	1.28	0.90 (0.74, 1.19)
kön oklart	0.85	0.82 (0.58, 1.23)	1.09	-	-	-

<sup>1</sup> Avser könsbedömning vid provtagning. Kön oklart=misstanke om intersex eller data saknas; <sup>2</sup> 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 samtliga torsk från IBTSQ3.

Merparten av torskarna, 97 av 100 (97%) bedömda, uppvisade inga tecken på yttre skada eller sjukdom. I förhållande till 2021 års provtagning har andelen symptomfria individer ökat från 74%. **De fynd som gjordes var hudblödning/sår (n=3). Under "Övrigt inre" noterades en torsk med intersex (Bild HF3C) och leverblödningar, en torsk med leverblödningar och en med grön missfärgning av levern.**

Av skrubbskäddorna var 32% (27% i BITSQ1 respektive 64% i IBTSQ3) utan några fynd. Detta är en betydligt mindre andel än 2021 (61%) men något fler än 2020 (25%). Det vanligaste fyndet var sårskador (n=24) följt av lymfocystis (n=19) och fenskador (n=12). Under övriga yttre symptom noterades två magra fiskar.

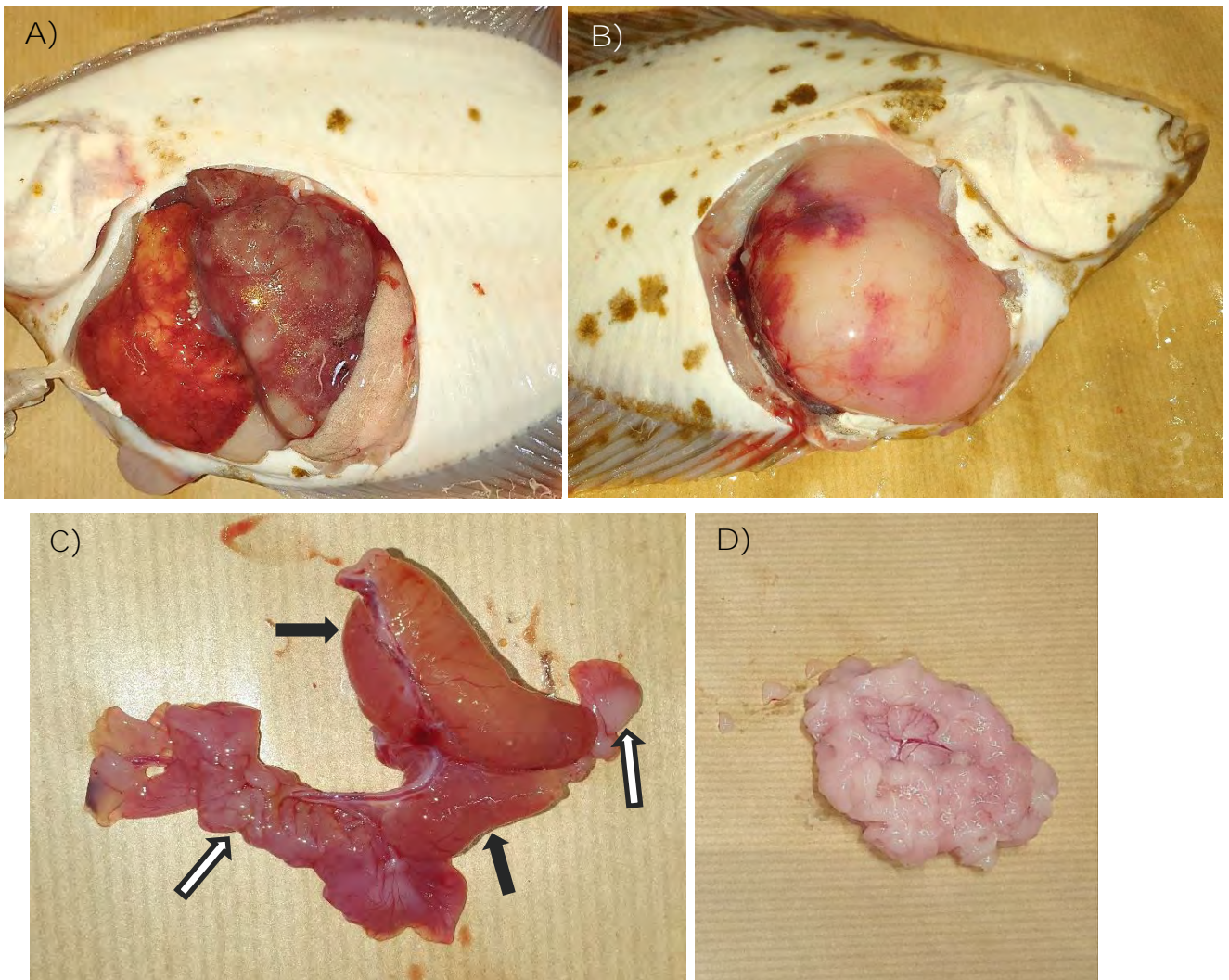
Hos sandskäddorna var 44% utan några fynd, vilket är något högre än 2021 (36%). Även här var sårskador det vanligaste fyndet (n=23) följt av avvikande pigmentering (n=12).

**Tabell HF2.** Yttre och inre fynd utom parasiter hos fisk provtagen inom SVA:s hälsoövervakning av havslevande fisk 2022. 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		
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	
Totalt antal fiskar	100	100	100	11	1	89	
Varav bedömda <sup>1</sup>	100	0	100	11	1	89	
Symptomfria: antal (%) <sup>2</sup>	30 (30)	?	27 (27)	7 (64)	0 (0)	39 (44)	
<b>Yttre fynd</b>							
<i>Sår</i>	Stadium <sup>3</sup>	<b>3</b>	-	<b>24</b>	0	<b>1</b>	<b>23</b>
	UlcHaem 1 (1, 0, 0) <sup>4</sup>	-	-	7 (7, 0, 0) <sup>4</sup>	-	1(1, 0, 0) <sup>4</sup>	17 (15, 2,0) <sup>4</sup>
	UlcPap 2 (1, 1, 0) <sup>4</sup>	-	-	2 (2, 0, 0) <sup>4</sup>	-	-	1 (1, 0, 0) <sup>4</sup>
	UlcAcu -	-	-	8*(6, 2*, 0) <sup>4</sup>	-	-	-
	UlcChro -	-	-	6*(4, 2*, 0) <sup>4</sup>	-	-	3 (3, 0, 0) <sup>4</sup>
	UlcHe -	-	-	3 (3, 0, 0) <sup>4</sup>	-	-	-
	UlcAb -	-	-	-	-	-	2 (2, 0, 0) <sup>4</sup>
<i>Fenskada</i>	Stadium	<b>0</b>	-	<b>12</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>
	0.5* -	-	-	11 (7, 4) <sup>5</sup>	-	-	1 (1, 0) <sup>5</sup>
	1 -	-	-	-	-	-	1 (0, 1) <sup>5</sup>
	2 -	-	-	1 (1, 0) <sup>5</sup>	-	-	1 (0, 1) <sup>5</sup>
	3 -	-	-	-	-	-	-
<i>Skelettdeformation</i>		<b>0</b>	-	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<i>Avvikande pigmentering</i>	Hyperpig. <sup>4</sup>	<b>0</b>	-	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>9</b>
	1	-	-	-	-	-	8
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	1
	Anomali <sup>4</sup>	<b>0</b>	-	2	<b>0</b>	-	<b>6</b>
	1	-	-	2	-	-	6
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
<i>Lymfocystis</i>	Knölar <sup>4</sup>	<b>0</b>	-	<b>19</b>	<b>1</b>	-	<b>0</b>
	1	-	-	15	1	-	-
	2	-	-	4	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
<i>Övrigt yttre</i>		0	-	1	0	0	1
<b>Inre fynd</b>							
<i>Svullen njure</i>		0	-	18	1	0	10
<i>Svullen mjälte</i>		0	-	29	0	0	8
<i>Övrigt inre</i>		3	-	9	0	0	6

<sup>1</sup> Där foton finns och efterbedömning kunnat göras; <sup>2</sup> Vid beräkning av andelen symptomfria/med symptom har även parasitfynd inkluderats. De senare presenteras i **Tabell HF6**. <sup>3</sup> UlcHaem: små blödningar med nedsänkning i huden, UlcPap: små blödningar men huden har börjat bukta utåt, UlcAcu: akut öppet (kött)sår, UlcChro: äldre inflammerat sår, ibland med varbildning, UlcHe: sår under avläkning, UlcAb: avläkt sår, ofta med melanisering; <sup>4</sup> Antal fiskar i kategori 1, 2, 3 enligt **Tabell HF4, Bilaga HF1**; <sup>5</sup> (<1/4 av fenan, ≥1/4 av fenan); \* en fisk med flera sår bedömdes som både UlcAcu och UlcChro och finns därför representerad i båda kategorierna.

Under inre fynd noterades en hög frekvens av svullna njurar och mjältar hos skrubbskäddor från BITSQ1 (**Bild HF3A**) och sandskäddor från IBTSQ3. Under övriga inre fynd noterades färgförändringar på levern (n=11), samt en vardera av blödning i levern, en gonadtumör (**Bild HF3B**), blödning i bukmuskulaturen (blåmärke/mechanisk), granulomliknande förändringar i tarmen samt lymfocystisliknande cystor i bukhålan.



**Bild HF3.** Fynd vid obduktion. **A)** Extremt svullen mjälte med vita områden (ej granulom) samt ojämn lever, **B)** tumöromvandlad mjölkesäck, **C)** torskgonad, intersex där både honliga (svarta pilar) och hanliga delar (vita pilar) kan urskiljas samt **D)** Synbart hanlig gonad men där den histopatologiska undersökningen påvisade intersex.

#### **Yttre och inre makroskopiska parasitfynd**

Under BITSQ1 noterades inga ectoparasiter. Under IBTSQ3 noterades hudlöss (*Lepeophtheirus pectoralis*) hos två skrubbskäddor och tre sandskäddor samt hydrcystor av *Stephanostomum baccatum* hos två sandskäddor (Tabell HF6).

**Tabell HF6.** Parasitfynd vid makroskopisk inspektion av torsk, skrubbskädda och sandskädda provtagen inom hälsoövervakningen av havslevande fisk 2022.

Fynd	Torsk		Skrubbskädda		Sandskädda	
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3
Totalt antal fiskar	100	100	99	11	1	89
Varav bedömda	100	0	99	11	1	89
<b>Yttre parasiter</b>						
<i>Lepeophtheirus pectoralis</i>	0	-	0	2	0	3
Hudlöss	1					
	2					
	3			-		
<i>Stephanostomum baccatum</i>	0	-	0	0	0	2
Plattmask, hudcystor	1					-
	2					
	3					
<b>Inre parasiter</b>						
<i>Anisakidae</i>	68	-	2	0	0	0
Bukhåla/bukorgan	1	65	2			
	2	3	-			
	3	-	-			
<i>Acanthocephala</i>	0	-	9	0	0	2
cystor i bukåla	1		-			1
	2		-			-
	3		9			1
Annan parasit	1 <sup>1</sup>	-	0	0	0	0

<sup>1</sup> Nematod vid hjärtat

Invändigt noterades larver av olika Anisakidae (*Anisakis* sp., *Contracaecum* sp.-liknande larver (ej arttypade)) i bukålan eller bukorganen (främst lever) hos 68 torskar och 2 skrubbskäddor från BITSQ1. Cystor med hakmasklarver (phylum Acanthocephala) hittades hos 9 skrubbskäddor från BITSQ1 samt hos 2 sandskäddor från IBTSQ3. Hos en torsk från BITSQ1 hittades en nematod i hjärthålan. Denna är registrerad under ”Annan parasit” i Tabell HF6.

## Laboratorieanalyser

### Förekomst av anisakida larver i torsk

Samtliga torskar från BITSQ1 uppfyllde storlekskravet om  $\geq 35$  cm för leverdigestion, medan samtliga torskar från IBTSQ3 var  $< 35$  cm (max 27 cm). Levvar samlades därför bara in under BITSQ1 och samtliga levvar som samlades in hade parasiter på ytan. Eftersom inga levvar samlades in under IBTSQ3 analyserades de extra levvar som tagits i reserv under BITSQ1. Totalt undersöktes därför 58 levvar för torskmask med digestionsmetoden.

Samtliga digererade levvar kom från ICES-område 24 och 25. Anisakida larver återfanns hos alla 58 torskar. Eftersom data för dessa fiskar inte kan jämföras med oinfekterade torskar har i stället jämförelse gjorts med de torskar som inte hade synliga parasiter på leverns yta (n=36). Median-, min- och maxvärden för längd och CF fördelat på alla torskar, ”oinfekterade” och infekterade individer från BITSQ1 finns i Tabell HF7. Åldersbestämning saknas. Ingen signifikant skillnad i längd eller kondition sågs mellan infekterade och ”oinfekterade” individer.

**Tabell HF7.** Morfometriska data för torskar vars leverar analyserats för förekomst av anisakida larver samt jämförelse (Wilcoxons rangsummetest) mellan "oinfekterade" och infekterade individer.

Mått	Fiskar	Median (min, max)	Wilcoxons rangsummetest	
			Z	p
Längd (cm)	Alla (n=100)	37 (35, 50)	-1.24	0.21
	"Oinfekterade" (n=36) <sup>1</sup>	37 (35, 43)		
	Infekterade (n=58) <sup>2</sup>	38 (35, 45)		
Konditionsfaktor (CF)	Alla (n=100)	0.90 (0.71, 1.39)	1.25	0.21
	"Oinfekterade" (n=36) <sup>1</sup>	0.93 (0.83, 1.16)		
	Infekterade (n=58) <sup>2</sup>	0.89 (0.71, 1.39)		

<sup>1</sup>Inga synliga anisakider på leverns yta, digestion ej genomförd; <sup>2</sup> Samtliga undersökta leverar från BITSQ1 innehöll anisakida larver på ytan samt efter digestion

Antalet anisakida larver efter digestion varierade från 1 till 70, där en lever (1.7%) innehöll en parasit och totalt 28 leverar (48%) innehöll max 10 parasiter. Detta kan jämföras med 2021 då 32 av 58 leverar (28%) från BITSQ1 inte innehöll parasiter, 21 leverar innehöll en parasit, och totalt 25 av 26 infekterade leverar (96%) innehöll max 10 parasiter. (Figur HF1A). Kategorisering av alla 58 leverar från 2022 enligt det totala innehållet av anisakida larver gav följande resultat 0: n=0, 1 (1-10 parasiter): n=28 (48%), 2 (11-20 parasiter): n=17 (29%), 3 (21-30 parasiter): n=7 (13%), 4 (>30 parasiter): n=6 (10%). Andelen torskar inom respektive kategori och per ICES-rektangel ses i Figur HF1B. Som jämförelse visas motsvarande fördelning inom ICES-rektanglarna 2021 (Figur HF1C).

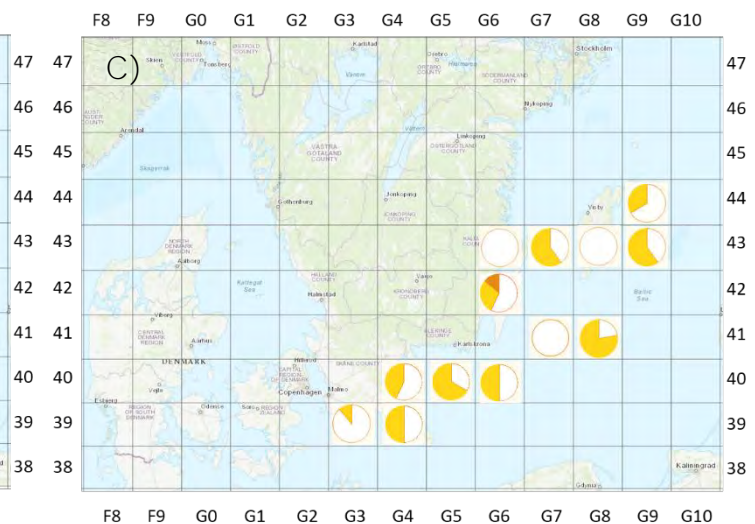
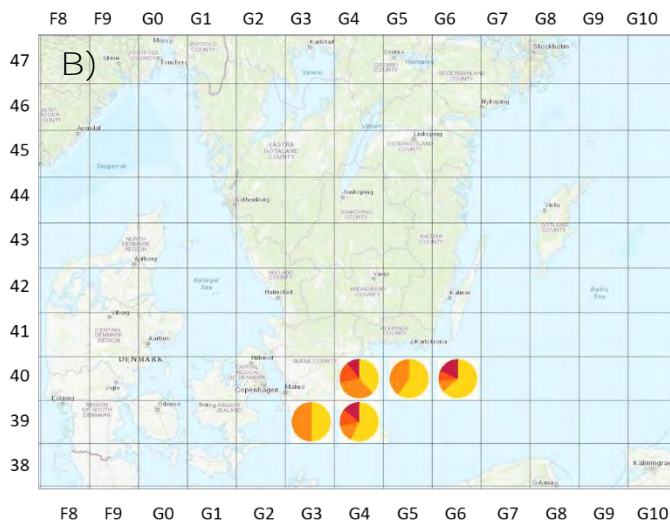
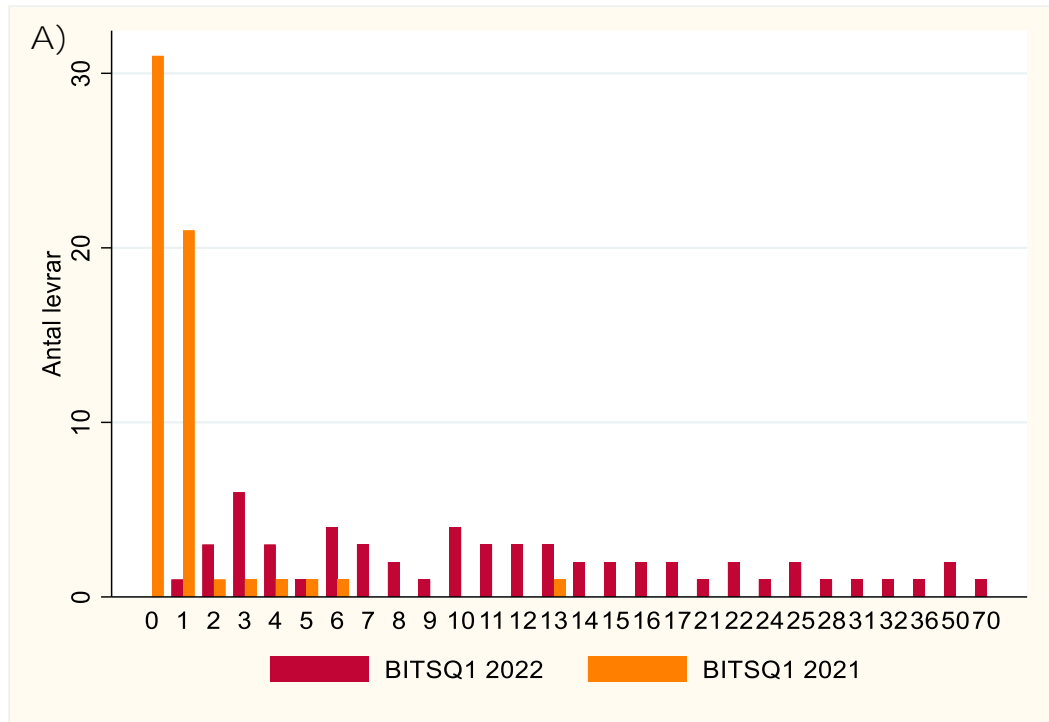
En jämförelse mellan antalet synliga anisakida larver på leverns yta och totalantalet anisakida larver gjordes för att bedöma tillförlitligheten av yt-klassificeringen. Tabell HF8 visar en matris över korrelationen för de två kategoriseringarna för de 58 leverar som digererats. Antalet parasiter som noterats på ytan kunde kategoriseras som 1 (1-10 st) samt 2 (11-20 st). Överensstämmelsen var 48% (28 av 58 leverar) för kategori 1 och ingen överensstämmelse för kategori 2. I samtliga fall där resultaten inte stämde mellan visuell bedömning och digestion påvisades fler parasiter efter digestion än vid visuell bedömning (Tabell HF8).

**Tabell HF8.** Kategorisering av antalet anisakida larver på leverns yta jämfört med leverns totalinnehåll av anisakida larver efter digestion. Vita rutor motsvarar överensstämmelse mellan kategorierna, ljusrosa visar viss avvikelse och mörkrosa visar större diskrepans.

Anisakida larver på leverns yta	Totalantal anisakida larver efter digestion				Totalt
	1 (1 – 10 st)	2 (11 – 20 st)	3 (21 – 30 st)	4 (>30 st)	
1 (1 – 10 st)	28	17	7	3	55
2 (11 – 20 st)	-	-	-	3	3
<b>Totalt</b>	28	17	7	6	58



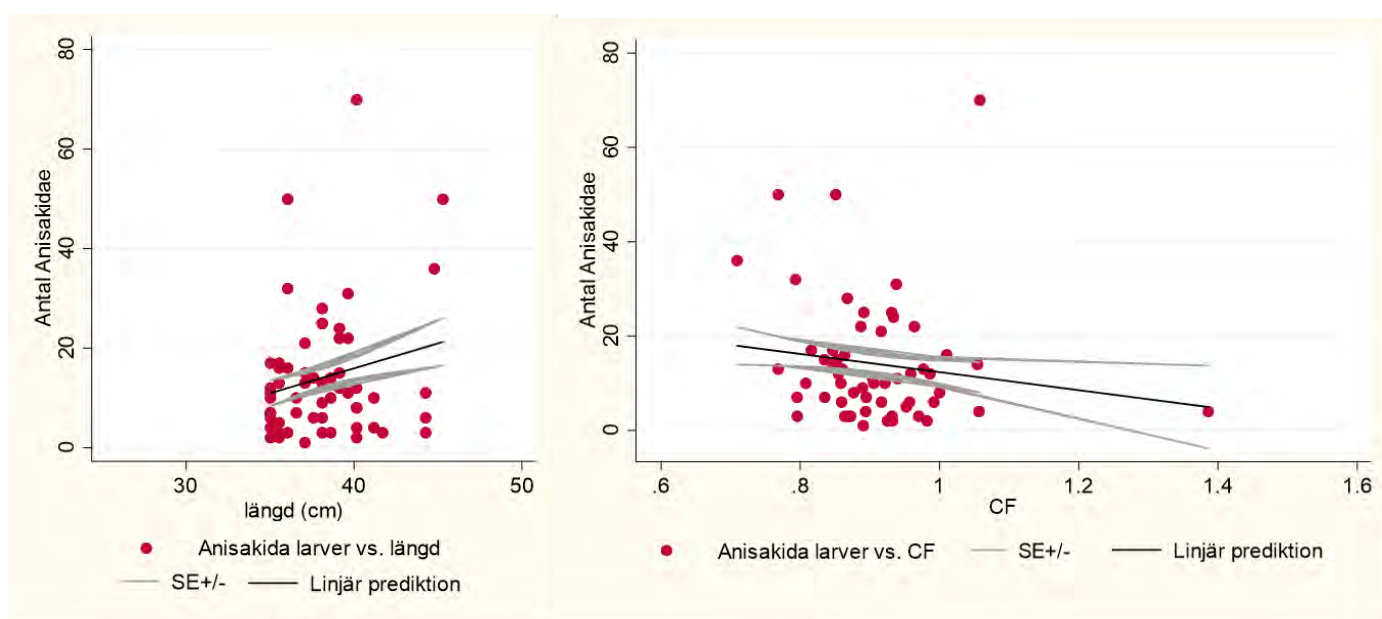
**Figur HF1.** Anisakidae i leveren hos 116 torskar enligt totalantalet larver **A)**, samt andelen torskar inom respektive kategori fördelat över de ICES-rektanglar som provtagits **B)** 2022 och **C)** 2021.



Kartunderlag från ICES: <https://gis.ices.dk/sf/index.html?widget=StatRec>

För att undersöka huruvida torskens längd/ålder, CF eller geografisk lokalisation (ICES-rektangel) hade något samband med antalet isolerade anisakida larver genomfördes enkel linjär regression. Eftersom data på åldersbestämning saknades användes längd som mått på ålder och därmed exponering för anisakida larver. Det fanns inga signifikanta samband mellan antal anisakida larver efter digestion och exponering (längd) (Figur HF2A) eller antal anisakida larver efter digestion och CF (Figur HF2B) även om en svagt positiv respektive negativ trend kunde anas. Det fanns inte heller något samband mellan antal *Contracaecum* sp. efter digestion och ICES-rektangel (data visas inte).

**Figur HF2. A) Antal anisakida larver vs. längd, B) Antal anisakida larver vs. CF. Svarta linjer representerar den linjära prediktionen från respektive regression, medan de omgivande grå linjerna representerar  $\pm$ SE**



### **Histopatologi och cytologi**

Lever och gonad fanns fixerade för samtliga skrubbskäddor och sandskäddor, samt för torskar från BITSQ1. För torsk från IBTSQ3 fanns enbart lever fixerad på grund av att torsken var juvenil. Utöver detta fanns fixerad vävnad från sår respektive förändrade inre organ enligt: hud/hudsår: 10 st, njure 21 st, mjälte 21 st, tarm 1 st. Samtliga extra organ kom från skrubbskäddor i BITSQ1. Blodutstryk fanns för samtliga 400 fiskar.

#### 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. Den enda sandskäddan som provtogs under BITSQ1 har inte tagits med i de statistiska beräkningarna. Sammanfattande data avseende total poäng och poäng per parameter finns i Tabell HF9. För totalpoängen anges även antal fiskar med lindrig, måttlig och hög poäng. För vakuolisering anges även antal fiskar i respektive kategori av påverkansgrad. Signifikant olika medianvärden (Wilcoxon's rangsummetest) anges med upphöjda bokstäver i tabellen.

**Tabell HF9. Histopatologisk bedömning av leverar från fisk provtagen inom hälsoövervakningen av havslevande fisk 2022.**

	Torsk		Skrubbskädda		Sanduskädda	
	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3	BITSQ1	IBTSQ3
<b>Totalt antal fiskar</b>	100	100	99	11	1	89
<b>Parameter<sup>1</sup></b>						
<b>Total poäng</b> Medel/median (min, max)	<b>135/140 (20, 320)<sup>aa</sup></b>	<b>113/100 (0, 255)<sup>aa</sup></b>	<b>193/180 (25, 550)</b>	<b>136/130 (50, 270)<sup>a</sup></b>	<b>190</b>	<b>186/175 (40, 370)<sup>a</sup></b>
<i>Antal fiskar i kategori</i> Lindrig (0 - 99)	24	38	18	4	-	5
Måttlig (100 - 199)	64	53	39	5	1	52
Hög (≥200)	12	9	42	2	-	32
<b>Vakuolisering (0 - 40)</b>	25/25 (0, 40) <sup>aaa</sup>	1.8/0 (0, 40) <sup>aaa</sup>	1.9/0 (0, 40) <sup>bbb</sup>	4.5/0 (0, 40)	20	9.4/0 (0, 40) <sup>bbb</sup>
Medel/median (min, max)						
<i>Antal fiskar i kategori</i> <sup>2</sup>						
0	10	91	81	8	-	48
0.1	13	0	6	0	1	16
0.5	0	2	11	2	-	9
1	77	7	1	1	-	16
<b>Degeneration (0 - 160)</b>	8.3/0 (0, 120)	8.7/0 (0, 90)	36/30 (0, 120) <sup>b, c</sup>	19/0 (0, 120) <sup>b</sup>	80	26/10 (0, 120) <sup>c</sup>
Medel/median (min, max)						
<b>Parasiter (0 - 30)</b>	5/0 (0, 20) <sup>ccc</sup>	0.5/0 (0, 10) <sup>ccc</sup>	1.8/0 (0, 10) <sup>ddd</sup>	0.5/0 (0, 5)	0	0.3/0 (0, 10) <sup>ddd</sup>
Medel/median (min, max)						
<b>Makrofagcentra (0 - 160)</b>	10/0 (0, 160) <sup>eee</sup>	2.6/0 (0, 20) <sup>eee</sup>	53/40 (0, 160)	49/40 (0, 120)	40	47/40 (0, 160)
Medel/median (min, max)						
<b>Inflammation (0 - 160)</b>	18/10 (0, 120) <sup>fff</sup>	46/40 (0, 160) <sup>fff</sup>	23/0 (0, 160) <sup>d</sup>	5.5/0 (0, 40) <sup>bb</sup>	20	27/20 (0, 40) <sup>d, bb</sup>
Medel/median (min, max)						
<b>Cellödem (0 - 100)</b>	70/63 (0, 100) <sup>ggg</sup>	50/50 (0, 90) <sup>ggg</sup>	52/50 (0, 100)	44/40 (5, 100)	30	61/80 (5, 100)
Medel/median (min, max)						
<b>Blödning (0 - 160)</b>	5.8/0 (0, 60) <sup>cc</sup>	3.3/0 (0, 60) <sup>cc</sup>	3.8/0 (0, 60)	2.7/0 (0, 30)	0	2.1/0 (0, 30)
Medel/median (min, max)						
<b>FCA</b>	0/0 (0, 0)	0/0 (0, 0)	4.7/0 (0, 100) <sup>hhh</sup>	2.7/0 (0, 10)	0	12/0 (0, 100) <sup>hhh</sup>
Medel/median (min, max)						
<b>Pankreas (0 - 80)</b>	0/0 (0, 0)	0/0 (0, 0)	16/10 (0, 50) <sup>iii</sup>	8.2/0 (0, 40) <sup>jjj</sup>	-	1.2/0 (0, 40) <sup>iii, jjj</sup>
Medel/median (min, max)						

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



Liksom föregående två år hade torskar från BITSQ1 ett signifikant högre medianvärde på totalpoängen än torsk från IBTSQ3. Det fanns ingen signifikant skillnad i totalpoäng mellan skrubbskäddor från de två provtagningarna, däremot hade sandskäddorna signifikant högre medianvärde än skrubbskäddorna i IBTSQ3. Totalpoängen var synbart högre än 2021 för samtliga utom skrubbskädda från IBTSQ3, men statistisk jämförelse har inte gjorts.

Hos torsken i BITSQ1 bidrog vakuolisering i hög grad till fiskarnas totalpoäng. Kopplat till detta får många leverar omfattande cellsvullnad (ödem) då kraftig vakuolisering förstör cellerna och därmed minskar utrymmet mellan dem. Ojämn vakuolisering var vanligt, ofta med ett flammigt, utseende där man såg en variation i vakuoliseringsgrad men utan skarpa gränser. I merparten av fallen förekom små eller större områden med förfettningsgrad i dessa leverar, varför de hamnat i **kategorin "förfettningsgrad". I övriga fall**, utom två torskar från IBTSQ3 var skillnaderna i vakuoliseringsgrad så små att de inte bedömdes som patologiska och leverarna klassades därför som normala (0, 0.1).

Vakuoliseringsgrad och grad av cellödem var signifikant högre hos BITSQ1-torsken än hos IBTSQ3-torsken vilket stämmer överens med resultaten från föregående år. Även förekomsten av makrofagcentra, parasiter och blödningar var högre hos torskar från BITSQ1.

Inflammationsgraden var högre hos IBTSQ3-torsken. Detta berodde på att 10 torskar hade förekomst av granulom i leverarna. En av dessa hade en nematod i levern, men granulomen såg inte ut att vara parasitära.

Skrubbskäddorna från BITSQ1 respektive IBTSQ3 skiljde sig i stort inte signifikant från varandra, med undantag för en högre grad av degeneration och pankreaspåverkan i leverarna från BITSQ1. Mellan skrubbskäddorna och sandskäddorna fanns större skillnader. Skrubbskäddorna från BITSQ1 hade en lägre vakuoliseringsgrad, en lägre grad av inflammation och FCA samt en högre grad av degeneration och pankreaspåverkan än sandskäddorna i IBTSQ3. Skrubbskäddorna från IBTSQ3 hade en lägre totalpoäng, en lägre grad av degeneration och inflammation, samt en högre grad av pankreaspåverkan än sandskäddorna från IBTSQ3. De FCA som observerades varierade i utseende. Hos ett par fiskar noterades små områden helt utan vakuolisering, med cellsvullnad och ljusare färg (Bild HF4A), vilket möjligen var begynnande adenom och därmed tumörer. Hos ett par fiskar noterades i stället kraftig, skarpt avgränsad hög vakuolisering. Hos en skrubbskädda från BITSQ1 sågs ett flertal små till medelstora områden med kraftigt avvikande struktur. Dessa områden, samt många av de kärl som var synliga, innehöll leukoblaster (Bild HF4B). Eftersom levervävnaden var infiltrerad kan detta klassas som lymfom, men efter kontroll av mjälte och njure bedömdes fisken ha leukemi (se nedan under Njure och mjälte), då cancer verkade utgå från den blodbildande vävnaden.

Hos en skrubbskädda (BITSQ1) noterades flera områden med ansamlingar av små, måttligt differentierade gallgångar (Bild HF4C), omgivna av olika inflammatoriska celler. Inga mitoser observerades, men på grund av det ostrukturerade utseendet bedömdes förändringen som gallgångscarcinom. Hos ytterligare en fisk från samma drag noterades ett mindre sådant område i levern, där gallgångarna var välutvecklade och det dessutom var kraftig bindvävsinväxt runt ansamlingen av små gallgångar. Detta bedömdes reaktiv gallgångshyperplasi.

Hos sju skrubbskäddor från IBTSQ1 noterades förekomst av enstaka eller multipla, små och stora tromber med inflammatorisk infiltration i leverns blodkärl (Bild HF4D). Tromberna var fastväxta i kärllväggen, men det fanns inga tecken på vävnadsdöd i levervävnaden runt tromberna, varför totalt stopp i blodflödet inte förelåg. Orsaken till retrningen av endotelet (kärlepitelet) är oklar.

Fyra skrubbskäddor från IBTSQ1 hade måttlig-kraftig förekomst av single cell necrosis (Bild HF4E), vilket innebär att enskilda celler dör och vävnaden ser ut att ha fått en hagelsvärm genom sig, dvs den är full av små hål, när cellerna tynat bort helt.

Hos skäddorna från IBTS noterades inte ovanstående patologiska förändringar utom FCA. Däremot förekom ett par leverar (en sandskädda, en skrubbskädda) med stora områden med vävnadsdöd, en skrubbskädda S69 som hade kraftig vakuolisering av gallgångarna och hos en sandskädda var kärlen fyllda av omogna blodkroppar som bedömdes vara proerythrocyter och möjligen erythroblaster.

FCA noterades hos både sandskäddor och skrubbskäddor men inte hos torsk. Avsaknaden av pankreasförändringar hos torsk beror på att pankreasvävnad extremt sällan noteras i levern på denna fiskart. Nematodlarver (Anisakidae, främst hos torsk) samt hakmasklarver (Acanthocephala, främst hos skäddor) var de typer av parasiter som påvisades i snitten.

Skrubbskäddorna från BITSQ1 hade signifikant mindre blödningar och mer skador på pankreas än både skrubbskäddor och sandskäddor från IBTSQ3, dessa skillnader var stora och hade hög statistisk säkerhet ( $p < 0,001$ ). Detta liknar resultaten från föregående års provtagning.

#### Gonader

Gonader kunde bedömas fullständigt för samtliga sand- och skrubbskäddor samt de 100 torskarna från BITSQ1. Torsken från IBTSQ3 var för liten för att det skulle vara meningsfullt att undersöka gonaderna.

#### Reproduktionsstörningar

Intersex noterades hos två torsk och en skrubbskädda från BITSQ1 (Bild HF4F). Hos skrubbskäddan och den ena torsken såg de hanliga delarna av gonaderna ut att vara funktionella, med öar av mogna spermier, medan de honliga delarna var rudimentära.

Hos en skrubbskädda noterades en normal och en kraftigt svullen, blodsprängd mjölkesäck vid obduktion. Detta misstänktes vara en tumör, och vid histopatologisk undersökning noterades en homogen matta av odifferentierade könsceller (Bild HFG). Enstaka, spridda mitoser (celldelning) noterades, samt måttlig spridd förekomst av inflammatoriska celler och ett antal områden med omfattande akut vävnadsdöd. Diagnosen blev därför seminom, vilket är en elakartad tumör i de spermiebildande delarna av mjölkesäcken. Den mjölkesäck som såg normal ut vid obduktion hade inga anatomiska avvikelser (Bild HF4H) utan olika stadier i spermieutvecklingen kunde ses och den hade därmed normal aktivitetsgrad.

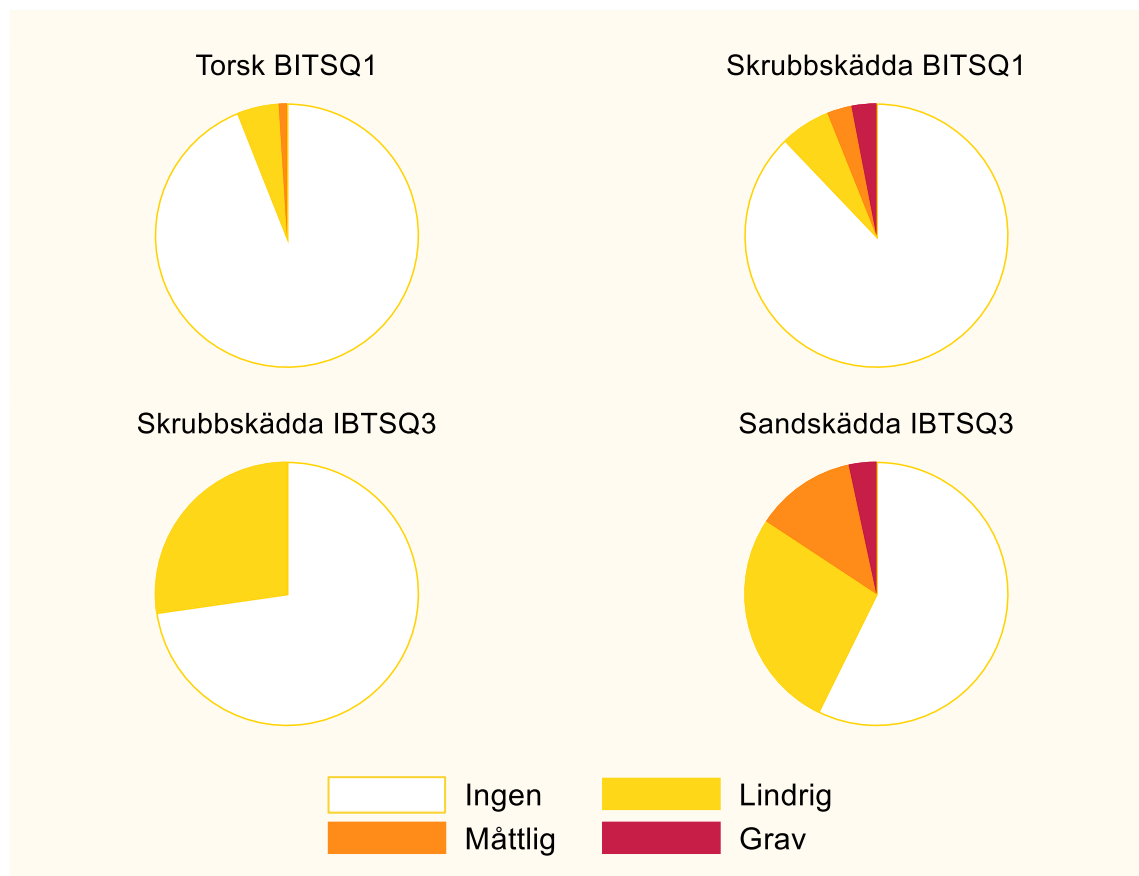
Inaktiva gonader noterades hos totalt 16 individer (tre torsk, tre skrubbskäddor och tio sandskäddor). Aktiva gonader med en varierande mognadsgrad hos spermier respektive ägg noterades hos 97 (97%) torsk, 97 (98%) skrubbskäddor samt sandskäddan från BITSQ1, och 10 (91%) skrubbskäddor och 79 (89%) sandskäddor från IBTSQ3.

#### Inflammatorisk/infektiös påverkan

Av 300 undersökta fiskar förekom påverkan i form av inflammation och/eller uppenbar infektion hos 59 st (20%). Fördelningen av allvarlighetsgrad (grad av inflammation (0–4) x utbredning (0–4) + förekomst av infektion (0–1)) av förändringarna per art och provtagning finns i Figur HF3. Den enda sandskäddan från BITSQ1 har inte tagits med i grafen eller statistiska jämförelser mellan BITSQ1 och IBTSQ3. Påverkan förekom hos 6 av 100 (6%) torsk, hos 15 av 110 (13.6%) skrubbskäddor och hos 38 av 90 (42.2%) sandskäddor. Bland dessa noterades infektion endast hos en torsk och en skrubbskädda. Resterande fiskar med påverkan hade inflammation utan att infektion

påvisades. Sandskäddor hade signifikant högre andel individer med påverkan jämfört med både torsk och skrubbskädda ( $\chi^2=34.9$ ,  $p<0.001$  respektive  $\chi^2=20.8$ ,  $p<0.001$ ). Det fanns inga signifikanta skillnader mellan torsk och skrubbskädda (BITSQ1) eller mellan skrubbskäddor från BITSQ1 och IBTSQ3. Måttlig till grav påverkan förekom i högre grad hos skrubbskädda från BITSQ1 än hos torsk (6.1% vs. 1.0%, es Fisher's exact test,  $p=0.06$ ), samt hos sandskädda jämfört med torsk (15.6% vs. 1.0%, ds Fisher's exact test,  $p<0.001$ ).

**Figur HF3. Kategoriserad påverkan<sup>1</sup> i gonaderna hos torsk, skrubbskädda och sandskädda provtagna inom vildfiskövervakningen 2022.**



<sup>1</sup> Ingen=inga inflammatoriska eller infektiösa förändringar, lindrig=påverkansgrad 1-4, måttlig=påverkansgrad 5-10, grav=påverkansgrad 11-17

Hos torsken fanns ingen signifikant skillnad i andel med inflammatorisk påverkan i gonaderna hos honor respektive hanar. Hos skrubbskädda noterades inflammation i gonaderna hos de två hanar som provtagits inom IBTSQ3 samt **hos en av nio honor inom samma provtagning (ds Fisher's exact test,  $p=0.06$ )**. Hos sandskäddan hade 2 av 41 (4.9%) hanliga gonader inflammatorisk påverkan, medan 36 av 49 (73.5%) **av honorna hade någon grad av inflammation (ds Fisher's exact test,  $p<0.001$ )**. Totalt hade 14 sandskäddor, samtliga honor, måttlig eller grav inflammatorisk påverkan.

#### Njure och mjälte

Många av de njurar och mjältar som noterades som svullna under BITSQ1 togs för histopatologisk undersökning. Även från några fiskar med hudförändringar hade njure och mjälte provtagits. Från BITSQ3 hade tyvärr inga njurar eller mjältar sparats. En översikt över histopatologiska fynd i njure, mälte och blod hos skäddor med svullen njure och/eller mjälte eller hudförändringar finns i Tabell HF10. Hos två fiskar med kraftigt svullen njure och mjälte hade njurens urinbildande delar nästan

helt trängts undan av en homogen matta av omogna vita blodceller (leukoblaster, Bild HF4I) i den blodbildande vävnaden. Även i mjälten sågs en homogen cellbild av omogna celler (Bild HF4J). Dessa fiskar diagnosticerades därför med leukemi.

Elva njurar hade varierande omfattning och stadium av inflammation (glomerulonefrit, Bild HF4K) i de urinfiltrerande enheternas (nefronens) kärlnystan (glomeruli) utan att en synbar orsak kunde identifieras. Tre av dessa fiskar hade dessutom områden i den blodbildande vävnaden som såg oroväckande homogena ut och där enstaka mitoser (celldelning) kunde identifieras. Åtta av de tio fiskarnas mjältar var reaktiva, dvs. de arbetade med att hantera en infektion i kroppen men mjältvävnaden i sig var inte infekterad, medan en fisk hade en inflammerad/infekterad mjälte (splenit) och hos en fisk såg mjälten opåverkad ut.

Hos tre fiskar konstaterades infektion med mikrosporidier i nefronens tubuli (Bild HF4L). Hos en av fiskarna hittades även en del av dessa encelliga parasiter i glomeruli. Hos en fisk noterades parasitcystor innehållande ett antal celler, även dessa i tubuli, men där parasiten inte kunde identifieras närmare. I denna njure förekom också påverkan av glomeruli, bland annat med förkalkningar. Mjälte hade inte fixerats. Ytterligare tre njurar var påverkade av förkalkningar i glomeruli och tubuli, en lindrigt, en måttligt och i den tredje var ca 80% av nefronen fyllda av kalk medan resterande nefron hade tecken på inflammation. Mjältarna var i samtliga tre fall reaktiva.

En njure bedömdes som normal och mjälten hos den fisken var lindrigt reaktiv. En något svullen mjälte hade fixerats från en fisk med hudsår. Den mjälten var lindrigt reaktiv.

#### Hud och tarm

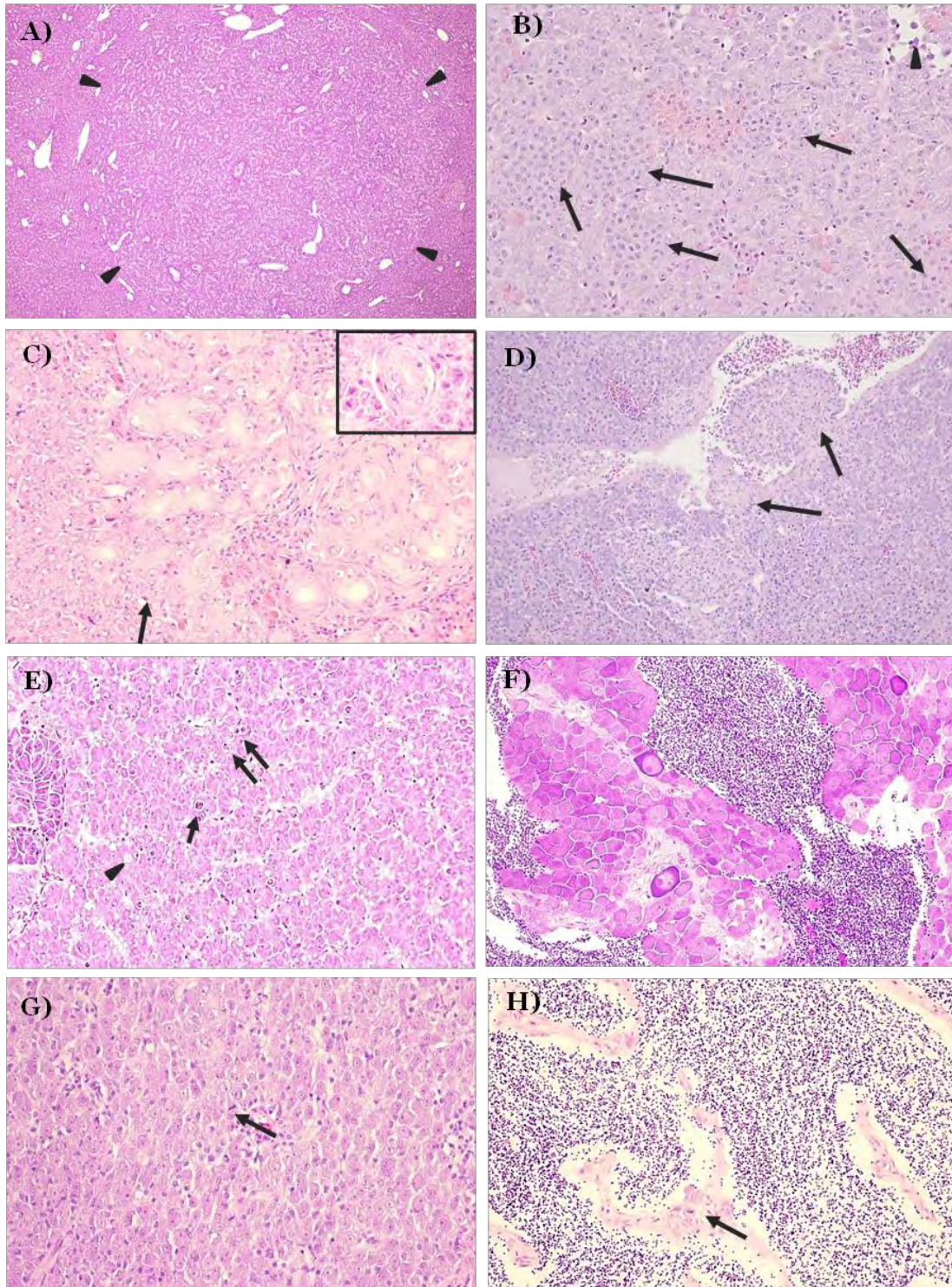
Från sju fiskar hade vävnad från hudsår fixerats. Samtliga preparat hade en pågående omfattande inflammatorisk process i både hud och underliggande muskulatur. Skadorna var därför av kronisk art. Hos en av fiskarna noterades relativt omfattande inväxt av bindväv vilket visar att såret var under läkning. Från tre fiskar med lymfocystis hade infekterad vävnad fixerats och den histopatologiska undersökningen påvisade karakteristiskt förstörade infekterade celler i mellanhuden (Bild HF4M).

Tarm hade fixerats från en skrubbskädda med vita prickar i tarmväggen. Den histopatologiska undersökningen visade att prickarna berodde på en lymfocystisinfektion (Bild HF4N). Denna fisk hade även lymfocystis i huden.

#### Blod

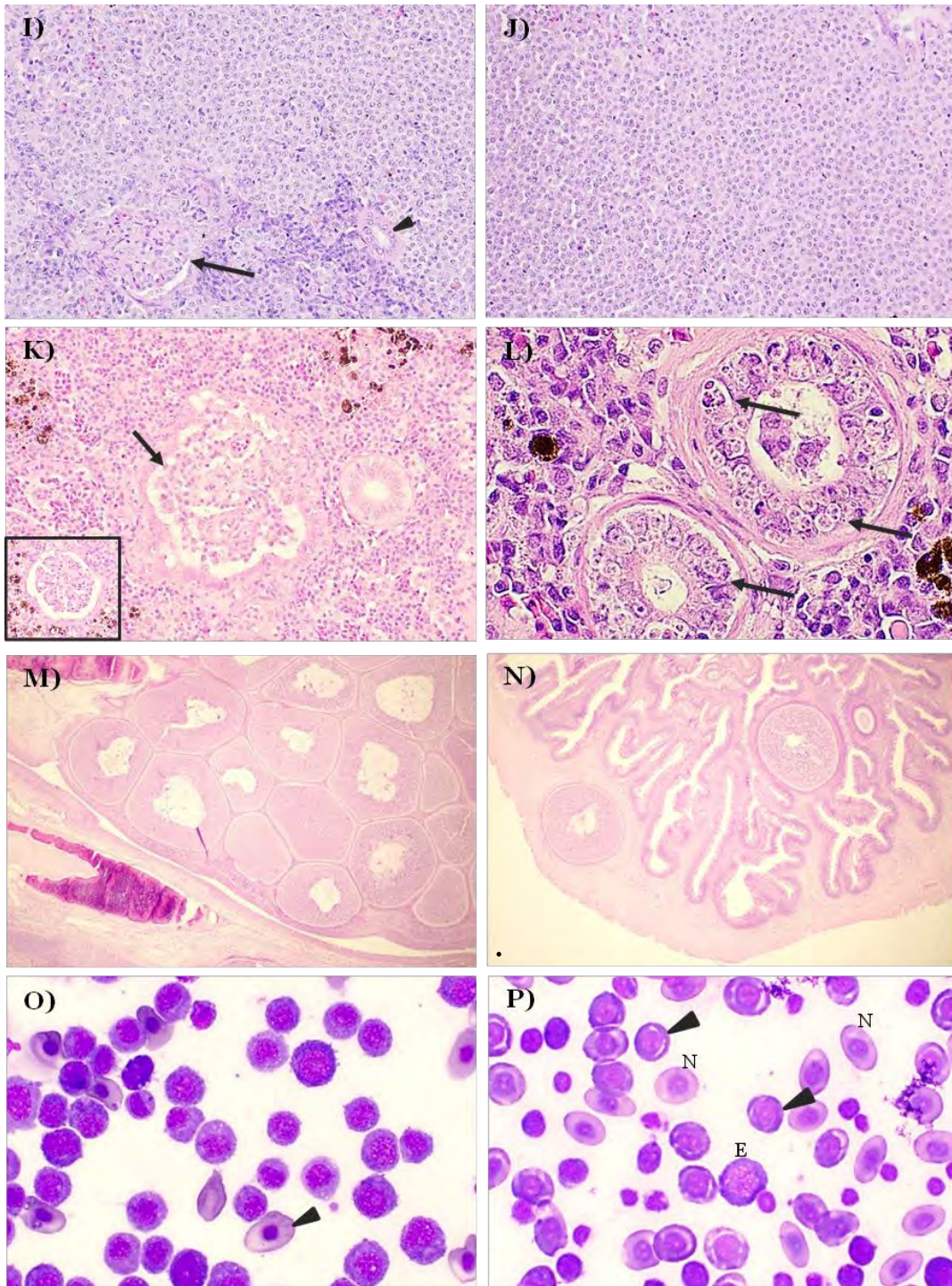
Blodutstryk fanns från samtliga fiskar. Blodutstryk har dock enbart lästs noggrant (med räkning av celler) från fisk där avvikelser indikerande allmän infektion/inflammation noterades vid provuttag, efterbedömning av bilder från provuttag eller om sjukliga förändringar noterades vid histopatologisk undersökning. Fynd presenteras i Tabell HF10. Ett antal blodutstryk var dålig (för svagt eller för starkt) färgade, vilket påverkade bedömningen. Sammanfattningsvis hade två skrubbskäddor från IBTSQ1 leukemisk blodbild (blodcancer, Bild HF4O), tre hade leukocytos (ökad mängd normala vita blodkroppar (stress eller infektionsorsakat) och tre hade ett skifte (infektionsbild), vilket innebär att den procentuella delen av de olika vita blodkropparna förändrats. I samtliga fall hade andelen monocyter och makrofager ökat. Hos skäddorna från IBTSQ3 noterades inga avvikelser i den vita blod bilden, däremot noterades att ett antal skäddor med svullen njure hade lindrigt-kraftigt ökad erytropoies (Bild HF4P), ökad produktion av röda blodkroppar.





**Bild HF4.** **A)** Adenom i lever. Cellförändringen är tydligt avgränsad (pilspetsar) och den normala vävnaden närmast området är komprimerad, vilket tyder på att massan ökat i storlek. **B)** Leukemiska infiltrat i levervävnad (pil) samt i blodkärl (pilspetsar). **C)** Gallgångscarcinom. Multipla små gångar med delvis otydlig avgränsning mot omgivande leverceller (pil). Makrofager (orange) och neutrofiler (lila) infiltrerar vävnaden mellan gallgångarna. Infällt ses en normal, solitär gallgång. **D)** Multipla tromber i leverns kärl. **E)** Single cell necrosis. Celler som håller på att dö (pilar) och tomrum med cellrester (pilhuvud). **F)** Seminom och **G)** normal mjölkesäck från samma fisk som **C)**. I den normala mjölkesäcken ses rikligt med mogna spermier och i bindvävsstråken ses små centra med stamceller. Pilarna visar på celledelning. **H)** Intersex. Utvecklade äggceller och mogna spermier. Bilderna är fotograferade vid X40 (A), X100 (D) och X400 (B, C, E-H) förstoring. Foto: Charlotte Axén, SVA.





**Bild HF4** fortsättning. Leukemi i **I** njuren och **J** mjälten, samma fisk som B. En inflammerad glomerulus (pil) och en normal tubulus (pilspets) samt sparsamt med normalt interstitium kan ses i nedre delen av njurbilden. I mjältbilden ses ingen normal vävnad. **K**) Glomerulonefrit. Riklig förekomst av makrofager runt kärlnystanet (pil). Till höger i bild ses en normal tubulus, infällt ses en normal glomerulus. **L**) Mikrosporidios. Tubuliepitelet är fullt av encelliga parasiter (pil). **M**) Lymfocystis i fen huden och **N**) i tarmen med karakteristiska kraftigt förstörade infekterade celler. Den svarta prick i nedre vänstra hörnet av **N**) visar ungefärlig normal cellstorlek. **O**) Blodutstryk, leukemi (samma fisk som **B**, **I**, **J**). Enstaka normala röda blodkroppar (pilhuvud). I övrigt bestod blodbilden av olika blast-stadier samt trombocyter (ej med i bild). **P**) Ökad erythropoies. En erytoblast (E) samt ca 50/50 av proerythrocyter (pilhuvud) och normala röda blodkroppar (N) blandat med olika vita blodkroppar inklusive trombocyter. Bilderna är fotograferade vid X40 (M, N), X400 (I, J, K) och X1000 (L, O, P) förstoring. Foto: Charlotte Axén, SVA.

**Tabell HF10.** Fynd vid histopatologisk undersökning av njure, mjälte och blodutstryk hos skrub- och sandskäddor 2022.

Fisk <sup>1</sup>	Makroskopiskt fynd <sup>2</sup>	Histopatologi/cytologi		
		Njure	Mjälte	Blod <sup>3</sup>
BITSQ1				
2	N, M	Leukemi	Leukemi	Leukemi
1	N, M	Glomerulinfrit, tidig leukemi?	Reaktiv	Skifte
1	N, M	Glomerulinfrit, tidig leukemi?	Reaktiv, parasitcystor	Normal
1	N, M	Glomerulinfrit	Reaktiv	Leukocytos + skifte
1	N, M	Glomerulinfrit	Reaktiv	Leukocytos
1	N, M	Glomerulinfrit	Reaktiv	Skifte
2	N, M	Glomerulinfrit	Reaktiv	Normal
1	N, M	Glomerulinfrit	Normal	Normal
2	N, M	Mikrosporidios	Reaktiv	Normal
1	N, M	-	-	Skifte
1	N, M	-	-	Normal
1	N	Glomerulinfrit	Splenit	Normal
1	N	Mikrosporidios	Normal	Normal
1	N	Encellig parasit		Normal
1	N	Nefrocalcinosis, nefroblastom?	Reaktiv	Normal
1	M	-	Reaktiv	Normal
1	M	-	-	Leukocytos
9	M	-	-	Normal
1	H	Glomerulinfrit, tidig leukemi?	Normal	Normal
1	H	Glomerulinfrit, nefrocalcinosis	Reaktiv	Normal
1	H	Glomerulinfrit	Reaktiv	Normal
1	H	Nefrocalcinosis	Reaktiv	Normal
<b>IBTSQ3</b>				
2	N, M	-	-	Erytropoies (K)
2	N, M	-	-	Erytropoies (L)
1	N, M			Dåligt färgat, ev erytropoies
2	N			Erytropoies (L)
4	N	-	-	Normal
1	M			Erytropoies (M)
2	M			Dåligt färgat, erytropoies

<sup>1</sup> Antal fiskar; <sup>2</sup> Organ med synlig förändring vid provuttag - N=njure, M=mjälte; H=Hud;

<sup>3</sup> Leukemi=blodcancer, Leukocytos = ökad mängd normala vita blodkroppar, skifte= förändring i andelen av olika vita blodkroppar, erytropoies=ökad produktion av röda blodkroppar

### **Virologisk och bakteriologisk odling**

Virologisk odling gjordes från fyra torskar och 22 skrubbskäddor och bakteriologisk odling gjordes från fem torskar och 22 skrubbskäddor inom BITSQ1. Virologisk odling gjordes från tre sandskäddor och bakteriologisk odling gjordes från fyra sandskäddor inom IBTSQ3. Ingen växt av virus påvisades. Information avseende de bakteriologiska proverna finns i Tabell HF11. Från samtliga

fiskar togs de bakteriologiska proverna från njure. Från en skrubbskädda togs dessutom bakteriologiskt prov från mjölkesäcken. Specifika bakterier kunde identifieras i fem prover. Ingen resistensundersökning genomfördes då inga bakterier med kända förutsättningar för resistensbestämning påvisades.

**Tabell HF11. Information avseende art, sjuklig förändring och resultat av bakteriologisk odling från njure hos fiskar provtagna under BITSQ1 respektive IBTSQ3 2022.**

Art	Förändring	Organ	Bakteriologisk odling <sup>1</sup>
<b>BITSQ1</b>			
Torsk	Hudblödningar	Njure	Blandflora (R)
Torsk	Blödningar lever	Njure	<i>Shewanella baltica</i>
Torsk (2 st)	Hudblödning	Njure	Blandflora (R), <i>Photobacterium</i> sp.
Torsk	Hematom bukmuskulatur	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda	Något svullen njure, små granulom och melanisering av lever	Njure	Blandflora (S)
Skrubbskädda	Levergranulom, parasitcystor, svullen njure	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda	Svullen njure med granulom	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda	Enstaka små levergranulom (prickar)	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda	Rodnad i huden	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda	Ingen registrerad	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda	Ingen registrerad	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 27	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 28	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 30	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 32	Hudblödningar och lymfocystis	Njure	<i>Shewanella baltica</i> (M) i blandflora
Skrubbskädda 33	Sår på "buksidan"	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 41	Svullen njure och mjälte	Njure	Ingen växt
Skrubbskädda 48	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 50	Svullen njure och mjälte	Njure	Ingen växt
Skrubbskädda 61	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 68	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 70	Svullen njure, gonadtumör	Njure, mjölkesäck	<i>Shewanella baltica</i> (Mycket sparsamt) i båda organen
Skrubbskädda 87	Svullen njure, hudrodnad	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 88	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Skrubbskädda 95	Svullen njure	Njure	<i>Acinetobacter johnsonii</i>
Skrubbskädda 96	Svullen njure och mjälte	Njure	Ingen växt
<b>IBTSQ3</b>			
Sandskädda 50	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (R)
Sandskädda 53	Svullen njure och mjälte	Njure	Ingen växt
Sandskädda 80	Fenröta (stjärtfena saknas)	Njure	Blandflora (M)
Sandskädda 85	Svullen njure och mjälte	Njure	Blandflora (M)

<sup>1</sup> Odling på saltblodagar, marinagar och/eller cysteinagar, (R) riklig växt, (M) måttlig växt.



## DISKUSSION

På grund av att IBTS-torskarna var så små genomfördes inte individuell fotografering. Därmed kunde ingen efterbedömning av synliga förändringar göras. Detsamma gäller makroskopiska och digestionsbaserade bedömningar av parasitbörda. Det innebär även att det inte har gått att göra någon jämförelse med BITS-torskarna. På det stora hela bedömdes torskarna vara i god kondition vid den yttre inspektionen. Ingen fisk hade låg konditionsfaktor ( $<0.7$ ). Hos 30% av torskarna noterades inga avvikelser vilket är en betydligt lägre andel än förra året (73%). Detta beror till största delen på en hög förekomst av leverparasiter. Glädjande är att torskarna från BITS även detta år hade en låg frekvens av sår (3%). Tidigare har förekomsten av sår varit relativt hög men vid provtagningen 2021 hade den sjunkit till 4%.

Noterbara skillnader från förra årets provtagning är betydligt fler akuta och kroniska sår på BITS-skrubborna (14% mot 0% 2021). Hudblödningar förekom också mer frekvent hos både skrubbskädda och sandskädda och från både BITS och IBTS. Orsaken till förändringen är inte fastställd. Frekvensen av lymfocystis hos skrubbskäddorna från IBTS var likvärdig med förra året (19 mot 22%). Den var däremot lägre hos skrubbskäddorna fångade under IBTS och samtliga sandskäddor (9 och 0%). Hos sandskäddorna från IBTS hade femton (17%) avvikande pigmentering. Detta är mer än en dubbling i förhållande till de sandskäddor som provtogs året innan (8%). Av dessa var nio (10%) hyperpigmenterade och sex (7%) hade pigmenteringsanomali. 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). Det är oklart om skäddornas pigmenteringsanomali är associerade med en mutation eller är orsakade av någon yttre påverkan så att det skulle representera en ärrbildning/immunreaktion. Då melanoforer 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).

Två torsk (2%) och en skrubbskädda (1%) från årets BITS-provtagningar visade tydliga tecken på intersex. Det är något som noterats vid tidigare undersökningar men som ej noterades vid 2021 års undersökningar. Ytterligare 16 individer (4%) av hade utvecklade gonader, trots att kroppsstorleken talade för att de bör ha uppnått könsmognad. I rapporten för 2020 diskuterades att intersex och utvecklade gonader skulle kunna vara en bidragande faktor till de sviktande torskbestånden. Fiskars könsutveckling kan styras av östrogener och androgener, och hormonpåverkan utanför perioden för könsdifferentiering kan leda till utveckling av intersex (Larsson et al., 2005). Att så är fallet kan fortsatt ej uteslutas, men då ingen fisk från 2021 års provtagning trots ett förhållandevis stort provunderlag uppvisade reproduktionsrelaterade avvikelser torde problemet vara förhållandevis litet i de områden som undersöktes. Upprepade provtagningar krävs för att kunna bedöma om detta är en långsiktigt positiv trend. Ett antal fiskar hade inaktiva gonader men det är oklart om detta beror på patologi eller att vissa individer var utlekta och att nya könsceller ej hade utvecklats.

Förekomst av lågradiga till måttliga inflammatoriska förändringar i gonaderna kan anses normalt, särskilt under någon till några månader efter lek, och framför allt hos honor då icke förbrukade mogna ägg och tömda folliklar ska tillbakabildas. Tjugo procent av fiskarna hade inflammatoriska eller infektiösa förändringar och av dessa visade endast två procent tecken på infektion. Hos skrubbskädda, som var den enda art där jämförelser mellan BITSQ1 och IBTSQ3 kunde göras, noterades ingen skillnad mellan de två fiskerna. Det var heller ingen signifikant skillnad mellan andelen torsk och skrubbskäddor avseende frekvens av avvikelser. Hos sandskäddor kunde en betydligt högre andel påverkade fiskar än hos torsk och skrubbskädda ses. Detta är ett annorlunda mönster än vad som noterats vid tidigare provtagningar då andelen avvikande gonader skilde sig mellan Östersjön och Västerhavet inom respektive art. Något som däremot är konstant med 2021 års provtagning är den högre andelen påverkade sandskäddor. Vad detta beror på är oklart. Som helhet är Östersjön mer förorenad än Västerhavet vilket talar emot att miljögifter är en viktig faktor. Det kan dock ej uteslutas att specifika miljögifter som kan ha en påverkan på gonaderna förekommer i högre halt längs väst- än östkusten. 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](http://www.havochvatten.se)). Sandskäddan är därmed provtagen i nära anslutning till lek vilket med stor sannolikhet är orsaken/en bidragande orsak till de fynd som gjorts.

Storlek (ålder) skilde sig kraftigt mellan torsken från BITSQ1 och IBTSQ3. Detta kan vara en bidragande faktor till att totalpoängen för leverpåverkan var signifikant högre hos BITS-torskarna. Det kan ej uteslutas att andra påverkansfaktorer bidragit till skillnaden men på grund av att de provtagna fiskarna skilde sig så mycket åt är det svårt att dra några säkra slutsatser. Om en bedömning i stället görs över flera års provtagning så upprepas detta mönster årligen, även då materialet är mer jämförbart, vilket innebär att det är en hög sannolikhet för att fisken i Östersjön i högre grad har en påverkan på levern än motsvarande fiskar från Västerhavet. Ett exempel på skillnader som kan vara relaterade till ålder och där resultaten stämmer överens med de från 2021 års provtagning är vakuolisering i levern och förekomsten av makrofagcentra. Torsken som provtogs inom BITSQ1 hade en signifikant högre vakuoliseringsgrad än torsken som fångades under IBTSQ3. Dock var skillnaden var betydligt större vid denna provtagning, vilket bedöms vara ett resultat av den ringa åldern hos IBTSQ3-torskarna. Vakuolerna är näringsupplagring i levern och är i sig inte sjuklig. Torsk har generellt en kraftig vakuolisering, och det är hos denna art normalt att man enbart ser en cellkärna och vakuoler i levercellerna. Vakuoliseringen blir sjuklig (förfettnings) när den blir så kraftig att cellkärnan påverkas eller vakuolerna spränger sönder cellerna (fettnekros). Vid provtagningarna sågs även en signifikant högre förekomst av cellsvullnad och makrofagcentra i BITSQ1-torskarnas lever. Cellsvullnaden är i hög grad kopplat till vakuoliseringsgrad, men även till exponering för ex toxiska substanser. Makrofagcentra 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. Skillnaden i förekomst av vakuolisering, cellsvullnad och makrofagcentra är därmed sannolikt i stort åldersrelaterad och kan inte utvärderas fullständigt för 2022 års provtagning, men även här syns en mer långsiktig trend som stöder att det finns en reell skillnad.

Förekomsten av inflammation i levern var signifikant högre hos IBTSQ3-torsken trots att dessa ännu inte uppnått den storlek där man förväntar sig inflammation till följd av nematodangrepp.

Orsaken till förekomsten av granulomen kan inte säkerställas, men de såg inte parasitära ut. Det kan till exempel handla om infektion med bakterien *Francisella noatunensis*.

Den totala leverpoängen skilde sig ej signifikant hos skäddor mellan de två provtagningarna. Däremot hade sandskäddor fångade under IBTS högre medelpoäng än skrubbskäddor från samma provtagning. Om detta är ett kliniskt relevant fynd och vad det i så fall beror på vet vi i nuläget inte.

Vakuoliseringsgraden skiljde ej mellan skrubbskäddorna från de två provtagningarna men sandskäddorna från IBTS hade en högre vakuoliseringsgrad än skrubbskäddorna från IBTS, detta med hög signifikans.

Medelantalet leverparasiter vid histologisk bedömning var signifikant högre hos torskar fångade under BITSQ1 än under IBTSQ3. Detta var väntat då IBTSQ3-torskarna var mycket unga.

Under 2020 sågs i motsats till tidigare undersökning (SVA, 2019) minskad parasitbörda i levernarna ju längre in i/norrut i Östersjön torsken var fångad. Detta samband kunde inte ses vid undersökningarna 2021. Resultaten från 2022 är svåra att bedöma ur detta hänseende då samtliga prover som togs kom från de södra delarna av provtagningsområdet. Noterbart är att levernarna hade en betydligt större parasitbörda än under 2021.

Korrelationen mellan parasiter räknade på leverns yta och parasiter räknade vid digestion var lägre än vid 2021 års provtagning. I samtliga fall där resultaten skiljde sig år hittades fler larver vid digestion än vad som kunde räknas på ytan. Fullständig överensstämmelse mellan metoderna kan inte förväntas, då parasitbördan inuti levern är dold innan digestion. Klassning i närmast liggande 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)). Tretton leverar (22%) hamnade mer än en kategori lägre vid räkning av parasiter på ytan än vid digestion. Efter några års jämförelser kan vi konstatera att samstämmigheten mellan metoderna varierar och det kan ifrågasättas hur bra en estimering av parasitbördan via synliga parasiter på leverytan egentligen fungerar.

Generellt hade fiskarna betydligt mindre ektoparasiter än vad som påvisades 2021. En sammanvägd bild av senare års provtagningar tyder dock på att årets resultat är mer normala medan ovanligt mycket yttre parasiter påvisades 2021. Årets resultat kan vara något missvisande då torskarna från IBTS var så pass små att de inte har bedömts fullständigt.

Förekomst av svullna njurar har noterats både inom IBTSQ1 och SLU:s kustprovfiske i Hanöbukten de senaste åren. Utvecklingen är oroande, särskilt som vi nu kan påvisa leukemi hos vissa av fiskarna. Under 2022 hade förekomsten ökat drastiskt jämfört med 2021, från 4 till 18 fiskar. Dessutom hittades samma symptom hos 10 sandskäddor från IBTSQ3. I tillägg förekom svullen mjälte hos flertalet av dessa fiskar. Den histopatologiska undersökningen av skrubbskäddorna från BITSQ1 visade inte på en helt samlad bild av fynden, men samtidigt kan det inte uteslutas att grundorsaken är densamma och att andra faktorer tillkommit senare. Förekomsten av glomerulonefrit och reaktiva mjältar talar för en infektion. En relativt nyligen introducerad infektion skulle också kunna förklara att sjukdomen verkar öka i frekvens och sprida sig i populationen. De två leukemiska njurar, samt ytterligare tre njurar med misstänkt tidig leukemi, kan mycket väl vara sena stadier av en infektion som i första hand leder till glomerulonefrit. Till exempel är retrovirus kända för att orsaka tumörer i hematopoietisk vävnad hos fisk (se till exempel kapitlet om Gäddsarkom under Del 4. Sötvattenslevande fisk). Retrovirus går inte att odla på cellkultur, vilket i så fall förklarar de negativa resultat som erhålls vid virologisk odling där vävnad från dessa njurar inkluderas. Bakteriologiska undersökningar har hittills inte gett något samstämmigt resultat som pekar mot en bakteriell etiologi. Mjältens aktivitet och blod bilden hos

dessa fiskar varierade, vilket sannolikt beror på hur allvarligt infekterad fisken var samt var i sjukdomsfasen den befann sig.

De fyra fiskarna med encelliga parasiter hade inte glomerulinefrit och fallen bedöms inte vara direkt kopplade till varandra. Nefrocalcinosen bedöms inte heller vara direkt kopplad till glomerulinefriten då endast en av tre njurar med nefrocalcinosis visade tecken på samtidig (lindrig) glomerulinefrit. Nefrocalcinosis kan uppstå när pH i vattnet är lågt eller pCO<sub>2</sub> är högt. Utfällningar av kalk kan också uppkomma sekundärt till vissa parasitära infektioner.

Avsaknaden av vävnadsprover för histopatologisk undersökning av de svullna njurarna och mjältarna hos sandskäddor från IBTSQ3 är problematisk, då jämförelser mellan de två provtagningarna därmed inte kan göras. Den blodbild som kan ses hos sandskäddorna talar dock för att njuren är svullen på grund av ökad belastning (ökad nybildning av röda blodkroppar). Det kan finnas flera orsaker till en ökad nybildning av röda blodkroppar. Ett ökat behov av röda blodkroppar uppstår till följd av omfattande blödning, en infektion, toxiner eller fria syreradikaler som attackerar de röda blodkropparna eller lågt pO<sub>2</sub> i vattnet. Rubbningar i sköldkörteln kan leda till en sjuklig överproduktion av röda blodkroppar. Det enda vi med säkerhet kan säga i detta fall är att ingen av sandskäddorna hade några skador som skulle ha kunnat orsaka en blodförlust. Många blodutstryk var svårlästa, men det fanns inte heller några tecken på att de mogna röda blodkroppar som observerades skulle vara infekterade eller skadade.

Av de 30 fiskar där prover togs för bakteriologisk odling kunde specifika bakterier endast odlas fram från fem fiskar. Samtliga dessa kom från BITSQ1 och tre av dessa fem renkulturer var *Shewanella baltica*. Att fler bakteriologiska prover tas från BITSQ1 än IBTSQ3 samt att fler av dessa innehåller ren bakterieflora är något som upprepats flera år. Vad detta beror på är oklart. Det kan innebära att fisken i Östersjön i högre utsträckning är drabbad av bakteriella infektioner men det kan också bero på att fler prover för bakteriologisk odling tas under BITSQ1. Något som gör resultaten än mer svårtolkade är att det har växt ren bakterieflora på en väldigt liten andel av de prover som odlats. Detta beror troligtvis på att provtagningen pågår under lång tid och att det därför tar för lång tid innan proverna stryks om på plattor för att få bra resultat.

De fiskar som SVA har undersökt är inte helt representativa för all torsk/skrubbskädda och sandskädda som fångades inom BITSQ1 och IBTSQ3 2022. Om det har funnits till exempel 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 eller att SLU tagit hand om leverna för sina parasitundersökningar. Detta är ett problem som även uppkommit tidigare år och som med största sannolikhet kommer att vara svårt att lösa även vid framtida provtagningar på grund av det sätt fisket bedrivs på och tillgången på fisk i olika områden.

## SLUTSATS

Förekomsten av yttre sjukliga förändringar var låg. Utvecklingen av njurproblem hos plattfisken är oroande och måste fortsätta att utredas. Kompletterande undersökningar måste genomföras av plattfisk med njurförändringar inom IBTSQ3. Enstaka fiskar hade tecken på reproduktionsstörningar och gonader bör 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.

## 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. International Council for the Exploration of the Sea (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 Opistorchidae 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.
- 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: 85-103. Apoteket, Stockholms läns landsting och Stockholms universitet.
- 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, februari 2016
- SVA (2019). Sälhälsa, zoonosrisker, säl- och torsksmask. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten 2019-02-15
- 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. Utvärdigt synliga förändringar – klassificering av allvarlighetsgrad<sup>1,2</sup>

<b>Lymphocystis (plattfiskar)</b>	
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
<b>Epidermal hyperplasi/papillom (alla arter)</b>	
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
<b>Hudsår (alla arter) - UlcAcu, UlcHe, Pap, Chro men inte UlcHaem, UlcAb<sup>3</sup></b>	
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
<b>Melanisering/hyperpigmentering (alla arter)</b>	
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
<b>Pigmentanomalier/albinism (alla arter)</b>	
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
<b>Skelettdeformationer (alla arter) – skolios, lordos/kyfos, mopsskalle etc</b>	
1-3	subjektiv klassificering, behöver kalibreras mellan olika aktörer
<b>Pseudolipom (sandskädda)</b>	
1-3	subjektiv klassificering, behöver kalibreras mellan olika aktörer

<sup>1</sup> Översatt från tabell (opubl) erhållen av Jörn Scharsack, Thünen Institute of Fisheries Ecology, Tyskland; <sup>2</sup> 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); <sup>3</sup> 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 fisk<sup>1</sup>

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/strömning	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

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

## Akutmedel

Med hjälp av akutmedel genomfördes undersökningar av fisk efter Nord Stream-sabotaget, några prover från SLU:s kustprovfiske i Hanöbukten samt en skrubba från en rapporterad massdöd av rödspätta i Skåne.

## Undersökningar av fisk som provtagits nära Nord Stream-läckan

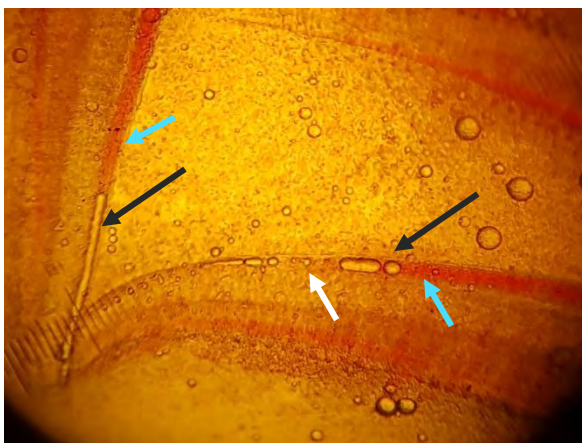
### BAKGRUND

Den 26 september skedde ett misstänkt sabotage mot naturgasledningarna Nord Stream 1 & 2 i närheten av Bornholm. Stora mängder naturgas hann frisättas från ledningarna innan media rapporterade att läckagen hade upphört den 1 oktober (Nord Stream 2) respektive den 2 oktober (Nord Stream 1). SVA fick tisdagen 30 september 2022 förfrågan om vi kunde göra undersökningar av fisk från området kring läckorna. Proverna kunde samlas in i samband med SLU:s provfiske BIAS som skulle gå av stapeln veckan efter. Det fanns inte möjlighet för SVA att delta i expeditionen och genomföra obduktioner, så SVA efterfrågade formalinfixerade organ (gäle, njure, lever) samt blodutstryk från hjärtblod. Vidare efterfrågades bilder av alla provtagna fiskar samt morfometriska data och halens koordinater.

Naturgas består till största delen av metangas men mindre mängder av andra alkaner (kolväten) och spår av andra gaser som koldioxid, kväve, vätesulfid och helium. Metan är en inert gas, vilket innebär att den inte reagerar med omgivningen, inklusive djurs vävnader. Detta innebär att den inte i sig är giftig, men den kan ändå ha negativa effekter på levande organismer då den tränger undan syre i luften eller vattnet, vilket kan leda till syrebrist och symptom relaterade till detta. En allmän syrebrist kan ge upphov till diffus degeneration och vävnadsdöd i kroppens olika organ, direkt beroende på minskad tillgång på syre eller till följd av en försurning av blodet (respiratorisk acidosis).

Utsvämmning av (metan)gas i vattnet leder också till gasövermättnad, vilket leder till att en ökad mängd gas tas upp av fiskars gälar, varvid blodet övermättas med gas och gasblåsesjuka (motsvarar dykarsjuka hos människor) uppstår. Gasblåsesjuka innebär att embolier (proppar) av gas fastnar i kärl, främst i kapillärer, de minsta kärlen, men om större gasbubblor förekommer drabbas även arterioler eller artärer. Proppen stoppar blodflödet vilket leder till akut syrebrist i den vävnad som försörjs av kärlet och en infarkt uppstår. Omfattande proppbildning är direkt dödlig medan en låggradig proppbildning under en längre tids gasövermättnad leder till bland annat försämrat immunförsvar på grund av en kronisk låggradig syrebrist i fiskens kropp. Detta på grund av att gälarna alltid drabbas vid gasblåsesjuka (Bild HF5), och en minskad cirkulation genom gälfilamenten hämmar gälarnas syreupptagande förmåga.





**Bild HF5.** Luftembolier (svarta pilar) i gälfilamenten vid gasblåsesjuka hos regnbåge. Notera blod i kärlet före embolierna (blå pilar) medan blod inte kunnat ta sig förbi embolierna utan kärlet är tomt efter embolierna (vit pil). Direktmikroskopi av färskt preparat. Foto: SVA

Syrebrist samt gasblåsesjuka är därför de två tillstånd som metangas/naturgas i vattnet kan förväntas ge på fisken. I tillägg till detta kan man förvänta sig att fisk som befann sig nära Nord Stream i samband med sabotaget påverkades av den tryckvåg som explosionerna gav upphov till. Explosioner/tryckvågor kan ge upphov till frakturer på kotpelaren samt blödningar eller sönderslitningar i olika organ. Observationer som SVA gjort i samband med undersökningar av fisk som dödats av fiske med sprängmedel inkluderar bristningar i ögats lins, bristning av simblåsan, blödningar i olika organ samt avslitning av aorta och förblödning.

#### **METODER**

Fisken fångades genom trålning, där varje tråldrag varade ca 30 min. GPS-koordinater för start samt stopp för respektive drag och medeltråldjup ingick i data SVA erhöll från SLU. SVA erhöll dessutom GPS-positioner för de fyra gasläckorna från Havs- och vattenmyndigheten.

I samband med provtagningen fotograferade SLU varje fisk från höger och vänster sida samt båda sidors gälar exponerades för ytterligare fotografering. Uppenbara inre förändringar fotograferades också. Fotografierna möjliggjorde granskning avseende avvikelser i efterhand.

Vid provtagningen formalinfixerade SLU organbitar (max 0,5 cm tjocklek i en av tre dimensioner) i 4% boraxbuffrad formalin samt genomförde blodutstryk av hjärtblod på objektsglas. Proverna skickades efter ankomst till hamn till SVA och bilder samt data avseende fiskarna levererades elektroniskt.

Efter ankomst till SVA genomfördes en renskärning av organbitarna, de placerades i kassetter samt lades i 4% fosfatbuffrad formalin i en vecka. Därefter genomfördes en avkalkning av vävnaden för att luckra upp brosk i gälarna. Organbitarna kunde därefter bäddas, snittas och färgas med Hematoxylin & Eosin enligt rutin vid SVA:s histopatologiska laboratorium. Blodutstryken fixerades i metanol samt färgades med Diff-Quicklösning. Läsning av snitt och utstryk gjordes i 400 – 1000 x förstoring.

I samband med renskärningen klipptes några fixerade gälfilament loss och lades i 70% etanol. Detta gjordes för att kunna genomföra direktmikroskopi på de fixerade gälbitarna utan användande av dragskåp.

Histopatologisk och cytologisk bedömning gjordes med hjälp av standardiserade mallar som SVA använder vid hälsoundersökning av vildfisk.

Vid bedömning av gälar räknas antalet primära gällameller som är bedömnings-bara och därefter bedöms frekvensen av skador (blödningar, ökad förekomst av slemceller, hyperplasi, förekomst av parasiter, förekomst av bakteriell infektion (epiteliocystis) samt korreleras till antalet primärlameller.

Avseende njure bedöms status på nefron (filtrerande enheter) samt interstitium (blodbildande vävnad). Nefronen består av glomeruli (filtrerande kärlnystan) samt tubuli (transport av filtrat, koncentration och utspädning av detsamma). Här räknas totalantalet glomeruli, antalet glomeruli med förändringar, förekomst av hyalina avlagringar i tubuli samt eosinofila granula i tubulicellerna, förekomst av parasiter i tubuli, förekomst av degeneration eller nekros av tubuliceller, samt regeneration av nefron. Interstitiet bedöms avseende degeneration/nekros, blödningar, förekomst av makrofagcentra, förekomst av inflammation samt förekomst av parasiter.

Levern bedöms avseende näringsstatus (vakuolisering), tecken på förfettning (förekomst av förkrympta/uttryckta kärnor, steatos, fettnekros), inflammation, parasiter, degeneration eller nekros, blödningar, tecken på cellsvullnad samt förekomst av tumörer eller cellförändringar som kan vara begynnande tumörer.

Förändringar som inte finns fördefinierade i mallen men observeras noteras också, oavsett organ.

Blodutstryk bedöms genom differentialräkning av vita blodkroppar samt undersökning av röda blodkroppar med avseende på toxiska förändringar och förekomst av omogna blodceller. I en **”normal” vit blodbild bör lymfocyter utgöra >80% av de vita blodkropparna, neutrofiler <10%, trombocyter (blodplättar) <5% och monocyter /makrofager <2%.** 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.

### 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 för att undersöka samband. **Då endast drag 232, ”Nord Stream-draget” innehöll mer än 10 provtagna torskar, har data från övriga drag klumpats ihop för statistisk bearbetning, så två grupper om 14 torskar (drag 232) samt 12–15 torskar (övriga drag) jämförts.**

### RESULTAT

Totalt provtogs 34 fiskar (29 torskar och 5 skrubbskäddor) från åtta drag för SVA:s räkning (Tabell 1). Provtagningarna genomfördes den 13/10 (drag 226 - 229), 14/10 (drag 232 - 233) samt 15/10 (drag 235 - 236). Dragens geografiska position framgår av Bild HF6. Drag 232 genomfördes ca 7 nautiska mil (ca 13 km) från de tidigare gasläckorna. Från detta drag provtogs 14 torskar. Resterande fiskar provtogs längre från platsen för läckorna och utgör referensmaterial för SVA:s undersökningar. Trålningen hade gjorts på medeldjup om ca 53 m för drag 232 och 9 – 43 m för övriga drag.

**Tabell HF12.** Basdata avseende de fiskar som provtagits för SVA:s räkning. Positioner för dragen återfinns i kartan (Bild HF6).

Fisknr	Art	Längd (mm)	Vikt (g)	Kön	Drag nr.	Lokalnamn
G101	Torsk	320	255	F	226	51 S Heligholmen
G102	Torsk	290	194	F	226	"
G103	Skrubbskädda	240	131	M	227	50 SE Ölands södra udde
G104	Torsk	180	56	M	228	37 SE Ölands södra
G105	Torsk	200	76	M	228	"
G106	Torsk	170	42	F	228	"
G107	Torsk	360	376	M	229	35 SE Utlängan
G108	Torsk	380	340	F	229	"
G109	Torsk	330	228	M	229	"
G110	Torsk	310	260	F	229	"
G111	Torsk	170	58	F	229	"
G112	Skrubbskädda	260	188	M	229	"
G113	Skrubbskädda	330	394	F	229	"
G114	Skrubbskädda	260	172	M	229	"
G115	Skrubbskädda	280	201	M	229	"
G116	Torsk	300	178	M	232	30 NE Fredriksö
G117	Torsk	310	216	M	232	"
G118	Torsk	280	132	M	232	"
G119	Torsk	250	96	M	232	"
G120	Torsk	285	156	M	232	"
G121	Torsk	330	290	F	232	"
G122	Torsk	270	150	M	232	"
G123	Torsk	270	157	M	232	"
G124	Torsk	330	226	M	232	"
G125	Torsk	260	150	M	232	"
G126	Torsk	270	145	M	232	"
G127	Torsk	270	118	M	232	"
G128	Torsk	300	152	F	232	"
G129	Torsk	250	107	M?	232	"
G131	Torsk	280	140	F	233	23 ENE Grisby
G132	Torsk	450	768	F	235	3 NE Hammerodde
G133	Torsk	430	495	M	235	"
G134	Torsk	380	432	F	235	"
G135	Torsk	380	396	M	236	8 E Baskemölla



**Bild HF6.** Positioner för de drag (start- samt slutpunkt) inom BIASQ4 varifrån SVA fått material för undersökning. Stjärnorna anger positioner för läckorna på Nord Stream 1 & 2 enligt underlag från Havs- och vattenmyndigheten. BY4 och BY5 är två av SMHI:s mätstationer för bland annat vattentemperatur och fytoplankton. Kartunderlag från <https://rl.se/rt90>

Samtliga torskar var relativt små, mellan 170 och 450 mm. Det fanns ingen signifikant storleksskillnad mellan dragen (drag 232: median 275 mm, min 250, max 330 mm, övriga drag: median 320 mm, min 170mm, max 450 mm; Wilcoxon rangsummetest  $Z=-1.4$ ,  $p>0.05$ ).

### Bedömning av fotografier

Samtliga översiktsbilder var av bra kvalitet och kunde bedömas noggrant. Bilderna av gälar var svåra att bedöma på detaljnivå, men en översiktlig bedömning av färg och förekomst av tydliga förändringar kunde göras.

En torsk (drag 232) hade hudblödningar/småsar på buksidorna (Bild HF7A). Åtta torskar, fem från drag 232 och tre från övriga drag, hade utstående ögon (exoftalmi), varav två (drag 226) även hade framfall av urinblåsa och könsorgan genom kloaken (Bild HF7B).

Inga tydliga patologiska förändringar noterades på gälarna. Färgen varierade men mest sannolikt beroende på olika tidsspänn från död till fotografering. Några fiskar hade bleka spetsar på gälfilamenten eller enstaka filament med stas/blödningar.

För en skrubbskädda hade levern fotograferats. Organet hade blödningar och såg ut att vara sönderfallande (Bild HF7C).





**Bild HF7. A)** Torsk med små hudblödningar/sår. Gälarna har fin färg. **B)** Torsk med kraftig exoftalmi samt framfall av romsäckan. **C)** Sönderfallande lever med omfattande blödning, skrubbskädda.

### Histopatologisk och cytologisk bedömning

Skrubbskäddornas organ har bedömts men inkluderas inte i denna rapport då det inte fanns några skrubbskäddor provtagna i drag 232, och histopatologiska fynd inte kan likställas mellan arterna p.g.a. olika livsmiljöer, föda med mera.

### Gälar

10 gälfilament som efterfixerats i etanol direktmikroskopades men inga uppenbara förändringar i form av gasbubblor (se Bild HF5) eller hyperplasi noterades. Därför genomfördes enbart en noggrann kontroll av histopatologiskt preparerade gälar.

En sammanställning per individ över histopatologiska fynd på gälarna finns i Tabell HF13. Tre individer (G106, G108 samt G111) hade gälar utan onormala fynd.

Den totala sjuklighetspoängen för gälar var högre hos fisken i drag 232 (median 8.66, SD 9.25) jämfört med övriga torsk (median 2.63, SD 3.75), Wilcoxon rangsummetest  $Z = -2.40$ ,  $p < 0.05$ .

#### Akuta förändringar

Inga akuta patologiska förändringar noterades, däremot noterades förekomst av akuta postmortala förändringar i form av epitelcellsknoppning och avlossning, eller avlossning av basalmembranet från kapillärkolumnen hos ett antal fiskar.

#### Subakuta förändringar (dagar till någon vecka)

Ihoppackning av kapillärkolumnen (eng. pillar column), fortsättningsvis kallas förändringen wire-loops, med sammansmältning av epitelet som en säck runt, noterades också hos ett antal individer. Wire-loops var av varierande grad, från mild till hela sekundärlamellen (Bild HF8A-C) samt från mindre områden av ett gälfilament till mer än 50%. Enstaka individer hade mild hyperplasi av de drabbade sekundärlamellerna. Både antalet individer med wire-loops samt graden av ihoppackning var signifikant högre hos torsken från drag 232 (median 0.12, SD 0.19) än från de andra dragen (median 0, SD 0.10), Wilcoxon rangsummetest  **$Z = -2.22$ ,  $p < 0.05$** .

En ökad mängd slemceller, oftast låggradig på sekundärlamellerna noterades hos ett antal individer (Bild HF8D, E). Förändringen var associerad med hyperplasi i vissa fall men förekom utan samtidig hyperplasi hos andra torsk. Det fanns ingen skillnad i ökad förekomst av slemceller mellan torsken från drag 232 och övriga torsk.

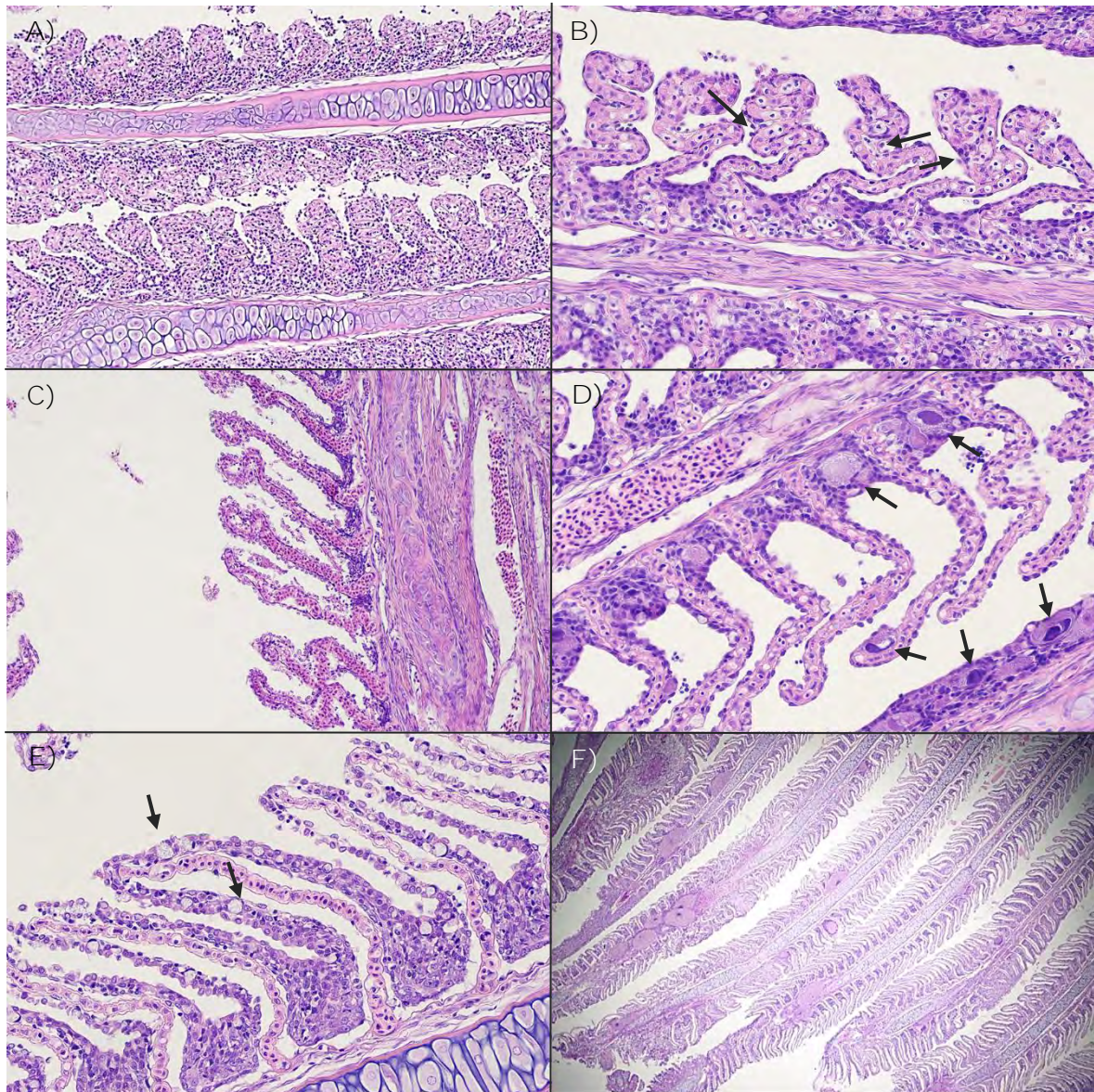
Några torsk hade också förekomst av bakteriell infektion (epiteliocystis), i alla fallen enstaka cystor på ett eller ett par filament. Hos två torsk noterades jätteceller i kryptorna mellan sekundärlamellerna (Bild HF8D). Detta är typiskt för herpesvirusinfektion orsakad av Gadeid herpesvirus-1 (GaHV-1).

#### Kroniska förändringar

Förekomst av parasitinfektion noterades hos ett antal torsk. Hos sju torsk noterades xenom med amorf massa (oidentifierade parasiter), och hos fem torsk sågs mikrosporidiecystor och/eller xenom (sannolikt *Loma morhua*, Bild HF8F). Två fiskar från drag 232 hade massiv infektion med mikrosporidier.

Hyperplasier (vävnadstillväxt) förekom hos 15 torsk. Hyperplasierna var oftast av mild grad men kunde involvera stora delar av den gälbit som undersöktes. Massiv hyperplasi sågs hos torsk med mikrosporidiosis då det fanns stora xenom-bildningar samt granulom med degenererade mikrosporidixenom, vilket indikerar att infektionen pågått en längre tid. Det fanns ingen signifikant skillnad i graden av kroniska förändringar mellan torsken från drag 232 och övrig torsk.





**Bild HF8. A)** Två gälfilament med kraftig wire-looping av sekundärlamellerna. **B)** Närbild av måttlig wirelooping med begynnande sammansmältning av epitel (pilar). **C)** Lindrig wire-looping, torsk provtagen 2018. **D)** Riklig förekomst av jätteceller, infekterade med herpesvirus (pilar), samt måttlig förekomst av slemceller på sekundärlamellerna. **E)** Lindrig-måttlig hyperplasi av sekundärlameller samt intralamellär vävnad. Måttlig förekomst av slemceller på sekundärlamellerna (svart pil). **F)** Kraftig förekomst av mikrosporidiexenom, granulom efter degenererade xenom samt måttlig-kraftig hyperplasi.

### Njure

Prov från njure saknades från tre torskar, i stället var gaskörtel av misstag provtagen. En sammanställning per individ över fynd i njurarna finns i Tabell HF13. Den totala sjuklighetspoängen för njure var högre hos fisken från drag 232 (N=14, median 186.4, SD 67.5) än fisken från övriga drag (N=12, median 134.4 SD 60,9), Wilcoxon rangsummetest Z 2.06,  $p < 0.05$ .



### Akuta förändringar

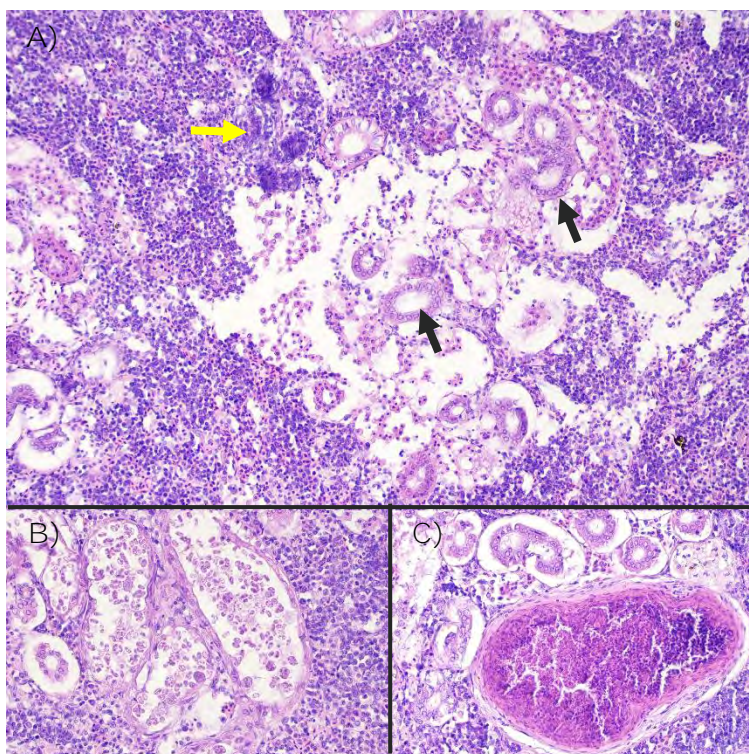
Akut degeneration av tubuli (akut nefros, Bild HF9A) observerades hos totalt 22 torskar, varav samtliga 14 torskar från drag 232 hade degeneration till någon grad. Skillnaden var signifikant, med mer omfattande degeneration hos torsken i drag 232 (median 90, SD 48.5) än hos övriga fiskar (median 10, SD 37.8), Wilcoxon rangsummetest  $Z$  3.19,  $p < 0.01$ .

### Subakuta till kroniska förändringar

Förekomst av olika förändringar i glomeruli noterades i form av ödem i kapseln, kompakta glomeruli eller i princip upplösta glomeruli. Det fanns inga tecken i tubuli på akuta skador i glomeruli. Endast hos två fiskar bedömdes samtliga glomeruli som normala. Det fanns inga statistiska skillnader mellan torsken i drag 232 och övriga torskar.

Regeneration av tubuli noterades i någon grad hos samtliga torskar utom en. Det fanns inga statistiska skillnader mellan torsken i drag 232 och övriga torskar. Den torsk som inte hade några regenererande tubuli hade generellt mycket få nefron, glomeruli som inte såg ut att vara kopplade till ett tubulisystem samt hyalina avlagringar i de få glomeruli och tubuli som fanns.

Makrofagcentra observerades i varierande grad men hos samtliga torskar. Det fanns ingen skillnad i mängden makrofagcentra mellan torsken i drag 232 och övriga torskar.



**Bild HF9. A)** Område med fattande degeneration av tubuli. Normala tubuli (svart pil) och regenererande nefron (kraftigt lila, gul pil) ses i anslutning till skadan. **B)** Tubuli med massiv coccidieinfektion. **C)** Parasitärt granulom i anslutning till tubuli.

Parasiter och/eller parasitgranulom i interstitiet noterades (Bild HF9C) hos 11 torskar. Hos två torskar noterades coccidier i tubuli. Den ena torsken hade ett par coccidier i tubulilumen utan



tecken på infekterade tubuliceller, medan den andra hade en massiv infektion av coccider i olika livsfaser och med total destruktion av det infekterade epitelet (Bild HF9B).

#### Lever

Inga tecken på sjukliga förändringar utöver de som normalt kan förväntas och observeras hos torsk i samband med vår övervakning (exempelvis fettdegeneration, parasitförekomst) noterades. Därmed har ingen statistisk bearbetning av data gjorts.

#### Blodutstryk

Blodutstryk saknades från en individ från hal 232. En översikt över fördelningen av olika fynd per torsk finns i Tabell HF13.

#### *Röda blodkroppar*

Hos samtliga torsk bedömdes de mogna röda blodkropparna normala och det fanns inga tecken på toxisk påverkan. Förekomst av omogna stadier av röda blodkroppar (>1% av cirkulerande röda blodkroppar) noterades hos åtta torsk, varav tre från hal 232. Andelen proerythrocyter var då 2 - 5%. Enstaka erythroblaster noterades hos en av dessa torsk samt hos en torsk som hade enstaka proerythrocyter.

#### *Vita blodkroppar*

Lymfocyter utgjorde 73 – 100% av den räknade fraktionen vita blodkroppar. Övriga blodkroppar utgjordes av monocyter, inklusive den aktiva formen makrofager utom hos två torsk där även enstaka neutrofiler noterades. Makrofager noterades i den räknade fraktionen hos tolv torsk, och utgjorde då 1 – 9% av den totala mängden vita blodkroppar. Fem torsk hade förekomst av omogna lymfocyter (prolymfocyter) i blodet, där dessa utgjorde 1 - 4% av den räknade fraktionen vita blodkroppar (två torsk från hal 232, två torsk från andra hal), samt 62 och 66% av den bedömda fraktionen vita blodkroppar, där båda torskarna kom från hal 232. En av de två senare torskarna var den torsk som hade hudblödningar, medan den andra torsken inte hade några yttre tecken på sjukdom.

**Tabell HF13.** Fynd på gälar, njure och blodutstryk från torsk provtagen inom BIAS för SVA:s räkning. Gråskuggat område representerar torskar från provtagningspunkten närmast Nord Stream-läckorna. Skala för förekomst: (+) enstaka, +=lindrig, +=måttlig, +++=riklig/kraftig, ++++=mycket riklig/kraftig.

Fisknr	Gälar					Njure				Blod				
	slenceller	Wire-loops	Hyperplasi	bakterie (E) <sup>a</sup> virus (V) <sup>b</sup>	Parasiter	% glomeruli med förändring	Degeneration tubuli	Regeneration tubuli	MMC	Parasiter interstitiellt (I) tubulärt (T)	% lymfocyter <sup>c</sup>	% monocyter <sup>c</sup>	% Pro- lymfocyter <sup>c</sup>	% Pro- erythrocyter <sup>d</sup>
G101		+						Njure saknades			76	24		
G102		+++		E (+)				Njure saknades			95	5		3
G104				E (+)				Njure saknades			81	19		
G105				V +		28	+	++	+	I +	99	1		
G106						46	++	++	+		92	8		
G107	+	+				24	+	+++	+++	I +	92	8		
G108						61	+	+	++		73	27	3	2
G109		+				11	+	+++	++	I ++	92	8	2	5
G110	(+)	+				10	+++	+	++		96	4		
G111						0	+++	++	++		85	15		
G116					Parasitxenom +	4	++	++	+++	I ++	93	7		
G117		++		E (+)		35	++	+++	++		96	4		
G118	++	+++				59	+++	+	++	I +	93	7	66	3
G119	++	+++	+		Parasitxenom +	48	++++	++	++	I ++	100	0		
G120		+	(+)			16	+	+++	+++	I +++	96	4	62	
G121		++				56	+++	+	+	T ++++	93	7		
G122		+	(+)			43	+++	+	+	I +	89	11		2
G123	++	+++	+		Mikrosporidier +++	3	+++	+	++		96	4		
G124	++	+	+++		Mikrosporidier ++++	2	++	+	++		90	10		
G125		++	(+)		Parasitxenom +	5	++	++	++		94	6		
G126	++	+	+		Parasitxenom +	0	+++	++	++		80	20		
G127	+		+		Mikrosporidier ++	18	++++	++	++		84	16	4	2
G128	(+)		+++		Mikrosporidier +	17	+++	+	+++				Blodutstryk saknades	
G129		+	+		Parasitxenom ++	7	+++	++	++	I ++, T (+)	91	9	1	
G131	+		+	V +++		11		+	++		82	18		
G132	+	+	+		Parasitxenom +	27		++	++		89	11		
G133	++		++		Mikrosporidier +	32		+	+++		96	4		
G134	++	+	+			36	+		+	I +	75	25		3
G135	+		+		Parasitxenom +	3		+	++	I ++++	86	12		2

<sup>a</sup> Epiteliocystis; <sup>b</sup> jätteceller, förekommer vid herpesvirusinfektion; <sup>c</sup> % av 100 räknade vita blodkroppar, kolumnen monocyter inkluderar även makrofager;

<sup>d</sup> % av 100 räknade röda blodkroppar

## DISKUSSION

Inte bara tiden från exponering, utan även vattentemperaturen påverkar den hastighet vävnadsskador läker av hos fisk. Detta beror på att fiskens kroppstemperatur är densamma som vattnets. Vid vintertemperaturer (runt 0 - 5°C) är fiskens metabolism mycket låg och immunförsvaret nedgraderat, medan temperaturer runt 20°C innebär en för många arter i våra svenska vatten maximal metabolism med snabba immunreaktioner. Vattentemperatur från området (Data från SMHI, <https://sharkweb.smhi.se/hamta-data/>) har hämtats för området. Mätdata finns för den 18 september och den 21 oktober. Den 18 september var vattentemperaturen ca 17°C vid ytan och ca 8°C på 80 meters djup, med ett köldstråk på 5.5°C vid 40 meters djup på station BY4, mellan läckorna och Bornholm. Den 21 oktober finns data från 30 NE Frederikso, den position som anges för drag 232. Där var då yttemperaturen ca 13.5°C och temperaturen på 70 m djup ca 7.8°C. Temperaturen har därmed varit relativt låg, vilket innebär att det sannolikt är ett par dagars fördröjning i tid från exponering till att skador börjar läka av, jämfört med de standardtider som anges för ca 20°C (Ferguson, 2006). Då BIAS-provtagningen genomfördes två och en halv till tre veckor efter sabotaget och läckan hade upphört en och en halv till två veckor innan provtagningen är det relevant att leta efter subakuta till tidiga kroniska förändringar i organen.

Exoftalmi är en klassisk förändring vid akut gasblåsesjuka. Förändringarna är vanligt förekommande på fisk som tas upp snabbt från djupt vatten, och motsvarar vår dykarsjuka, dvs gasembolier uppstår i blod och vävnader på grund av gasövermättnad när trycket förändras snabbt (gasen hinner inte ventileras ut). De fall av exoftalmi som noterades här bedöms vara relaterade till fångsten.

Subakuta förändringar (wire-loops) som inte kunde förklaras av uppenbar förekomst av patogener (virus, bakterier eller parasiter) noterades i högre grad på gälarna hos torsk från drag 232 än hos övriga torskar. SVA har tidigare sett förändringen men i mycket låg grad (Bild 4C). Många av gälarnas och njurarnas svar på exponering för fysikaliska och kemiska förändringar, toxiner eller patogener är generella. Det innebär att man utifrån förekomst av till exempel akut degeneration av epitelceller på sekundärlamellerna eller ökad mängd slemceller på gälarna inte kan avgöra vad som orsakat ökningen. Wire-looping av kapillärkolumnen beskrivs med en mening i Ferguson (2006) och då kopplat till infektionen BKD som drabbar laxfisk, och sannolikt orsakad av bildningen av antigen-antikroppkomplex. Ursprungsreferensen har inte gått att återfinna, då den inte finns med i texten och inte går att uttyda av kapitlets referenslista. Det har inte heller gått att hitta andra beskrivningar av denna förändring som följd av infektiösa tillstånd. Syrebrist som inte är direkt dödande orsakar en relativ tillväxt av sekundärlamellerna, genom den interlamellära vävnaden minskar i omfattning för att öka den syreupptagande ytan på sekundärlamellerna (Sollid et al., 2003). Experiment med syrebrist har visat att sekundärlamellerna också kurvar sig för att öka ytan för syreupptag (Bagherzadeh Lakani et al., 2013; Li et al., 2022). Wire-looping till den grad att lamellerna packas och epitelet minskar i yta, vilket noterades här, åstadkommer motsatt effekt då ytan som kan ta upp syre minskas. S-liknande kurvning noterades hos många fiskar men noterades inte som en förändring såvida det inte övergått i någon grad av packning.

Det kan inte uteslutas att syrebrist är orsak till de förändringar som observerades i det undersökta materialet och att sekundärlamellerna hos vissa fiskar kurvats så hårt att sammansmältningar i stället har skett. Det kan inte säkerställas att förändringarna orsakats av att metan trängt undan syre i vattnet, men det kan inte heller uteslutas. Östersjön har ett antal syrefattiga områden, och förändringarna kan vara orsakade av en allmänt syrefattig miljö. Något som talar för detta är att

torskar utanför området uppvisade liknande förändringar och att det också i låg grad noterades även 2018.

Den akuta vävnadsdegeneration som observerades i njuren är relativt ospecifik, det vill säga den kan orsakas av syrebrist eller olika giftiga substanser, t ex algtoxiner och uppstår inom timmar till dagar efter att fisken exponerats, beroende på exponeringens omfattning i tid och koncentration. Förändringarna bör därmed inte vara relaterade till Nord Stream-läckorna även om gälförändringarna skulle vara det. Enligt SMHI:s algrapport för oktober -22 ([algsit22\\_10.pdf \(smhi.se\)](#)) förekom ett antal olika fytoplankton vid mätstation BY5, strax söder om drag 232 vid mätningen 21 oktober, dvs cirka en vecka efter BIAS. Ingen av de detekterade arterna var dock potentiellt giftig. I rapporten för september ([algsit22\\_9.pdf \(smhi.se\)](#)) noteras dock hög förekomst av den potentiellt giftiga arten *Prorocentrum cordatum* samt viss förekomst av ytterligare två potentiellt giftiga arter vid mätningen den 18 september. Det är därför inte omöjligt att giftiga fytoplankton funnits i området under veckan innan provtagningarna, och att algtoxiner orsakat njurskadorna.

Njurens nefron har en bra läkförmåga. Så länge membranet som tubulicellerna fäster till är intakt kan nya epitelceller börja bildas inom 1 - 2 veckor beroende på vattentemperatur. Njuren kan också nybilda nefron även hos vuxen fisk, och hög förekomst av nybildade nefron hos vuxen fisk indikerar att njuren varit utsatt för skada. Nybildningen påbörjas runt 2 – 4 veckor efter en skada. Vi noterade en måttlig till kraftig nybildning hos många torskar, men det fanns ingen signifikant skillnad mellan de två grupperna, varför en kraftig nybildning inte kan kopplas till skador orsakade av Nord Stream-läckan. Torskens storlek var relativt liten, men i tidigare provtagning i samma område (SVA 2022) var torsk på ca 400 mm 7 år enligt åldersbestämning (otoliter). Detta innebär att nybildningen i denna undersökning inte torde kunna härledas till att torsken är ung och har en njure under tillväxt.

Viss regeneration av röda blodkroppar noterades, men inte på en sådan nivå att en föregående process med nedbrytning av röda blodkroppar eller annan orsak som kräver ökad blodbildning kan misstänkas. Även den vita blod bilden bedömdes i stort som normal. Förekomsten av monocytter var högre än vad som anges som standard, men detta noteras även vid provtagningarna BITSQ1 (Östersjön) och IBTSQ3 (Västerhavet) som SVA deltar i. Cytoplasman i torskens och skäddornas vita blodkroppar tar generellt upp mycket färg och det kan därför påverka bedömningen (neutrofiler tar generellt upp extremt lite färg i cytoplasman). Olika färgningar har testats utan annat resultat, och för laxblod som färgas med samma metodik finns inga problem att identifiera neutrofiler. Två torskar hade extremt mycket prolymfocyter, vilket indikerar en pågående infektion som kräver antikroppbildning.

Ett drag varade ca 30 minuter, därefter tog det ca 30 min innan trålen var tömd. Fisken skulle därefter sorteras innan fisk för provtagning erhålls och samtliga prover från ett drag togs ut innan de fixerades, då formalinhantering av arbetsmiljöskäl måste genomföras i ett speciellt laboratorium med dragskåp. Det är inte omöjligt att en fördröjd tid från död till fixering av organen lett till att vävnader som är känsliga för syrebrist, börjat degenerera. Tecken på postmortal degeneration sågs i gälarna, där sådana förändringar sätter in redan runt dödsögonblicket.

Det är viktigt att betänka att provtagningarna genomförts ca 7 nautiska mil (ca 13 km) från läckorna. Även om detta inte är något gigantiskt avstånd finns inga belegg för att de provtagna fiskarna befunnit sig närmare läckorna än så under den aktuella tidsperioden. Mätningar av metangasmättnad i vattnet har inte heller kunnat göras då SMHI, som deltog i BIAS, saknade utrustning för detta. Om metangas funnits i vattnet på det avståndet från läckorna är det sannolikt

i låga halter, sannolikt så låga att det inte inverkar på fiskens hälsa, vilket är i linje med att inga uppenbara fynd som kan relateras till en påverkan från läckorna kunde påvisas. Fisk som befunnit sig i direkt anslutning till läckan har sannolikt påverkats kraftigt, både av själva detonationen och den gasövermättning som skapats. Fisk som inte skadats dödligt/allvarligt av tryckvågen har sannolikt flytt från området, då fiskar har ett välutvecklat luktsinne vad gäller gaser. Det är sannolikt att fisk i hunnit påverkas till viss grad även av gasövermättningen, men radien för en negativ hälsoeffekt på de olika fiskbestånden kan inte utredas fullständigt. På sidan [Gas impact on fish and other marine organisms \(offshore-environment.com\)](https://www.offshore-environment.com/gas-impact-on-fish-and-other-marine-organisms/), står att vid studier av gasolyckor i Asovhavet uppmättes metangashalter på 4-6 mg/L i direkt anslutning till läckan, 0.07 – 1.4 mg/L 200 m från läckan och 0.35 mg/L 500 m från läckan i vindriktningen. Ingen nedre gräns för påverkan på högre marina organismer (t.ex. fiskar) anges på denna sida, som är ett utdrag ur boken ”**Environmental impact of the Offshore Oil and Gas Industry**”, av **Stanislav Patin**. **SVA har inte** tillgång till boken och fullständiga referenser anges inte på sidan, varför det inte gått att spåra ursprungsartiklarna.

### SLUTSATS

Inga bevisat negativa hälsoeffekter kopplade till gasläckorna på Nord Stream 1 och 2 har påvisats i de provtagna fiskarna. För att bedöma om de förändringar som noterades på gäle är orsakade av läckorna eller en potentiell infektion, samt för att undersöka eventuella långsiktiga effekter av gäl- och njurförändringarna bedömer SVA att vi behöver följa upp torskarnas hälsa med avseende på gäle och njure under SVA:s standardiserade provtagning av torsk (BITSQ1, IBTSQ3) åtminstone under 2023.

### REFERENSER

- Bagherzadeh Lakani, F., Sattari, M., Sharifpour, I., Kazemi, R. (2013). Effect of hypoxia, normoxia and hyperoxia conditions on gill histopathology in two weight groups of beluga (*Huso huso*). *Caspian Journal of Environmental Sciences* 11: 77-84
- Ferguson (ed). (2006). Systemic pathology of fish, 2<sup>nd</sup> ed, Scotian Press, London, UK
- Li, X., Ling, C., Wang, Q., Feng, C., Luo, X, Sha, H., He, G., Zou, G., Liang, H. (2022). Hypoxia Stress Induces Tissue Damage, Immune Defense, and Oxygen Transport Change in Gill of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*): Evaluation on Hypoxia by Using Transcriptomics. *Frontiers in Marine Sciences, Sec. Global Change and the Future Ocean* 9: DOI: [10.3389/fmars.2022.900200](https://doi.org/10.3389/fmars.2022.900200)
- Sollid, J., De Angelis, P.M., Gundersen, K., Nilsson, G.E. (2003). Hypoxia Induces Adaptive and Reversible Gross Morphological Changes in Crucian Carp Gills. *Journal of Experimental Biology* 206: 3667-73
- SVA (2021). [Hälsöövervakning av vildlevande fisk, kräftdjur och blötdjur 2020](#), Del 1. Havslevande fisk. Rapport till Havs-och vattenmyndigheten, juni 2021
- SVA (2022). [Hälsöövervakning av vildlevande fisk, kräftdjur och blötdjur 2021](#), Del 1. Havslevande fisk. Rapport till Havs-och vattenmyndigheten, oktober 2022

## Undersökningar från SLU:s kustprovfiske i Hanöbukten 2022

### SAMMANFATTNING

SLU:s Kustfiskelaboratorium genomför årligen provfiske på ett antal stationer längs den svenska kusten. SVA:s akutmedel används sedan 2019 för insamling, preparering och histopatologisk bedömning av vävnader från sjuk fisk som samlas in under SLU:s djupstratifierade provfiske med nordiska kustöversiktsnät i Hanöbukten under hösten. Tanken är att få en årlig 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 kustprovfiske 2018 (HaV, 2018; SVA, 2016; SVA, 2019). Resultaten rapporteras i SVA:s årsrapporter till HaV (Årsrapporter vildfisk - SVA)

Från 2022 års provfiske kom prover från en torsk och fyra skrubbskäddor. Hos torsken påvisades den bakteriella infektionen vibrios och hos skrubbskäddorna mikrosporidios samt kronisk glomerulinefrit.

### MATERIAL OCH METODER

Prover för histopatologisk analys togs från inre organ på skrubbskädda och torsk, samt från hudsår på torsk och vitling. 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.

Prover för bakteriologisk analys togs från hudsår eller njure och stacks till agarrör innehållande marinagar eller blodagar. Vid ankomst till SVA ströks proverna om till plattor med motsvarande agar och inkuberades vid 20°C i max sju dagar innan slutavläsning gjordes.

### RESULTAT

Från SLU:s provfiske i Hanöbukten hösten 2022 skickades prover från och foton på en torsk och fyra skrubbskäddor.

#### Torsk

Foton av torsken visade multipla småsår av kronisk (äldre) typ över hela kroppen. Bakteriologisk analys av prov från njure påvisade *Vibrio anguillarum* serotyp två. Histopatologisk analys av fixerade hudsår bekräftade att såren inte var färska. Såren var kraftigt infiltrerade av vita blodkroppar och huden var förtjockad i sårområdet. Inflammationen sträckte sig ner till de övre delarna av underhuden.

#### Skrubbskädda

Ett foto visade en skrubba med en vitprickig tarm, sannolikt parasitgranulom. Övriga tre skrubbor hade svullen njure, något som observerats under de senaste årens provfiske.

Histopatologisk undersökning visade att skrubban med prickig tarm hade massiv förekomst av mikrosporidie-xenom i tarmväggen. Xenomen var i olika stadier, allt från opåverkade med en tunn kapsel runt till helt granulomomvandlade med ett fåtal eller inga mikrosporidier kvar. Den omgivande vävnaden var kraftigt inflammerad. Tarmens epitel var relativt intakt, med enstaka vakuoler innehållande mikrosporidier (sannolik frisättning snarare än ny infektion), medan tarmludds-strukturen var helt förlorad. De svullna njurarna visade kraftig påverkan. Organets grundstruktur kunde fortfarande ses, men nefronen (de urinfiltrerande enheterna) var påverkade av långt gången inflammation (kronisk glomerulinefrit). I en njure förekom fortfarande ca 1/3–1/2 normala nefron, i en njure noterades enstaka normala nefron och i den sista återstod bara ett par, kraftigt påverkade nefron. De sjuka nefronen var måttligt-kraftigt infiltrerade av vita blodkroppar eller helt degenererade och enbart ett inflammatoriskt fokus kvarstod.

Bakteriologiskt prov hade tagits från de svullna njurarna. Hos en av skrubborna påvisades en *Aeromonas* sp. i blandflora, hos övriga ospecifik blandflora.

### **BEDÖMNING/DISKUSSION**

*Vibrio anguillarum* är en patogen som förknippas med sårbildning och allmäninfektion hos fisk. Symptombilden och i kombination med att bakterien påvisades i torskens njure gör att vi kan säga att bakterien sannolikt är orsak till sårbildningen. Osäkerheten ligger i att blandflora förelåg, men proverna inkom ett par månader efter att de tagits, vilket innebär att andra, mer långsamväxande bakterier också kan hinna växa till.

Skrubban med tarminfektion bör ha haft en försämrad tarmfunktion, på grund av den kraftiga inflammationen samt att mikrosporidierna tar mycket plats och förstör tarmens grundstruktur, även om epitelet i sig var relativt opåverkat.

Skrubborna med infektion i njuren har i stort eller helt förlorat den urinbildande förmågan utifrån bilden på de organbitar som undersöktes. I bräckt/salt vatten blir nefronens betydelse mindre, då fisken inte behöver göra sig av med vatten för att hålla kroppens osmotiska balans, och njuren har en förmåga att regenerera nefron. Det är dock oklart hur lätt en så pass omfattande infektion kan läkas av, och det fanns heller inga tecken på att njuren höll på att regenerera nefron för att ersätta de som förstörts. Den *Aeromonas* sp. som påvisades från en av dessa skrubbor bedöms inte vara orsak till sjukdomen. Orsaken till förändringarna torde vara infektiös, men hittills har ingen patogen konsekvent påvisats i någon av de skrubbor som undersökts sedan 2020.

### **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, februari 2016

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

### **Rapportportalen**

Under 2022 inkom en rapport om havslevande fisk. Den kom från Helgeåns utlopp (Skåne) och handlade om massdöd av plattfisk. Den art som rapporterades var rödspätta. En fisk, som visade sig vara en skrubbskädda, skickades in för undersökning men var redan uräten av asätare och dödsorsak kunde inte bedömas.

## 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.

Parasiten *Gyrodactylus salaris*, eller laxdjävul, övervakas på laxungar i västkustmynnande vattendrag. Misstänkta *G. salaris* från vattendrag där parasiten inte tidigare visats, eller i tidigare oinfekterade provtagningspunkter i vattensystem där parasiten förekommer, artbestäms med molekyllärgenetisk teknik. Detta görs då morfologiskt lika men inte lika patogena arter förekommer. I Örekilsälven, Strömsån, Anråsån och Sävån, där de tre första ligger inom buffertzonen norr om Göta älv och där *G. salaris* hittills inte påvisats, var samtliga laxungar negativa, medan parasiten påvisades i samtliga provtagna vattendrag söder om Sävån. I några provtagningspunkter var samtliga laxungar infekterade. I Ätran/Högvasån förefaller infektionstrycket av *G. salaris* ha minskat och Sävån har varit negativ för parasiten de senaste två åren.

Under 2020 började SVA bygga upp en hälsoövervakning av lekvandrande fisk och då framför allt lax, då problem med sjukdom och dödlighet på nystigen fisk förekommit i Östersjöälvar sedan 2014. Även under leksåsongen förekommer sedan 2014 relativt omfattande problem med svampangripen lax och öring. Sedan 2017 förekommer även i Vänerns laxpopulationer (Gullspångs- och Klarälvslox) och i västkustmynnande vattendrag. Det finns en mängd potentiella faktorer som kan samverka till problemen och det är fortfarande oklart vilka som är signifikant bidragande. Fokus sedan 2020 har därför varit att samla in prover för vidare forskning så att relevanta faktorer att övervaka kan identifieras. Utöver detta utvärderas inventering av leksträckor och många kompensationsanläggningar bidrar genom att besvara ett formulär avseende avelsfiskens hälsa. Dessa två insatser innebär att även havsöringens hälsa kan övervakas aktivt.

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. Under 2022 fortsatte metodutvecklingen avseende *Saprolegnia* spp., de algsvampar som orsakar svampangreppen på lax och öring. En metodik för att bestämma genetisk variation (7 gens-MLST (Multi-Locus Sequence Typing)) används och visar intressanta resultat.

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 (*Lampréta fluviatilis*). Laxfiskarna, framför allt laxen, har en pågående hälsoproblematik som visar sig genom ett antal sjukdomssymptom 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 tillräckligt stora mängder tiamin till rommen. Dödligheten är hög men syndromet kan undvikas



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 Östersjölaxungar (*Salmo salar*). Atlantlaxen, som även den tillhör arten *S. salar*, är däremot känsligare och parasiten kan vålla stora problem för laxungarnas hälsa. Första gången parasiten påvisades i ett västkustvattendrag var 1989 (Säveån). Endast ett fåtal laxförande vattendrag längs västkusten anses numera fria. Årlig övervakning av parasitens förekomst har skett i SLU:s regi men från 2020 har SVA ansvar för övervakningen.

Hälsosituationen för återvändande lax i Östersjövattendragen har varit problematisk sedan 2014, då rapporter om UDN-liknande skador, hudblödningar på buken, sår, fenskador och svampangrepp började komma från flera vattensystem. Problemen avtar på sensommaren, men sedan ökar svampangreppen igen under perioden runt 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 i Klarälven. Syndromet med hudblödningar följt av svampangrepp döptes till Red skin disease (RSD) vid en internationell workshop i Oslo i november 2019. SVA påbörjade på uppdrag av HaV undersökningar av problematiken 2016 och ny provtagning genomfördes 2018. Provtagningarna har gjorts i samverkan med bland annat Finska Livsmedelsverket (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). Histopatologiska undersökningar av hud från områden med blödningar 2016 visade likheter med Red Mark Syndrome, en sjukdom som orsakar blödningar/sår hos regnbåge. Sjukdomen har kopplats ihop med små intracellulära organismer kallade MLO (Midichloria-like organisms, Metselaar et al., 2020). 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://rapporterafisk.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 fortsattes uppbyggnaden av ett hälsoövervakningsprogram. Eftersom orsaken till problematiken inte är klarlagd låg fokus på att samla in prover för vidare forskning. Dessutom fortsatte utvärderingen av aktiv, icke invasiv övervakning i form av kontroll av leksträckor och avelsfiskens hälsa i kompensationsodlingar. Den passiva övervakningen av anadrom fisk via rapportportalen fortsatte i oförändrad form.

## Övervakning av *Gyrodactylus salaris*

### MATERIAL OCH METODER

#### Provtagningspunkter

Provtagningen genomförs av Sportfiskarna, region Väst. Provtagning görs i åtta vattensystem på västkusten: Örekilsälven (tre lokaler), Strömsån (två lokaler), Anråsån (en lokal), Sävån (en lokal), Kungsbackaån (tre lokaler), Rolfsån (tre lokaler), Himleån (två lokaler) och Ätran (sex lokaler). Anråsån provtas enbart vartannat år. Strömsån lades till som lokal 2022.

#### Provtagning

Laxungar samlas in med hjälp av elfiske. Lokalens längd och bredd, avfiskad yta, vatten- och lufttemperatur, vattenförhållanden (flödestyp, vattennivå) samt bottenstrukturer noteras i protokoll. Infångade laxungar avlivs, vägs, mäts och konserveras i 95% etanol.

#### Laboratorieanalyser

Förekomst av *Gyrodactylus* sp. undersöks under lupp i 40 x förstoring. Antalet parasiter vid/på rygg- och bröstfena noteras. I mikroskop är det svårt att säkert artbestämma *Gyrodactylus*. Nedan anges därför *Gyrodactylus* sp. som fynd. För diskussion kring infektionen och dess konsekvenser används dock benämningen *G. salaris*. När haptormaskar upptäcks på laxungar i en lokal där *G. salaris* inte påvisats tidigare skickas de för genetisk analys avseende art och haplotyp till Norges veterinärinstitut (NVI). Analysen genomförs med konventionell PCR samt sekvensering av internal transcribed spacer region (ITS) samt cytokromoxidas 1-genen (CO1) enligt den metodik som anges i [OIE:s akvatiska manual](#).

#### 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 för att undersöka samband.

### RESULTAT

#### Förekomst av *Gyrodactylus* sp. i provtagna vattensystem och lokaler

Totalt samlades 164 laxungar in. Antalet laxungar per vattensystem och lokal, medianvärden (min, max) för längd, vikt, förekomst av laxungar med *Gyrodactylus* sp. samt medianvärde (min, max) hos infekterade individer finns i Tabell AF1. *Gyrodactylus* sp. hittades i samtliga vattensystem söder om Sävån medan Sävån, Anråsån, Strömsån och Örekilsälven var negativa. Om p-värden inte presenteras nedan är noterade förändringar enbart synbara trender, dvs. ingen signifikans föreligger.

Totalt var 80 (49%) laxungar infekterade. Den totala prevalensen var därmed något högre än 2021 (45%) men lägre än 2020 (59%,  $p=0.052$ ). Högst prevalens observerades i Himleån, där samtliga laxungar var infekterade. Detta är en synbar ökning jämfört med 2021 (77%) och prevalensen är tillbaka på nivån som noterades 2020. Lägst prevalens (65%, 15 av 23) förelåg i Rolfsån, där prevalensen legat stabilt de senaste tre åren. I Kungsbackaån har prevalensen sjunkit något mellan 2021 och 2022, från 94% till 84%, och skillnaden mot 2020 var signifikant (84% vs. 100%,  $p<0.05$ ). Prevalensen i Ätran ökade drastiskt 2022 jämfört med 2021 (92% vs. 20%,  $p<0.001$ ) och även gentemot 2020 (92% vs. 66%,  $p<0.01$ ).

I samtliga infekterade vattendrag förekom infekterade laxungar på alla lokaler och prevalensen var 100% på minst en lokal. Lokalerna Hovgården/Nordån (Kungsbackaån) och Fälån (Rolfån) har haft 100% prevalens vid samtliga tre provtagningstillfällen (Tabell AF1).

**Tabell AF1. Förekomst av *Gyrodactylus* sp. hos laxungar i övervakade västkustvattendrag 2022 samt jämförande data avseende andel infekterade individer och parasitbörda 2020–2021.**

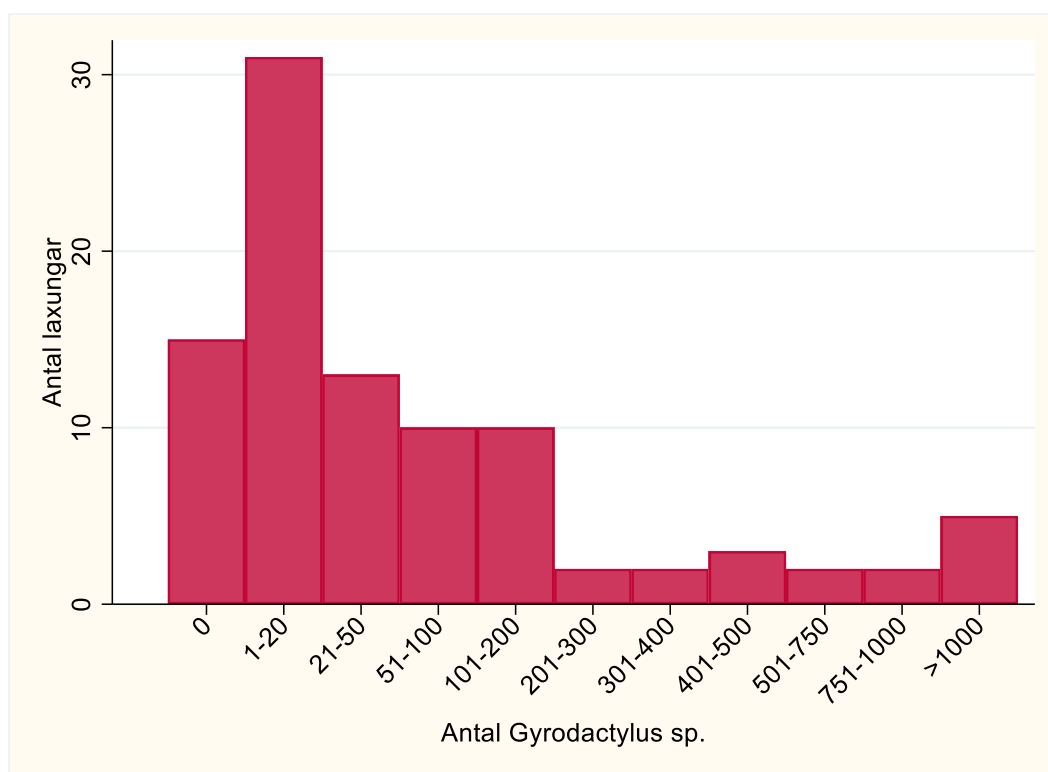
Vattensystem Lokal	Fiske- datum	Antal lax- ungar	Längd (cm)		Vikt (g)		<i>Gyrodactylus</i> sp. 2022		<i>Gyrodactylus</i> sp. 2021		<i>Gyrodactylus</i> sp. 2020	
			median (min, max)	median (min, max)	Infekterade laxungar Antal (%)	Antal maskar, median <sup>1</sup> (min, max)	Infekterade laxungar Antal (%)	Antal maskar, median <sup>1</sup> (min, max)	Infekterade laxungar Antal (%)	Antal maskar, median <sup>1</sup> (min, max)		
<b>Örekilsälven</b>	<b>20/4</b>	<b>21</b>	<b>12.8 (7.7, 16.5)</b>	<b>16.2 (3.8, 33.5)</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>1 (5)<sup>2</sup></b>	<b>5 (5, 5)</b>		
Munkedalsälven		8	12.4 (9.9, 16.5)	15.0 (7.1, 33.5)	0	-	0	-	0	-		
Skäret		6	14.1 (11.4, 15.2)	20.3 (10.3, 26.5)	0	-	0	-	1 (17) <sup>2</sup>	5 (5, 5)		
Stenshöljan		7	12.7 (7.7, 15.1)	14.8 (3.8, 23.1)	0	-	0	-	0	-		
<b>Strömsån</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>11.8 (7.0, 18.5)</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<i>Ej provtagen 2021</i>		<i>Ej provtagen 2020</i>				
Kanotklubben	19/4	4	12.1 (10.7, 18.5)	14.9 (11.1, 50.2)	0	-						
Ödegården/Hämmensån	20/4	11	11.8 (7.0, 13.2)	14.6 (3.6, 17.6)	0	-						
<b>Anråsån</b>	<b>12/4</b>	<b>22</b>	<b>8.8 (5.2, 13.7)</b>	<b>4.9 (0.8, 19.5)</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<i>Ej provtagen 2021</i>		<b>0</b>	<b>-</b>		
<b>Säveån</b>	<b>21/4</b>	<b>11</b>	<b>8.8 (6.5, 9.5)</b>	<b>7.2 (2.7, 9.4)</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<i>Ej provtagen 2021</i>		<b>3 (19)</b>	<b>1 (1, 2)</b>		
Jonsereds fabriker												
Kåhögbron			<i>Ej provtagen 2022</i>				<b>0</b>	<b>-</b>	<i>Ej provtagen 2020</i>			
<b>Kungsbackaån</b>	<b>28/4</b>	<b>25</b>	<b>8.3 (5.6, 14.3)</b>	<b>4.5 (1.0, 23.8)</b>	<b>21 (84)</b>	<b>36 (1, 1100)</b>	<b>29 (94)</b>	<b>64 (2, 801)</b>	<b>30 (100)</b>	<b>46 (3, 1030)</b>		
Alafors		11	8.2 (7.0, 9.4)	4.9 (2.7, 7.2)	11 (100)	36 (3, 1100)	16 (94)	15 (2, 283)	11 (100)	25 (5, 407)		
Hovgården/Nordån		6	6.7 (5.6, 8.3)	2.3 (1.0, 4.5)	6 (100)	75 (8, 617)	6 (100)	201 (5, 660)	10 (100)	56 (3, 522)		
Ålgårdsbacka		8	9.0 (7.8, 14.3)	5.4 (4.2, 23.8)	4 (50)	6.5 (1, 183)	7 (88)	494 (140, 801)	9 (100)	43 (4, 1030)		
<b>Rolfån</b>	<b>28/4</b>	<b>23</b>	<b>8.6 (6.9, 16.6)</b>	<b>5.2 (3.1, 34.5)</b>	<b>15 (65)</b>	<b>115 (1, 1184)</b>	<b>19 (68)</b>	<b>86 (1, 626)</b>	<b>16 (64)</b>	<b>179 (1, 1880)</b>		
Bosgården		8	13.1 (10.0, 16.6)	19.0 (8.6, 34.5)	7 (88)	714 (187, 1184)	9 (100)	92 (2, 626)	6 (100)	302.5 (25, 1880)		
Fälån		3	7.5 (7.4, 11.0)	3.6 (3.5, 9.2)	3 (100)	34 (9, 115)	10 (100)	13.5 (1, 365)	9 (100)	173 (43, 1161)		
Island pool		12	8.3 (6.9, 11.3)	4.1 (3.1, 10.5)	5 (42)	2 (1, 14)	0 (0)	-	1 (10)	1 (1, 1)		
<b>Himleån</b>	<b>22/4</b>	<b>10</b>	<b>10.5 (7.5, 15.4)</b>	<b>8.9 (2.9, 25.2)</b>	<b>10 (100)</b>	<b>262 (7, 1334)</b>	<b>10 (77)</b>	<b>73.5 (3, 850)</b>	<b>15 (100)</b>	<b>49 (1, 699)</b>		
Göingegården		5	13.2 (8.9, 15.4)	16.3 (5.4, 25.2)	5 (100)	116 (7, 1266)	8 (73)	71 (3, 245)	9 (100)	139 (7, 699)		
Ön i Rolfstorp			<i>Ej provtagen 2022</i>				2 (100)	435 (20, 850)	6 (100)	22 (1, 49)		
Kvarngården		5	8.9 (7.5, 11.5)	5.5 (2.9, 11.1)	5 (100)	306 (97, 1334)	<i>Ej provtagen 2021</i>		<i>Ej provtagen 2020</i>			
<b>Ätran</b>	<b>1/11</b>	<b>37</b>	<b>7.7 (5.1, 15.1)</b>	<b>3.7 (1.1, 27.7)</b>	<b>34 (92)</b>	<b>23 (1, 211)</b>	<b>7 (20)</b>	<b>1 (1, 28)</b>	<b>53 (66)</b>	<b>8 (1, 830)</b>		
Fageredsån		7	6.8 (5.8, 11.4)	2.9 (1.8, 9.5)	7 (100)	49 (1, 146)	4 (67)	6 (1, 28)	8 (75)	6.5 (2, 68)		
Hjärtaredsån			<i>Ej provtagen 2022</i>				<i>Ej provtagen 2021</i>		0 (0)	-		
Nydala kvarn		5	7.7 (6.2, 11.1)	3.3 (1.5, 9.5)	4 (80)	28 (1, 56)	0	-	16 (89)	7.5 (1, 799)		
Kogstorp		6	6.6 (5.5, 11.3)	4.1 (2.9, 7.1)	5 (83)	19 (0, 111)	1 (25)	1 (1, 1)	<i>Ej provtagen 2020</i>			
Sumpafallet		7	7.5 (6.6, 10.6)	4.8 (2.6, 10.2)	7 (100)	15 (3, 90)	2 (12)	1 (1, 1)	24 (71)	13 (1, 830)		
Århult		6	7.9 (5.1, 10.2)	2.3 (1.1, 6.8)	5 (83)	17 (8, 67)	0 (0)	-	5 (45)	6 (3, 25)		
Askome		6	11.7 (8.4, 15.1)	13.0 (4.2, 27.7)	6 (100)	71 (2, 211)	<i>Ej provtagen 2021</i>		<i>Ej provtagen 2020</i>			
<b>Totalt</b>		<b>146</b>	<b>9.2 (5.2, 18.5)</b>	<b>6.5 (1.0, 50.2)</b>	<b>80 (49)</b>	<b>37 (1, 1334)</b>	<b>65 (45)</b>	<b>28 (1, 850)</b>	<b>118 (59)</b>	<b>25 (1, 1 880)</b>		

<sup>1</sup>Medianvärdet inkluderar enbart infekterade individer; <sup>2</sup> Artbestämd till *G. derjavinooides*.

Antalet påvisade *Gyrodactylus* sp. per infekterad individ varierade från 1 till 1334, med ett medianvärde på 37 haptormaskar (Tabell AF1). Maxantalet påvisade *Gyrodactylus* sp. ökade i samtliga infekterade vattensystem jämfört med 2021, samtidigt som maxantalet synbart minskat på vissa lokaler men ökat på andra inom vattensystemen. Högst antal haptormaskar (1334 st) hittades på en laxunge i Kvarngården, Himleån, som också var det vattensystem som hade högst medianvärde för antal *Gyrodactylus* sp. per infekterad laxunge (Tabell AF1). Den lokal som hade högst medianvärde var dock Bosgården i Rolfån, med ett snitt på 714 haptormaskar per infekterad laxunge. Trettioen (39%) av de infekterade laxungarna hade max 20 *Gyrodactylus* sp. (Figur AF1), vilket synbart är något lägre än föregående två år, då motsvarande siffra var 45–46%. Det fanns ingen storleksskillnad på oinfekterade och infekterade laxungar i de infekterade

vattensystemen (för både längd och vikt  $p > 0.05$ ). Laxungar från oinfekterade vattensystem var dock signifikant större än laxungar från infekterade vattendrag ( $n=69$ , längd median 10.1 cm, 5.2-18.5 cm, vs.  $n=95$ , median 8.5 cm, 5.1-16.6 cm,  $p < 0.01$ ; vikt median 9.4 g, 0.8-50.g vs 4.8 g, 1.0-34.5 g,  $p < 0.001$ ).

**Figur AF1.** Antal *Gyrodactylus* sp. per laxunge i övervakade infekterade västkustvattendrag 2022.



### Artbestämning och haplotypning

Ingen artbestämning eller haplotypning genomfördes 2022 då inga haptormaskar påvisades i lokaler som anses fria från *Gyrodactylus salaris*.

### DISKUSSION

*Gyrodactylus salaris* upptäcktes första gången i Indalsälven 1957, och påvisades ca 20 år senare (1989) i västkustmynnande Säveån (Degerman et al., 2012). Sedan dess har parasiten spridit sig mellan vattensystemen och introducerades till/upptäcktes i Ätran 1991, Himleån 2005, Rolfsån 2015 och Kungsbackaån 2016. Parasiten har hittills inte påvisats i svenska vattensystem som mynnar i Atlanten/ Västerhavet norr om Göta älv. Tidigare har bara två vattensystem (Örekilsälven och Anråsån) norr om Göta älv provtagits, vilket har inneburit en osäkerhet i resultaten. Eftersom det finns en risk för spridning av *G. salaris* till norska laxälvar i Oslofjorden om parasiten förflyttar sig norrut längs västkusten utökades därför provtagningarna i buffertzonen och två lokaler i Strömsån, som ligger precis vid norska gränsen, inkluderades 2022. Under 2020 påvisades *Gyrodactylus* sp. hos en laxunge i Örekilsälven. Denna artbestämdes till *G. derjavinoidea*, och i påföljande provtagningar har ingen laxunge i Örekilsälven varit infekterad.

Orsaker till fluktuation i prevalens och infektionsintensitet mellan åren kan exempelvis vara variation i antalet tillgängliga laxungar och vattenflöden, då smittrycket påverkas av populationstätheten. Den nedåtgående trenden i prevalens av infekterade laxungar för Kungsbackaån beror enbart på resultaten för lokalen Ålgårdsbacka. Det var dock bara fyra laxungar som kunde provtas 2022, och resultaten bör därför tolkas med viss försiktighet. Detsamma gäller för andra lokaler där ett fåtal individer kunnat provtas. Sammantaget för ett vattensystem blir dock resultaten starkare. För vattensystem eller (dittills) fria lokaler inom infekterade vattensystem ska det räcka med ett fåtal individer för att påvisa en introduktion, då *G. salaris* snabbt får fäste och sprider sig i en naiv population. Ett bra exempel på detta är Rolfsån, där lokalerna Bosgården och Fälån i Rolfsån var fria från parasiten ända till 2020. Det året var det dock 100% prevalens på båda lokalerna, med ett stort antal haptormaskar per laxunge. Den höga prevalensen har hållit i sig, och sjönk något på lokal Bosgården 2022, men är fortsatt 100% i Fälån.

Säveån har under 2021–2022 varit negativ för parasiten, med en prevalens på 19% 2020 medan Ätran under 2022 och 2021 varit det vattensystem med påvisat infekterade laxungar som haft det lägsta antalet maskar per laxunge, samt under 2020 och 2021 relativt låg prevalens. Detta talar för en viss adaptation hos laxen när infektionen förekommit en längre tid i vattensystemet, något som även påpekas av Degerman et al. (2012). Degerman et al. (2012) beräknar att antalet parasiter per individ inte stabiliseras på en låg nivå förrän 43 år efter introduktion, vilket innebär att Säveån och Ätran borde vara på god väg att nå stabilitet (34 respektive 32 år sedan introduktion). Himleån, som också varit infekterad relativt länge (18 år), har synbarligen inte börjat adapteras då ån har **samma smittryck som Rolfsån och Kungsbackaån som ”bara” varit infekterade i sju-åtta år.**

Flera faktorer kan påverka resultaten utöver en sant minskad prevalens. Två sådana faktorer är fiskeförhållanden och populationstätheter. Under 2020 och 2021 genomfördes fisket i Ätran i mitten av december, och 2022 i början av november, för att temperaturerna skulle hinna sjunka till 10°C. Man var dessutom tvungen att vänta på grund av höga vattenflöden som gjorde fiskeplatserna otillgängliga tidigare under säsongen. Tidpunkten på året har därmed varit densamma inom vattendraget, likaså har förhållandena enligt protokollen varit likartade (mediumhög vattennivå, liknande vattenföring), vilket indikerar att detta inte påverkat resultatförhållandena inom vattendraget från år till år i någon stor utsträckning. Däremot skulle prevalensen teoretiskt kunna vara högre under ett vårfiske, om kraftigt infekterade laxungar dör under sommaren, vilket skulle ge en falskt positiv bild av förekomsten av *G. salaris* gentemot vattendrag som provtas på våren.

En intressant observation 2022 var att laxungarnas storlek i de infekterade vattendragen var lägre än i de oinfekterade vattendragen. Säveån har här räknats med som ett oinfekterat vattendrag, då inget smittryck verkar föreligga för tillfället. Resultaten motsäger till viss del tidigare resultat, bland annat från jämförelsen mellan 2020 och 2021. Då jämfördes dock enbart oinfekterade individer med infekterade individer, vilket även 2022 visade att inga skillnader förelåg mellan oinfekterade och infekterade individer. En snabb jämförelse av oinfekterade och infekterade vattensystem 2020 respektive 2021 visade att det fanns signifikanta skillnader 2021, där laxungar i oinfekterade vattensystem var större än laxungar i infekterade vattensystem ( $p < 0.01$  för längd,  $p < 0.001$  för vikt). För 2020 sågs dock inga skillnader. Det kan inte uteslutas att effekter kopplade till respektive vattensystem agerar som confounders, dvs. att laxungar skulle vara större i de nordliga vattendragen oavsett infektion med *G. salaris* eller inte. Teoretiskt borde Ätran, som är det enda vattendrag som inte provtagits i april utan fiskats under senhösten, bidra med en positiv längd-/vikttrend, som därmed skulle kunna dölja skillnader i tillväxt mellan oinfekterade och infekterade vattendrag. Frågan är därför om tillväxten stagnerat så mycket att ett fiske i samtliga vattendrag på

hösten snarare skulle ge större skillnader. Degerman et al. (2012) skriver dock att i ett fältförsök med märkning och återfångst (höst, följande vår) noterades inga skillnader i tillväxt, men att laxungar med mycket parasiter var mindre vid försökets start.

### **SLUTSATS**

Örekilsälven, Strömsån och Anråsån kan fortsatt räknas som fria från *G. salaris*. Smittrycket i Kungsbackaån, Rolfsån och Himleån är fortsatt mycket högt medan smittrycket i Ätran är något lägre och i Säveån mycket lågt.

### **REFERENSER**

Degerman, E., Petersson, E., Jacobsen, P-E., Karlsson, L., Lettevall, E., Nordwall, F. (2012). Laxparasiten *Gyrodactylus salaris* i västkustens laxåar. Fyndhistorik samt effekter på laxungarnas överlevnad och numerär. *Aqua reports* 2012:8. SLU, Institutionen för akvatiska resurser. ISBN: 978-91-576-9082-1 (elektronisk version)

## 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. Sedan 2020 har provtagningarna fokuserats på nystigen fisk.

I budgeten för den återvändande laxen fanns kostnadstäckning för provtagningar, analyser som kunde göras i fält, histopatologisk och cytologisk undersökning samt analyser av tiaminhalter i blod.

## MATERIAL OCH METODER

### Provtagningspunkter och antal fiskar

Torneälven och Umeälven ingår som primära lokaler då de sinsemellan haft stora skillnader i antalet påverkade laxar och det finns tidigare insamlade data att jämföra med. 2020 inkluderades Klarälven och 2021 Åtran. Provtagningarna i Torneälven genomfördes inom ett samarbete med Ruokavirasto och bekostades av forskningsmedel från inkomster för det gemensamma svensk-finska gränsälvfiskekortet. Både Klarälvslax och Gullspångslax återvände 2021 till Klarälven, då kompensationsodlad lax av båda stammarna har satts ut där som smolt. Provtagningen riktades enbart mot Klarälvslax.

Samma provtagningspunkter i respektive vattensystem provtas varje år. Dels finns provtagningspunkter en bit uppströms, så att laxen befunnit sig i hemälven runt en till två veckor, dels genomförs provtagning utanför/i älvmyningen för att få material från fisk som ännu inte migrerat uppströms. I Åtran genomfördes bara uppströms provtagning, då vi redan 2020 tillsammans med länsstyrelsen konstaterat att det inte går att få till något nedströms fiske. I Umeälven valdes mynningsfisket bort då ingen yrkesfiskare var villig att hjälpa till. 2021 testades av denna anledning notfiske strax innanför mynningen, men det gav skral utdelning och SVA bedömde därför att det inte var värt arbetsinsatsen. Totalt planerades det för provtagning av 20 laxar per provtagningsplats och provtagningsstillfälle, vilket skulle resultera i 120 fiskar.

### Fångst och förvaring av fisk

För provtagningar i mynningsområdena till Torneälven och Klarälven anlätades yrkesfiskare. Fångst skedde med push up-/kombifälla. Drivnätsfiske användes för uppströms provtagning i Torneälven och genomfördes av ett byalag. I övriga vattendrag användes laxtrappor eller befintliga fällor för att fånga fisken. Fisken fångades in samma dag som provtagningen genomfördes. Fisk hölls om möjligt vid liv i kar/bassänger i anslutning till fångstplatsen till dess provtagning genomfördes.

### 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, alternativt togs venöst blod vid stjärtspolen. Obduktion och provtagning genomfördes därefter omgående. Samtliga individer fotograferades och yttre och inre avvikelser noterades. Parasitbörda (*Eubotrium* sp.) i tarm noterades för en del individer. Kön, längd, vikt, levervikt, gonadvikt, och magtarmpaketets vikt registrerades. Fiskens konditionsfaktor (CF) beräknades enligt Fulton (somatisk vikt (g) x 100/längd (cm)<sup>3</sup>), 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.



### **Blodpreparering och blodanalyser i fält**

De 10–20 ml blod som togs från respektive fisk hanterades enligt följande:

Cirka 1 ml helblod fördes direkt över till eppendorffrör och frystes på kolsyreis. Proverna förvarades sedan vid -80°C inför tiaminanalys.

Ett par droppar helblod användes för mätning av hematokrit (HAEMATOKRIT 200, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany) och hemoglobinkoncentration (HemoCue® Hb 201+ System, HemoCue AB, Ängelholm, Sweden) omgående efter att blodprov tagits ut.

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. Rören förvaras vid -80°C inför analys och har sparats för forskning/metodutveckling. Det arbetet kommer pågå vid SVA hela 2023.

### **Prover för detektion av patogener**

Vid provtagningarna av Torneälven och Umeälven togs bitar av njure, hjärta och mjälte ut från varje fisk och placerades i virusmedium (Eagles minimum essential medium) för rutinemässig odling av virus på cellkultur. Proverna poolades per tio fiskar, vilket enligt plan innebar två virusprover per provtagningspunkt. På lax från Åtran togs svabb från njure och hjärta för analys av infektiös laxanemi-virus (ISAV). Från lax med hudblödningar i bukregionen togs hudprov (buk samt rygg som referens) för analys avseende MLO. Från svampangripna fiskar togs hudprov till PG1-agar för analys avseende *Saprolegnia* sp. (Se avsnittet ”Akutmedel” sid 77). Vid misstanke om bakteriell infektion togs prov från njure och eventuellt förändrat organ till hästblodagar och TYES-agar för bakteriell odling.

### **Histopatologi och cytologi**

Bitar av lever, njure, mjälte och halva hjärtat skars ut för histopatologisk bedömning och placerades i 10% formalin för fixering. Från fiskar med hudförändringar (UDN-liknande förändringar, hudblödningar eller sår) fixerades även hudbitar. Från hjärtblod gjordes blodutstryk på objektglas för hematologisk bedömning.

Bäddning, snittning och rutinfärgning (Hematoxylin och Eosin (HE)) har genomförts för histopatologisk bedömning. Fixering med aceton samt färgning med Giemsa har genomförts på blodutstryken. Histopatologisk och cytologisk undersökning genomförs under 2023.

### **Laboratorieanalyser**

#### **Blodanalyser**

Tiaminanalys (totaltiamin, fritt tiamin, tiaminmonofosfat (TMP) och tiaminpyrofosfat (TPP) utfördes av Ruokavirasto enligt Koski et al. (2005).

#### **Detektion av patogener**

Virusodling genomförs rutinemässigt enligt av EU:s referenslaboratorium föreskriven metodik för viral hemorrhagisk septikemivirus (VHSV) och infektiös hematopoietisk nekrosvirus (IHNV) ([VHSV-and-IHNV-diagnostic-manual-v2021-2.pdf](#)). Metodiken fångar upp ett relativt brett spektrum av virus utöver VHSV och IHNV. Kortfattat prepareras provet och inokuleras på två cellinjer (BF-2 och FHM) och inkuberas vid 15°C i en vecka. Därefter görs en så kallad passage – provet förs över till fräscha celler av samma cellinjer. Efter ytterligare en vecka avslutas odlingen. Cellkulturerna kontrolleras dag tre-fyra, vid passage samt därefter dagligen för cytopatogena

effekter (CPE), vilket indikerar växt av virus. Om CPE förekommer genomförs ELISA för VHSV, IHNV eller IPNV (infektiöst pankreasnekrovirus) beroende på vilken infektion som misstänks utifrån utseendet på CPE:n. Vid positiv ELISA genomförs qPCR för att bekräfta virusets art och genotyp. Om ELISA är negativ genomförs andra undersökningar för att utreda vilket virus som isolerats. Vissa virus finns qPCR uppsatt för, vissa behöver helgenomsekvenseras för identifiering.

Analys avseende ISAV gjordes direkt från svabbar genom qPCR enligt av EU:s referenslaboratorium föreskriven metodik ([ISA-diagnostic-manual-v3.pdf](#)).

### **Säkring av material för eventuella extra analyser**

Den levervävnad som var kvar efter provuttag samt ca 100 g ryggmuskel, vilken skars ut mellan huvudet och ryggfenan på fiskens vänstra sida, sparades för att möjliggöra framtida analyser avseende miljögifter. Proverna frystes på kolsyreis för transport till laboratoriet, därefter har proverna förvarats vid -20°C innan de skickades till biobanken vid Naturhistoriska riksmuseet.

Fjäll togs från alla fiskar för eventuell åldersbestämning, genetiska analyser samt analys av stabila isotoper. Fjällen torkades och förvaras i fjällprovskuvvert vid rumstemperatur. Inga fjällprovsanalyser har ännu genomförts.

## **RESULTAT**

### **Genomförande av provtagningar**

I Ätran kunde enbart fyra fiskar fångas och provtas under det planerade fisket i månadsskiftet maj-juni. Ytterligare provtagning för att fylla upp kvoten genomfördes inte då det bedömdes för tids- och resultatmässigt ineffektivt. I övriga vattendrag var förhållandena bra och samtliga planerade 20 laxar per provtagningspunkt kunde provtas på en dag. Totalt provtogs därmed 104 av 120 planerade laxar under juni och juli (Tabell AF3).

Tabell AF2. Antal provtagna laxar per provtagning inom laxhälsoövervakningen 2022.

Vattendrag	Datum	Provtagningspunkt	Antal laxar	Antal honor; hanar
<b>Ätran</b>	2 juni	Nydala kvarn	4	3; 1
<b>Torneälven</b>	18 juni	Seskarö	20	13; 7
	20 juni	Risudden	20	16; 4
<b>Umeälven</b>	12 juli	Norrfors	20	14; 6
<b>Klarälven</b>	6 juli	Norra Vätern	20	16; 4
	7 juli	Forshaga	20	10; 10
<b>Totalt</b>			<b>104</b>	

Fynd vid obduktionerna redovisas tillsammans med analysdata i en separat rapport för åren 2020–2022 för att ge ett helhetsperspektiv.

### **DISKUSSION**

Efter tre års upprepad datainsamling finns nu ett bra underlag för att ta fram normalvariationen avseende ett antal hälsoparametrar samt att förhoppningsvis kunna skapa ett långsiktigt övervakningsprogram för lax. Arbete med sammanställning och utvärdering av data pågår.

Provtagning i fält är ett vågspel, då man aldrig kan garantera väderförhållanden, vattenflöden mm som kan påverka utfallet av en provtagning. Ätran kunde provtas men trots att man inte tömt fjällan på två dygn innan provtagningen blev resultatet bara fyra laxar. Inte heller 2021 gick det att få ihop

de 20 förutbestämda laxarna vid provtagningen i början av sommaren och då genomfördes en extra provtagning i slutet av september. En upprepad provtagning behöver egentligen göras nära inpå den första för att resultaten från provtagningarna ska vara jämförbara med varandra. Detta var inte görbart då det skulle krocka med övriga planerade provtagningar. För 2022 beslutades därför att inte genomföra en extra provtagning. En bidragande faktor var att det är svårt att i god tid avgöra när en resa är lämplig att genomföra, eftersom vattnet i Ätran regleras och därmed varierar laxens steg med hur mycket vatten som släpps på.

Att Ätran (och Örekilsälven som också har haft en del problem med laxhälsan) inte kan provtas ordentligt är problematiskt, då Atlantlaxen och Östersjölaxen lever under olika ekologiska förutsättningar, bland annat avseende föda och patogenspektrum. Vi vet ännu 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. Då populationerna i dessa vattendrag är mindre än i de andra älvar som provtas och olika intressen drar i olika riktning finns flera faktorer att lösa innan en effektiv provtagning kan komma till skott.

### **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. I och med 2023 års provtagning finns data från tre på varandra följande år insamlade. Provtagningarna pausas under 2023 för att alla data ska sammanställas. Det är viktigt att nystigen lax i västkust-mynnande vattendrag kan provtas på ett bra sätt för att påbörja utredning av problematiken där och jämföra resultaten med resultaten för Östersjölaxarna.

### **REFERENSER**

Koski, P., Bäckman, C., Pelkonen, O. (2005). Pharmacokinetics of thiamine in female Baltic salmon (*Salmo salar* L.) broodfish. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 19: 139-152

Metseelar, M., Thompson, K.D., Paley, R., Green, D.M., Verner-Jeffreys, D., Feist, S., Adams, A. (2020). Investigating the involvement of a Midichloria-like organism (MLO) in red mark syndrome in rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 528: 735485

SVA (2017). Sjuklighet och dödlighet i svenska laxälvar under 2014 – 2016. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten 2017-01-23

SVA & Evira (2017). Laxdöden i Torneälven 2014 – 2016. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten och Finska NTM-centralen 2017-04-21

SVA, GU & SLU (2019). Fortsatta undersökningar av laxsjuklighet under 2018. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten 2019-03-15

## Avelsfisket

### SYFTE

Syftet är att skapa en samlad övervakning för avelsfisken i reglerade vattendrag, efter att rapporter om hög andel skadad fisk under avelsfisket samt svårighet att hålla fisken vid liv fram till romstrykning inkommit från vissa anläggningar under flera år.

### METOD

En Excelfil för registrering av observationer på återvändande fisk i älven samt skador under perioden i anläggning fram till romstrykning skickades under hösten ut till kompensationsodlingars avelsanläggningar. Även anläggningar som befinner sig i inlandszonen och enbart odlar stationär öring inkluderades, då det är enklare att samla samma typ av verksamhet under en övervakning. Arbetet med Excelfilen påbörjades av Stefan Palm, SLU Aqua sötvattenslaboratorium, och Åke Forssén, Norrfors laxodling, under 2018. Viss modifiering gjordes inför utskicket 2020 och samma enkät kommer fortsatt att användas med möjlig modifiering i form av tillagda frågor.

### RESULTAT

Totalt svarade åtta anläggningar på enkäten 2022, varav sex anläggningar tar in både lax och öring, en tar in bara lax och en tar in bara öring. Tre anläggningar svarade för första gången, varför jämförande data för 2020–2021 saknas. För tre anläggningar som svarat tidigare saknas data för 2022, varav två inte tagit in vildfångad avelsfisk under hösten. En jämförelse av svar för lax respektive öring för säsongerna 2020–2022 finns i Tabell AF3 och AF4. Klassificeringen av vad som är ”mindre än normalt”, ”normalt” och ”mer än normalt” varierar beroende på frågan, och specificeras i fotnoter under tabellen. Anläggningsnumret är detsamma för båda tabellerna, dvs. Anläggning 1 i Tabell AF3 är Anläggning 1 även i Tabell AF4.

### Lax

Tre anläggningar angav att helhetsintrycket av årets säsong var ett normalt steg av lax medan fyra bedömde att det fanns mindre lax i älven än normalt. Andelen stor/äldre fisk (multiple sea winters/MSW) bedömdes som normal i fyra vattensystem, högre än normalt i två vattensystem och något lägre än normalt i ett vattensystem. En lägre andel MSW-honor än normalt förekom i ett vattensystem medan kvoten MSW-honor bedömdes normal i övriga vattensystem. Mängden svampangripen fisk i älven bedömdes som normal under sommar och höst i samtliga utom i två vattensystem, där mängden svampangripen fisk i ett vattensystem var hög under sommaren och i det andra vattensystemet låg under hösten. Mängden svampangripen fisk i avelsbassängerna var hög i två anläggningar och dessa plus ytterligare en anläggning upplevde att det var problem att hålla avelsfisken vid liv. Två av dessa anläggningar angav en högre behandlingsfrekvens med formalinbadning än normalt. Dödligheten innan lek varierade mellan 1.4–19.6%.

### Öring

Två anläggningar angav att helhetsintrycket av årets säsong var mer öring i älven än normalt, fyra bedömde återvandringen som normal och en att det var mindre öring i älven än normalt. Andelen stor/äldre fisk bedömdes som normal i samtliga vattensystem och kvoten MSW-honor var hög i två vattensystem och normal i övriga fem vattensystem. Mängden skador bedömdes som hög i ett vattensystem och förekomst av svampangripen öring i älven bedömdes som hög både sommar och höst i ett annat vattensystem, medan övriga sex vattensystem angav en normal frekvens av svampangrepp. Det förekom en hög andel svampangripen avelsfisk i en anläggning där svampförekomsten i älven bedömdes som normal/låg under hösten och denna anläggning hade en

hög behandlingsfrekvens och svårigheter att hålla fisken vid liv, med totalt ca 56% dödlighet innan lekmognad. Övriga anläggningar bedömde inte att det var svårt att hålla fisken vid liv. I dessa anläggningar varierade dödligheten mellan 1–11%.

Utöver hälsostatus för den återvändande laxen fanns en kompletterande fråga om hur säsongen varit för den avkomma som kläcktes 2022 och alltså härrörde från avelsfisken 2021. Fem anläggningar rapporterade att man inte upplevt några problem. En anläggning angav att man haft inslag av små ögon och så kallade kanelbulleyngel (kan inte räta ut sig efter kläckning). En anläggning angav att ynglen i ett antal starttråg börjat vingla och simma med korkskruvsrörelser. Ynglen svarade inte på vare sig bad med tiamin, salt, halamid eller formalin, och inte heller på antibiotikafoder. Dessutom kunde ingen bakteriell infektion påvisas i de prover som togs inför antibiotikabehandling. En anläggning svarar att yngelsäsongen började bra, men vid 1.5–2 g vikt började havsöringen få sjukdomssymptom. När dödligheten hos öringen minskade fick laxynglen samma symptom. Den totala dödligheten var ca 10–12%. Symptomen angavs likna de som observerades i en annan anläggning, och vattentemperaturen och symptomen låg tidsmässigt i fas med den andra anläggningen. Just den anläggningen har inte besvarat frågan om rom- och yngelproblematik, men SVA är insatta i problematiken och vet att det handlar om liknande symptom som i den anläggning som skriver om vinglighet och korksskruvssimmande. Inte heller i de senare två anläggningarna gav de analyser eller behandlingar som genomfördes någon ledtråd till vad som var orsaken till sjukligheten.

## **DISKUSSION**

För flera anläggningar finns det nu data för tre år, vilket gör att trender kan börja övervakas och skillnader och likheter både inom och mellan vattensystem börjar skönjas. En låg mängd lax i älven noterades i ett par vattensystem redan 2021. Den trenden höll i sig 2022, samtidigt som ytterligare ett par vattensystem noterade en låg mängd lax. I ett av dessa vattensystem noterades också en låg mängd öring 2022. Mängden stigande lax fluktuerar naturligt beroende på bland annat steget det år merparten av föräldragenerationen återvände och därför behöver inte ett lågt steg under ett år betyda något. Stegets storlek kan dock påverka andra parametrar i formuläret. Till exempel kan man det eventuellt förekomma mer skador och eventuellt mer svampangrepp vid ett stort steg, på grund av ökad konkurrens. Svampangrepp på intagen avelsfisk, bedömningen av ansträngning för att hålla fisken vid liv samt dödligheten innan lek är ett bra mått på fiskens hälsa när den kommer tillbaka till älven, eftersom den enbart hålls passivt (i bassänger men utan utfodring) fram tills den är lekmogen. Noterbart är att dödligheten varierar kraftigt både inom och mellan vattensystemen och för både lax och öring. Intressant är att för merparten av anläggningarna som rapporterat alla tre åren finns en lägre dödlighet 2021 än 2020 och 2022. Två av anläggningarna avviker genom att dödligheten för laxen är på ungefär samma nivå 2020 och 2021, men dödligheten var högre 2022. Att följa dessa parametrar kommer därför vara viktiga för att följa trender för de olika laxstammarna.

Vi saknar fortfarande respons från några avelsanläggningar, och vi har bara data för ett år för ett par anläggningar, vilket gör att vi inte kan få en översikt för samtliga kompensationsodlingar.

Utredning av yngelproblematiken har intensifierats under 2023, men ingår inte i uppdraget från HaV.

**Tabell AF3. Svaresresultat 2020–2022 i avelsanläggningar med lax**

Anläggning	År	Mängd fisk i älven	Andel MSW <sup>1</sup>	Andel ♀ av MSW <sup>1</sup>	Kondition <sup>2</sup>	Andel med avvikande beteende <sup>3</sup>	Skador/sår/rodnader <sup>3</sup>	Mängd svampangripen fisk i älven <sup>3</sup>		Mängd svampangripen fisk i anläggningen <sup>3</sup>	Svårighet att hålla fisken vid liv	Behandlingsfrekvens <sup>4</sup>	Dödlighet (%)
								sommar	höst				
1	2022	normal	hög	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	4.3
2	2020	hög	normal	normal	normal	inga	hög	inga	normal	hög	ja	hög	14.8
	2021	något låg	låg	normal	normal	normal	normal	låg	låg	normal	nej	normal	8.3
	2022	något låg	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	låg	hög	ja	hög
3	2020	normal	hög	normal	normal	normal	normal	normal	hög	normal	ja	hög	13.8
	2021	hög	hög	hög	normal	inga	normal	hög	normal	normal	ja	.	.
	2022	låg	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	ja	hög	11.9
4	2020	normal	hög	normal	normal	normal	normal	normal	.	normal	nej	normal	2.9
	2021	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	.	nej	.	.
	2022	låg	hög	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	1.4
6	2022	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	11.4
7	2020	hög	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	4.4
	2021	normal	låg	hög	normal	hög	normal	normal	normal	normal	nej	normal	3.3
	2022	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	hög	ja	normal	19.6
8	2020	hög	hög	normal	normal	normal	hög	hög	hög	hög	ja	hög	46.5
	2021	hög	hög	normal	normal	normal	hög	hög	hög	hög	ja	hög	100
10	2020	normal	normal	normal	normal	normal	normal	.	hög	.	nej	hög	2.5
	2021	låg	låg	hög	normal	normal	normal	inga	normal	normal	nej	normal	3.7
	2022	låg	normal/låg	låg	normal	normal	normal	hög	normal	normal	nej	normal	11.3
11	2021	låg	låg	normal	låg	inga	normal	normal	normal	normal	nej	normal	8.6

**Svarsalternativ:** <sup>1</sup> Mindre andel/normal fördelning/större andel än normalt, <sup>2</sup> Smalare än normalt/normal kondition/trindare än normalt, <sup>3</sup> Inga observationer/normal (låg) andel/högre andel än normalt, <sup>4</sup> Mindre/ normalt/mer än normalt.



**Tabell AF4. Svartsresultat 2020–2022 i avelsanläggningar för öring**

Anläggning	År	Mängd fisk i älven	Andel MSW <sup>1</sup>	Andel ♀ av MSW <sup>1</sup>	Kondition <sup>2</sup>	Andel med avvikande beteende <sup>3</sup>	Skador/sår/rodnader <sup>3</sup>	Mängd svampangripen fisk i älven <sup>3</sup>		Mängd svampangripen fisk i anläggningen <sup>3</sup>	Svårighet att hålla fisken vid liv	Behandlingsfrekvens <sup>4</sup>	Dödlighet (%)
								sommar	höst				
1	2022	hög	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	6.9
2	2020	normal	hög	normal	normal	inga	hög	inga	normal	hög	ja	hög	16.7
	2021	normal	normal	normal	normal	normal	inga	inga	inga	normal	nej	normal	2.8
	2022	normal	normal	normal	normal	normal	hög	normal	normal/låg	hög	ja	hög	55.7
3	2020	normal	.	.	normal	inga	normal	normal	hög	normal	nej	hög	6.4
	2021	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	.	.
	2022	låg	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	2
4	2020	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	.	normal	nej	normal	0.3
	2021	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	.	.
	2022	hög	normal	hög	normal	normal	normal	hög	hög	normal	nej	normal	1
5	2022	normal	normal	hög	normal	inga	normal	.	normal	.	nej	normal	12.5
6	2022	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	11.2
7	2020	något låg	normal	normal	normal	inga	normal	normal	normal	normal	nej	hög	7.5
	2021	något låg	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nej	normal	4.6
	2022	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	nja	normal	8.9
8	2020	låg	hög	normal	normal	normal	hög	hög	hög	hög	ja	.	46.5
	2021	hög	hög	normal	normal	normal	hög	hög	hög	hög	ja	.	100
9	2021	normal	normal	normal	normal	inga	normal	inga	inga	normal	nej	normal	7.8

Svarsalternativ: <sup>1</sup> Mindre andel/normal fördelning/större andel än normalt, <sup>2</sup> Smalare än normalt/normal kondition/trindare än normalt, <sup>3</sup> Inga observationer/normal (låg) andel/högre andel än normalt, <sup>4</sup> Mindre/ normalt/mer än normalt.

## Inventering av leksträckor

Inventeringar av leksträckor genomfördes för tredje året i Kalixälven (Linaälven och Ängesån), Kågeälven, Vindelälven, Öreälven, Ljungan (Åbäcken), Mörrumsån och Örekilsälven. Upplägget är att respektive leksträcka inventeras ca 1 gång per vecka under 4–5 veckors tid. Om sträckan är kortare än 500 m kontrolleras hela sträckan och om den är längre kontrolleras 500 m av sträckan. Antalet enskilda lekwilliga fiskar på plats, antalet lekwilliga fiskar med svampangrepp, antalet döende eller döda fiskar räknas eller uppskattas beroende på mängden fisk. Öring och lax behöver inte separeras. Om död lekfisk går att komma är en buköppning av för att se om de hunnit leka önskvärd. Rapportering gjordes i en Excelfil med möjlighet till kommentarer. **En ”älvsvis”** sammanställning följer nedan.

## RESULTAT

### Kalixälven (Linaälven och Ängesån)

Linaälven mynnar i Ängesån som i sin tur mynnar i Kalixälven. Inventeringarna genomfördes av Fiskemiljö Nord AB.

I Linaälven kontrollerades en ca 70 m lång leksträcka (Aksusaari) vid fyra tillfällen från 26 september till 14 oktober. Antalet fiskar var tre, fyra, fem och en vid respektive tillfälle. Vid det tredje första tillfällena noterades en lekwillig svampinfekterad fisk. Ingen död fisk observerades. Då ingen fisk fanns kvar på sträckan den 14 oktober bedömdes att leken var över och inventeringen avbröts. Resultaten är likvärdiga med inventeringen 2021.

I Ängesån kontrollerades en ca 50 m lång leksträcka (Nilivaara) vid fyra tillfällen från 27 september till 14 oktober. Antalet fiskar var fyra, tre, fyra och en vid respektive tillfälle. Vid de tre första tillfällena en, två och en lekwillig svampinfekterad fisk. Ingen död fisk observerades. Då ingen fisk fanns kvar på sträckan den 14 oktober bedömdes att leken var över och inventeringen avbröts. Ett par fler fiskar observerades 2022 än 2021, samtidigt som mängden svampinfekterad fisk ökat från en till fyra.

### Kågeälven

Kågeälvens nedre FVO besökte tre kända leklokaler (Skega (50 m), Storselet (150 m) och Kusmark (500 m)) vid 10–13 tillfällen under perioden 29 september–13 november. Tidigare år har höga vattenflöden gjorde att man inte över huvud taget kunde observera lek eller lekropar, men 2022 kunde minst ett 20-tal lekande fiskar observeras vid Storselet och Kusmark. Vattenståndet var högt och det var svårt att avgöra om någon fisk var svampangripen. Vid Kusmark finns dessutom notering om ett par fiskar på plats den 29 september respektive 2 oktober, och vid båda tillfällena noterades en svampangripen lekwillig fisk. I övrigt finns inga noteringar om fisk på lekplatserna.

### Vindelälven

Inventering genomfördes på leksträckan Krokforsstryckan av Daniel Jonsson, V River Service. Tidigare år har flödena varit mycket höga och inga noteringar om fisk på leksträckan har kunnat göras. Under 2022 var förutsättningarna bättre med mer normala flöden. Utöver de fasta dagar som noterats i mallen (sex tillfällen mellan 23 september och 6 november) flögs drönare frekvent längs stränderna och längs en längre sträcka än tidigare år för att försöka identifiera levande och död fisk. Trots detta har ingen fisk, varken levande eller död, säkert kunnat identifieras.

## Öreälven

I Öreälven assisterade Öreälvens FVO med inventering av fyra leksträckor (Bjurholm, Hummelholm, Långedsforsarna samt Per Larsforsen-Håknäsforsen). Under hela perioden mitten av september till slutet av oktober var det dock problem att inventera lekplatserna på grund av högt vattenstånd. Enstaka döda fiskar observerades och nere vid mynningsområdet observerades vid flera tillfällen havsörn på stranden, vilket indikerar att död lekfisk flutit nedströms.

## Ljungan

Nedre Ljungans FVO inventerade en leksträcka för öring i biflödet Åbäcken vid 10 tillfällen under perioden 1/10–29/10. Vid sju tillfällen (1/10, 9/10 samt från 14/10 och framåt) observerades ingen fisk på leksträckan. Den 9/10 observerades dock åtta lekgropar och en ny lekgrop observerades den 14/10 samt den 19/10. Vid tre tillfällen mellan 4/10–11/10 observerades fyra, en respektive två öringar av storleken 1–4 kg på leksträckan. Samtliga fiskar var friska.

FVO kommenterar att i övrigt att det var bra med vatten under hela perioden. Man såg inte någon fisk leka under dagarna utan de har lekt sent på kvällen/natten. Tidigare år har man alltid sett något eller några par leka under dagen.

## Mörrumsån

Två leksträckor inventerades av Blekinge Folkhögskola i Bräkne-Hoby. Inspektion gjordes vid fem tillfällen under perioden 14/10 – 8/11. Vattenföringen var relativt konstant och inte extrem samt var klart vid alla tidpunkter. Det var relativt bra väderförhållanden att observera fisk vid de tre första och det sista tillfället. Vid det fjärde observationstillfället var det mulet, och regnade (dåligt ljus/ sikt) och löv i vattnet försvårade observationsmöjligheterna. Ibland kunde art och kön inte bedömas på död fisk trots bra förhållanden, beroende på att fiskkroppens placering i ån omöjliggjorde identifiering.

Vittskövlerakan: Mycket mer fisk än de två föregående åren kunde observeras. Den 14/10 noterades sex levande fiskar varav en med lite svampangrepp. Den 18/10 observerades 22 fiskar, men endast tre av dessa var utan svampangrepp. Fjorton svampangripna fiskar upplevdes som lekwilliga medan tre var döende. En laxhane och en som inte kunde art/könsbestämmas hittades döda. Leken upplevdes ha börjat komma i gång. Den 25/10 observerades 10 levande fiskar varav nio hade svamp men var relativt pigga. I tillägg observerades 43 döende eller döda, liggande på botten eller i strandkanten. Fyra döda honor öppnades och ingen av dessa hade lekt. Enbart laxar identifierades, och det var en övervikt mot hanar bland de fiskar som kunde könsbestämmas. Den 1/11 observerades en levande, hoppande fisk i huvudfåran, en döende samt 12 döda fiskar. Det är oklart om fler döda låg längre ut i ån, då väderförhållandena var svåra. En hona öppnades och den hade inte lekt. Vid sista observationen 8/11 noterades enbart döda fiskar, totalt 27 st. En öppnades och hon bedömdes ha lekt men hade ca hälften av sin rom kvar i bukhålan.

Erlandssons kvill: På denna leksträcka noterades enbart ett fåtal fiskar under perioden. Den 14/10 observerades ingen fisk på leksträckan. Den 18/10 observerades två levande fiskar. Båda hade svampangrepp och en av dem var döende. Dessutom hittades en död fisk av obestämd art och kön. Vid det följande tillfället noterades en levande, pigg lax med svamp samt tre döda laxar. Den 1/11 noterades fyra döda laxhanar och den 8/11 noterades en levande, pigg fisk med svamp samt tre döda fiskar. En död hona öppnades och hon hade inte lekt.

Ansvarig för observationerna kommenterar dessutom: Jag har parallellt med våra regelbundna rundor utmed ån pratat med andra personer som rör sig mycket vid ån om vad de tror. Min sammanfattning, som styrks av samtalen jag haft med ovanstående är: det är ganska få fiskar i Mörrumsån, i alla fall på dom sträckor som vi besökt. När svampen bröt ut gick det fort och dödligheten var hög.

En annan personlig reflektion är att vi inte sett någon fisk som vi säkert skulle kunna bedöma som öring, varken levande eller död. Det beror säkert delvis på att Vittskövlerakan främst är ett lekområde som laxen föredrar. Erlandssons kvill är dock något mer lämplig som leklokal för öringen. Det blir såklart gissningar men är det: få öringar i ån, är de på en annan plats eller överlever de inte? Jag tror att det är en kombination av få öringar och att de föredrar andra platser, där ett litet antal är den största anledningen till att vi inte observerar dem.

Vi har inte sett någon aktiv lek men det har blivit fler ljusa fläckar på bägge sträckorna. Att det är ljusst behöver naturligtvis inte betyda att fisk lekt utan det kan även bero på att det helt enkelt stått fisk på vissa platser eller att vattenströmmar spolat rent gruset. Värt att tillägga är att båda områdena har restaurerats de **senaste åren och det kan göra att ”nya” stenar skapar turbulens på platser som tidigare haft en lugnare ström**. Skiftar vattenföringen lite så händer det nya saker då hela området ofta är lite instabilt första året efter restaurering med maskin.

Tyvärr känns det som att detta med svamporsakad dödlighet på höstarna blivit det nya normala. Det är lite otäckt hur fort våra ramar flyttas. Det är inte alls lika bland sportfiskarna eller hos lokalbefolkningen längre. Därför är det ganska speciellt att ha förmånen att få göra detta med en ny klass varje år. Deras reaktion liknar hur folk i allmänhet reagerade i början.

### Örekilsälven

Två leksträckor inventerades av Per Nyqvist, Brålands Gård vid sju tillfällen under perioden 15/10 – 5/12. Liksom föregående år var det höga flöden under lekperioden, vilket försvårade inventeringarna. En del levande fisk, merparten svampangripna, kunde trots detta observeras på lekplatserna.

Övre leksträckan: fisk observerades vid tre tillfällen mellan den 2/11 och den 15/11. Vid det första tillfället observerades två levande utan svampangrepp och observerades två svampangripna fiskar vid båda följande tillfällen.

Nedre leksträckan: fisk observerades vid fyra tillfällen mellan den 25/10 och den 15/11. Vid de två första tillfällena observerades två levande fiskar utan svampangrepp respektive tre levande fiskar varav två med svampangrepp. Vid de två sista tillfällena noterades enbart en levande, svampangripna fisk.

Kommentar från Per Nyqvist angående säsongen 2022: Vi har återigen haft en nederbördsfattig sommar men en väldigt regnrik höst. Trots lågt vatten under fiskesäsongen har det varit en relativt god uppgång av främst mellanlax och smålax. Det har inte påträffats några större mängder med sjuk eller död fisk under säsongen. Sporadiskt har det kommit in rapporter om enstaka döda/sjuka fiskar med samma sjukdomstecken som tidigare år dvs röda öppna sår följt av svampangrepp på huvud/ rygg och buk.

### DISKUSSION

Förhållandena för observation var generellt bättre 2022 än de två föregående åren, då många vattensystem hade höga flöden. Årets resultat visar att inventering av leksträckor är en användbar

metod under förhållanden som medger observationer. Att välja ut mindre biflöden till olika större älvar kan vara ett bra alternativ för att få en viss övervakning av lekfisken i dessa vattensystem.

Trots bra förhållanden och användande av drönare kunde ingen lax med säkerhet observeras på den valda sträckan i Vindelälven. Huruvida det handlar om att sträckan i sig är suboptimal eller om det handlar om att det är lite lax i älven är oklart, men då sträckan är lång och observationstillfällen därmed resurskrävande behöver andra områden utses för övervakning om Vindelälven ska inventeras årligen.

I Mörrumsån tillät förhållandena observation av långt fler laxar än tidigare år, även om förekomsten av lax i ån bedömdes som låg jämfört med vad som kan förväntas. Tyvärr observerades också omfattande dödlighet till följd av svampangrepp, men det visar samtidigt hur värdefull denna typ av övervakning är för uppskattning av hur mycket fisk som fortplantar sig och överlever leken.

I Öreälven och Örekilsälven var förhållandena för observation även under 2022 suboptimala. Därmed är det svårt att uttala sig om det steg som noterades i Örekilsälven under sommarsäsongen gett bra avkastning i form av att många fiskar överlevde lekperioden.

## Akutmedel

### SAMMANFATTNING

Under tidig vår 2022 togs ettårig lax in från två anläggningar på bekostnad av akutmedel för att undersöka så kallat vintervingel. Utöver detta fall gjordes undersökningar avseende algsvampen *Saprolegnia* spp. Svampangrepp eller vattenmögel, så kallad saprolegnios, förekommer både hos odlad och vild fisk. De senaste tio åren har det varit omfattande problem med svampangrepp på både nystigen lax i vissa vattensystem och på lekfisk (både lax och öring) i många vattensystem. Detta har gjort att SVA bedömer ett behov av att utveckla diagnostiken för att bättre karakterisera infektionen. Arbetet påbörjades under 2021 och har fortsatt under 2022.

### Undersökningar avseende vintervingel

Ettårig lax från anläggningarna Brobacken (SLU) samt Västanå (Vattenfall vattenkraft AB) togs in på akutmedel för att se om det gick att identifiera potentiella faktorer associerade med så kallat vintervingel och som kunde härröra från föräldragenerationen. Fiskarna inkom levande den 1 april, när problemen var avklingande. Den ena anläggningen hade haft problem medan den andra inte hade haft det, samtidigt som båda har lax av samma ursprung (Dalälven).

### GENOMFÖRDA UNDERSÖKNINGAR

Tio (problemanläggningen, *P*) respektive fem (kontrollanläggningen, *K*) laxungar undersöktes, varvid obduktion, histopatologi samt bakteriologisk och mykologisk diagnostik genomfördes.

För histopatologi fixerades skalle från fem (*P*) respektive tre individer (*K*). Lever fixerades från tre (*P*) respektive två (*K*) individer. Från *P* fixerades också lever, mage och tarm från en individ, gäle från en individ och hjärta från en individ. Materialet snittades i horisontellt plan i flera nivåer, hos skallarna från gomtaget upp mot skalltaget. Detta möjliggör att fler organ/organdelar i huvudet kan observeras än om man bara gör ett enkelt snitt. Exempel på strukturer som kunde undersökas i skallen är: gälar/gälhåla, pseudogälar, öga, synnerv, synlober, storhjärna, mitthjärna, lillhjärna, hypofys, förlängda märgen, skallben/brosk och muskulatur.

För mikrobiologisk undersökning gjordes bakteriologisk odling på blod- och Tyesagar från gäle och njure på två (*P*) respektive en (*K*) individ, samt mykologisk odling på PG1-agar från två gälar (*P*). Påvisade bakterier testades med avseende på antimikrobiellt resistensmönster för florfenikol, oxytetracyklin samt oxolinsyra.

### RESULTAT

#### Obduktion

Laxen från *P* var mindre i storlek och hade sämre hull än laxen från *K*. Vävnadsdöd (mindre till mer omfattande) förekom hos 7 av 10 respektive 4 av 5 fiskar i vardera anläggningen. Samtliga fiskar från *K* hade fenröta och sex fiskar från *P* hade skador på fenorna (två mekanisk skada utan inflammation, två fenröta, två blödande fenbaser). Samtliga fiskar från *P* hade tom tarm och full gallblåsa, vilket visade att de inte ätit den senaste tiden. I övrigt noterades en fisk med en liten blödning på levern och en med en liten blödning på tarmen i *P*. I *K* noterades inre avvikelser endast hos en fisk, i form av en inflammerad gallblåsa samt en något rundad och knottrig mjälte.

#### Histopatologisk undersökning

En fisk från *P* hade algsvampshyfer på gälarna. I övrigt noterades inga patologiska förändringar i något organ/organdelar i skallarna. Det förekom omfattande remodelering av brosk till ben utan



deformation (normal tillväxt). Tillväxt av muskulatur noterades också. Gälen som fixerades separat kunde inte bedömas trots nivåsnittning (få gälfilament med). Tre leverar hade total avsaknad av vakuolisering (näringsupplagring) i levercellerna, och en lever hade ett par små områden med ansamling av vakuoler. I tre av leverarna förekom sporadiskt spridda små hålrum, vilket kan ha orsakats av att celler dött. Magsäck och tarm hade inga patologiska förändringar. I bukspottskörteln noterades viss degeneration (enzymatisk nedbrytning påbörjad innan fixering). Hos fisken från *K* saknades patologiska förändringar i något organ/organdelar i skallarna. Omfattande remodelering av brosk till ben utan deformation samt tillväxt av muskulatur noterades (normal tillväxt). Leverarna hade mycket låggradig vakuolisering och i den ena levern noterades lindrig inflammatorisk reaktion kring kärl. Invid den andra levern fanns lite bukspottskörtel med, och där noterades inga förändringar.

### **Mikrobiologisk undersökning**

*Flavobacterium psychrophilum* påvisades på gäle (Tyesagar) hos båda individerna från *P*. Hos en av dessa påvisades även måttlig växt av *Pseudomonas fluorescens* på gäle (blodagar) samt *F. psychrophilum* i njure (Tyesagar). Resistensundersökning av *F. psychrophilum*-isolaten uppvisade intermediär resistens mot oxolinsyra respektive oxytetracyklin, men båda isolaten var känsliga för florfenikol. *P. fluorescens*-isolatet var resistent mot florfenikol och intermediärt resistent mot oxytetracyklin och oxolinsyra. Enbart ospecifik blandflora växte på proverna från *K*. Ingen svampinfektion påvisades genom odling.

### **BEDÖMNING/DISKUSSION**

Sammanfattningsvis finns inga tecken på att vintervingel skulle vara ett tillstånd orsakat av vertikal överföring eller bristtillstånd som kan vara vertikalt överförda från föräldragenerationen.

Inga förändringar i skalle/hjärna förenade med bristtillstånd noterades. Exempel på sådana är vävnadsdöd i hjärnan till följd av tiaminbrist eller deformationer i ben/brosk till följd av obalans i fosfor/kalcium-kvoten. Det senare tillståndet kan påverka balansen då hjärna och nerver utsätts för tryck från deformerade skallben och ryggkotor. Leverundersökningarna visade en mycket låg näringsupplagring, och hos *P*:s laxar förekom även tecken på att enskilda leverceller dött. Detta kan orsakas spontant (apoptos), eller av infektion/skada (nekros), I det senare fallet är det mer sannolikt att större områden av vävnad dör, men de fiskar som undersöktes har också överlevt vintervingelperioden, varför de kan ha varit låggradigt påverkade och därmed ha mindre omfattande vävnadsskador. Avsaknad av näringsupplagring får anses som normalt under tidig vår, då fisken inte ätit eller ätit mycket lite under den kalla årstiden. Den lilla skillnad som sågs (total avsaknad av näringsupplagring vs. mycket låggradig näringsupplagring) härrör sannolikt från att fisken i den sjuka gruppen (*P*) haft sämre aptit än den friska (*K*). *P*:s fisk var också mindre och tunnare i hullet och vilket tyder på att den har tårt på sina resurser och haft sämre tillväxt.

*F. psychrophilum* påvisades på gäle hos två fiskar. Hos den ena påvisades rikligare växt av *P. fluorescens*, men denna bedöms som sekundär då *F. psychrophilum* även påvisades i lindrig mängd i njure, vilket visar att infektionen börjat spridas i kroppen. *F. psychrophilum* bedöms därför kunna vara bidragande till vintervingel-problematiken på grund av att bakterien föredrar låga vattentemperaturer. En infektion påverkar fiskens allmäntillstånd och förmåga att hålla kroppens saltbalans, vilket i sin tur kan orsaka balansproblem. **Så länge det "enbart" är vinglighet** är det osannolikt att det en infektion påverkar brosket, då detta ger deformationer som påverkar nervsystemet och resulterar i att fiskarna simmar irrationellt i ett virvlande/spiralformat mönster. Kontrollfiskarna visade också tecken på infektion (fenröta och vävnadsdöd på gäle) men där gjordes endast odling från en fisk och enbart blandflora (överväxt/kontamination) påvisades.

## Diagnostik av *Saprolegnia* sp.

### INTRODUKTION

Angrepp av vattenmögel, så kallad saprolegnios, förekommer både hos odlad och vild fisk (Bild AF1). Med saprolegnios menas svampliknande angrepp orsakade av någon *Saprolegnia* sp. *Saprolegnia parasitica* är den art som vanligen orsakar saprolegnios, men andra arter som *S. diclina*, *S. ferax* och *S. delica* anses också patogena, särskilt för rom och yngel (Sandoval-Sierra et al., 2014). *Saprolegnia* förekommer framför allt i sötvatten men överlever också i lätt bräckt vatten, medan högre salthalter succesivt hämmar växt och sporulering. Hudskador och försämrad immunstatus kan vara underliggande orsaker till angreppen, och det anses att *S. parasitica* inte är en primärpatogen. Utlekta fiskar kan drabbas av saprolegnios och dö, då immunförsvaret är kraftigt nedsatt i samband med lek samtidigt som skador kan uppstå på grund av kamp om lekplatser. Ofta är angreppen tydliga, med vita till vitgula beläggningar fläckvis över kroppen. Angreppen försvårar diagnostik av underliggande/primära orsaker till skadorna, då svampen växer lokalt invasivt och förstör vävnaden.

SVA implementerade 2021 en qPCR-metod för artbestämning av *Saprolegnia parasitica* och *S. diclina*. Under 2021 och 2022 utvecklades metodiken vidare i syfte att på genetisk nivå karakterisera *S. parasitica* med så kallad 7-gens Multi Locus Sequence Typing eller MLST (Ravasi et al., 2018). Av de isolat vi hittills analyserat med metoden dominerar en variant, som har påträffats hos fisk från olika delar av Sverige. Varianten är mycket lik den som associerats med epizootier av saprolegnios i Frankrike och Schweiz (Ravasi et al., 2018). Denna variant skulle enligt författarna kunna vara en primärpatogen hos immunokompetent fisk.



**Bild AF1. Saprolegnia-infekterad lax, Klarälven 2021. Foto: Bengt Gjester**

### Syfte

Syftet var att under 2022 fortsätta den genetiska karakteriseringen av *Saprolegnia*-isolat för att undersöka släktskap mellan isolat från olika vattensystem.

### MATERIAL OCH METODER

#### Provinsamling och provuttag

Provtagning gjordes på fiskar inom provtagningsprogrammet för anadrom fisk samt från fisk i tre odlingsanläggningar som hade problem med svampangrepp. Efter provuttag placerades infekterade hudbitar på PG1-agar i rör eller på platta. I tillägg skickades material ut för provtagning av svampangripen vild fisk på fem geografiskt spridda platser. Provtagarna ombads ta ut hudbitar till tomma provrör och tillsätta lite älv-/åvatten för att hålla algsvampen vid liv under transport.

För att öka chanserna att isolera *Saprolegnia* sp. bad SVA om att få tio hudbitar per plats inskickade i separata provrör.

### Laboratorieanalyser

Hudproverna odlades på PG1-agar vid 15°C i 3–5 dygn. PG1 är ett medium framtaget för odling av svampar och algsvampar och som innehåller ämnen som hämmar bakterietillväxt. Det innebär att de mer långsamväxande algsvamparna ska få chansen att växa till sig. Eftersom *Saprolegnia* sp. växer på hud finns ofta en kontamination från omgivningen, dvs. andra svampar och algsvampar växer också till. Därför krävs ibland renodling innan artbestämning kan göras.

**Artbestämning gjordes med hjälp av qPCR på renodlade svamphyfer, eller från DNA som extraherats direkt från hudprover i de fall renodling inte har fungerat. qPCR:en visar om provet innehåller *Saprolegnia* spp. och om så är fallet dessutom huruvida *S. parasitica* och/eller någon art inom *S. diclina*-gruppen förekommer i provet (Rocchi et al., 2017 (*Saprolegnia* sp. & *S. parasitica*); egenutvecklad qPCR för *S. diclina*-gruppen).**

Under 2022 har 34 isolat av *S. parasitica* analyserats med MLST, för att undersöka genetiska likheter/skillnader enligt Ravasi et al. (2018) (Tabell AF5).

### RESULTAT

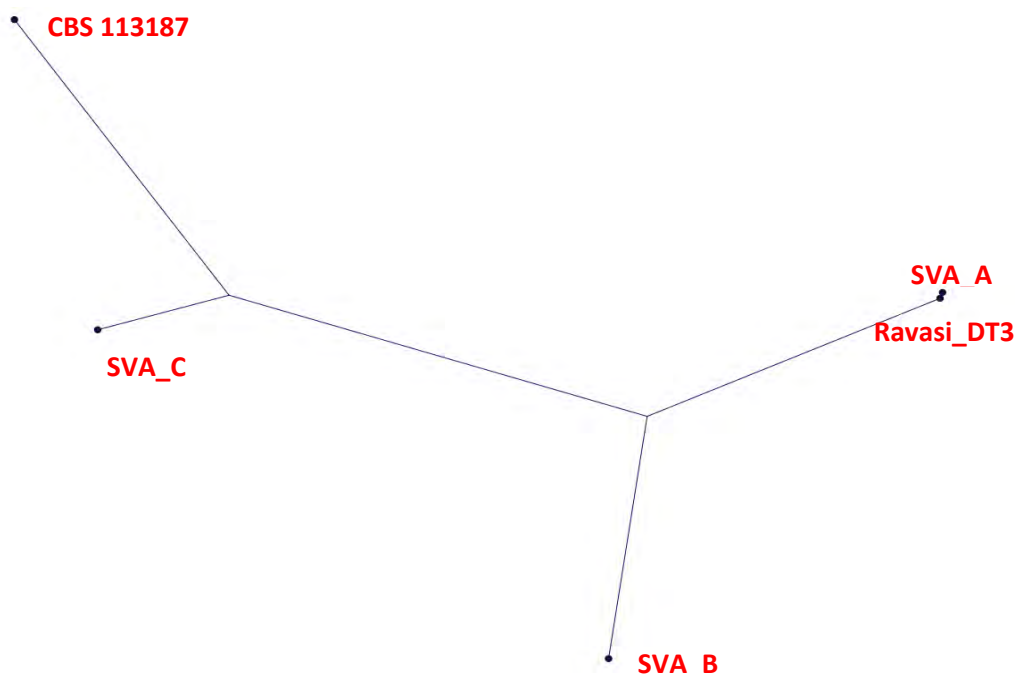
Femton svampangripna fiskar från tre olika odlingsanläggningar samt tre laxar från övervakningsprogrammet inkluderades. Från alla de 18 undersökta fiskarna kunde *S. parasitica* påvisas och på 14 av dessa isolat gjordes MLST-analys. Alla undersökta isolat tillhörde den variant vi valt att kalla SVA\_A. Inga infektioner eller blandinfektioner med *S. diclina* påvisades.

Från hudbitarna i det inbegärda materialet kunde vattenmöglet inte renodlas. Tack vare qPCR-metoden visades ändå att alla hudproverna var infekterade med *S. parasitica*. Försök att genomföra MLST direkt på DNA extraherat från hudprover gjordes. Detta fungerade endast för två av de sju generna, och de visade sig vara identiska med motsvarande gener för SVA\_A. Vi har kallat denna variant i typningen SVA\_Ax i tabellen nedan för att visa på loci åtminstone delvis överensstämmer med SVA\_A.

Detta kan jämföras med de 12 prover som analyserats under 2021, där 10 prover tillhörde SVA\_A och ett prov vardera tillhörde MLST-varianterna SVA\_B och SVA\_C. SVA\_B hittades hos lax i ett vattensystem där även SVA\_A påvisades (Ätran), medan SVA\_C påvisades i en recirkulerande anläggning. En jämförelse av släktskap mellan de tre SVA-varianterna och två andra MLST-varianter finns i Figur AF2 nedan.

**Tabell AF5.** Prover som analyserats med MLST för typning av *S. parasitica* under 2022

Datum	Fiskart	Vattensystem	Artbestämning med qPCR	Antal prover	MLST-variant
<b>Övervakning / sjukdom</b>					
Januari	lax & öring	Gullspångsälven	<i>S parasitica</i>	4	SVA_A
Februari	lax & öring	Gullspångsälven	<i>S parasitica</i>	2	SVA_A
Juni	lax	Ätran	<i>S parasitica</i>	1	SVA_A
Juli	lax	Umeälven	<i>S parasitica</i>	1	SVA_A
Juli	öring	Indalsälven	<i>S parasitica</i>	2	SVA_A
Augusti	havsöring	Skellefteälven	<i>S parasitica</i>	1	SVA_A
Oktober	sik	Indalsälven	<i>S parasitica</i>	3	SVA_A
				<b>14</b>	
<b>Inbegärt hudmaterial</b>					
November	öring	Vättern / Röttleån	<i>S parasitica</i>	4	SVA_Ax
November	öring	Vättern / Hökesån	<i>S parasitica</i>	4	SVA_Ax
November	lax	Lagan	<i>S parasitica</i>	4	SVA_Ax
November	lax	Dalälven	<i>S parasitica</i>	4	SVA_Ax
November	lax	Mörrumsån	<i>S parasitica</i>	4	SVA_Ax
				<b>20</b>	



**Figur AF2.** Släktskapsförhållanden mellan *S. parasitica* isolerade från hudsår hos angripen fisk baserat på 7-gens MLST enligt Ravasi et al. (2018). Beteckningen SVA\_A visar den variant som varit vanligast förekommande i prover från vild och odlad fisk under 2021 – 2022. SVA\_B och SVA\_C är de två andra varianter som påvisats hos svenska fiskar under 2021. Ravasi\_DT3 är den sekvenstyp som var dominerande i sjukdomsutbrott i studien av Ravasi et al. (2018). CBS 113187 är ett referensisolat inköpt från en stambank.

## DISKUSSION

SVA\_A är mycket lik MLST-varianten DT3 som identifierats vid stora utbrott av saprolegnios i Frankrike och Schweiz, och som misstänks vara en primärpatogen hos immunokompetent fisk. Det är därför oroande att SVA\_A kan hittas i princip över hela Sverige och att omfattande utbrott har observerats i de vattendrag och anläggningar den isolerats från, eftersom effektiva behandlingar mot saprolegnios saknas och det är svårare att förebygga infektioner med primärpatogener än infektioner med opportunist.

Till skillnad från 2021 fanns under 2022 en total homogenitet hos de *S. parasitica*-isolat som kunde typas fullständigt med 7-gens MLST. I tillägg finns skillnader i alla sju analyserade gener mellan MLST-varianterna SVA\_A, SVA\_B och SVA\_C. Därför kan vi med stor säkerhet säga att SVA\_Ax är närbesläktad med SVA\_A, och sammanlagt talar 2021–2022 års resultat för en nästan total dominans av MLST-varianten SVA\_A i svenska vatten. Totalantalet typade prover är dock fortfarande litet och ytterligare vattensystem behöver inkluderas för att säkerställa detta. *Saprolegnia parasitica* har dessutom ett stort genom (arvs massa) och många av generna finns i flera kopior. Det kan finnas skillnader i DNA-sekvensen mellan kopiorna, vilket innebär att ett enda *S. parasitica*-isolat kan ha två eller fler varianter avseende ett specifikt locus, och därmed olika MLST-varianter. Vid MLST får man fram en DNA-sekvens per locus, och eventuella skillnader i DNA-sekvensen visar sig som så kallade dubbeltoppar, som måste utvärderas. Tolkningen kan bli krävande och tidsödande, och kan ge viss skevhet i resultaten då man måste välja vilken DNA-bas man bedömer är korrekt för varje dubbeltopp.

I Finland upplever man samma problematik med saprolegnios som i Sverige. I ett pågående projekt undersöker man svampangripen fisk i fiskodlingar. Man har nu visat att arten *S. parasitica* är den helt dominerande arten vid saprolegnios hos odlad fisk i Finland medan befruktad rom framför allt angrips av *S. diclina* och hos gulesäcksyngel var två isolat *S. parasitica*, två *S. ferax* och tre *Saprolegnia* spp. För smittspårning har man även i detta projekt provat att använda 7-gens MLST enligt Ravasi et al. (2018). Liksom SVA har man sett sekvensskillnader mellan kopior av samma gen. I Finland har de löst detta genom att göra s.k. amplikon-sekvensering av varje gen. Man uppförökar då DNA för varje gen med PCR, och sedan djupsekvenserar man isolatet, vilket innebär att alla DNA-kopior sekvenseras separat, med next generation sequencing. Man får då ett stort antal parallella sekvenser för varje gen, och kan enkelt se hur många olika kopior som finns hos varje isolat. Därefter har man valt den dominerande genvarianten och gett denna ett nummer. På grund av skillnader i metodik och benämning kan vi inte jämföra våra resultat rakt av med de finska resultaten. De finska forskarnas slutsats blir dock motsvarande vår - att det även i Finland finns en dominerande MLST-variant av *S. parasitica*. De ser ingen skillnad i MLST-profil mellan fiskarter, odlingsanläggningar eller regioner.

De finska resultaten stämmer väl överens med tidigare studier avseende att man i rom framför allt hittar *S. diclina*. De noterar dessutom att med *S. parasitica* hos fiskyngel var av en annan MLST-variant än den som dominerar helt hos äldre fisk. Resultaten presenteras i två välgjorda artiklar (Korkea-Aho et al., 2022; Engblom et al., 2023).

Utifrån de svårigheter som finns med bedömning av MLST-sekvenser ser vi att det finns ett behov av att utveckla säkrare genetiska typningsmetoder för *Saprolegnia* generellt. Amplikon-sekvensering ger hög upplösning men är dyrt när man behöver sekvensera flera gener per prov, och är därmed bara görligt inom specifika, väl finansierade, projekt. Dessutom kräver även amplikonsekvensering ett val avseende vilken genvariant som ska användas för att definiera

isolatet, varvid variationen i ett isolat maskeras. MLST är inte heller optimalt om man vill undersöka patogenicitet (invasiv och sjukdomsorsakande förmåga) hos isolaten. Metoden bygger på att undersöka så kallade house-keeping genes, gener som är nödvändiga för algsvampens överlevnad, för att säkerställa att alla loci ska kunna identifieras och definieras.

### SLUTSATS

Det material som undersökts från svampangripen fisk under 2022 stöder resultaten från 2021 om att det finns en dominerande MLST-variant av *S. parasitica* i svenska vatten. Ytterligare prover behövs för att verifiera detta. Metodiken för typning av *S. parasitica* är tidskrävande och/eller kostsam men utveckling kräver sannolikt ett flerårigt forskningsprojekt för att identifiera optimala gener att använda för ändamålet.

### REFERENSER

- Engblom, C., Landor, L., Sjöqvist, C., Korkea-aho, T., Viljamaa-Dirks, S., Paulin, L., & Wiklund, T. (2023). Identification and genetic characterization of *Saprolegnia parasitica*, isolated from farmed and wild fish in Finland. *Journal of Fish Diseases* 46(8): 849-860
- Korkea-Aho, T., Wiklund, T., Engblom, C., Vainikka, A., Viljamaa-Dirks, S. (2022). Detection and Quantification of the Oomycete *Saprolegnia parasitica* in Aquaculture Environments. *Microorganisms* 10(11): 2186
- Ravasi, D., De Respinis, S., Wahli, T. (2018). Multilocus sequence typing reveals clonality in *Saprolegnia parasitica* outbreaks. *Journal of Fish Diseases* 41(11): 1653-1665
- Rocchi, S., Tisserant, M., Valot, B., Laboissière, A., Frossard, V., Reboux, G. (2017). Quantification of *Saprolegnia parasitica* in river water using real-time quantitative PCR: from massive fish mortality to tap drinking water. *International Journal of Environmental Health Research* 27 (1): 1-10
- Sandoval-Sierra, J. V., Latif-Eugenin, F., Martín, M. P., Zaror, L., Diéguez-Uribeondo, J. (2014). *Saprolegnia* species affecting the salmonid aquaculture in Chile and their associations with fish development stage. *Aquaculture* 434: 462–469

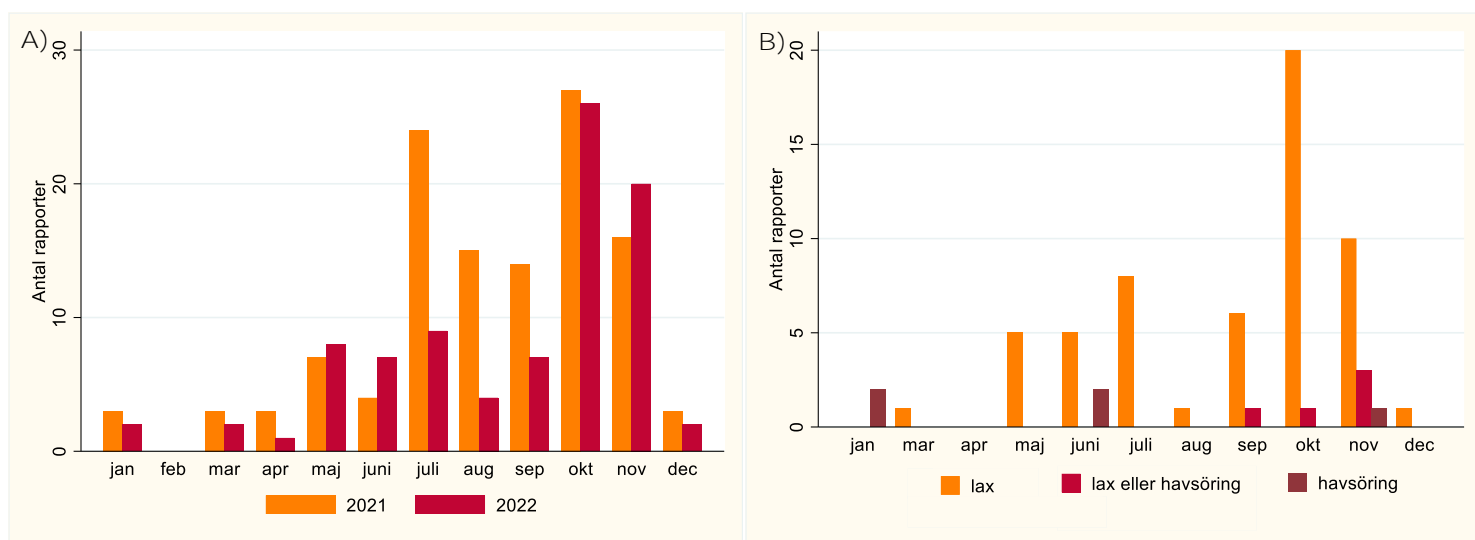


## Rapportportalen

Liksom alla föregående år sedan rapportportalen lanserades 2016 dominerade laxfiskar och framför allt lax i inkomna rapporter. Totalt rapporterades 87 fall som berörde laxfisk, varav 67 rörde anadroma fiskar, där 57 var laxar, 5 var havsöringar och 5 laxar eller öringar (artbestämning ej möjlig på grund av avsaknad av foto eller att det inte gick att definiera utifrån fotot). Övriga laxfiskarter rapporteras i Del 4. Sötvattenlevande fisk.

"Fångstmetod" Art/fiskgrupp	Totalt	Död	Svag/ döende	Spinn	Fluga	Trolling/ harling	Pimpel	Nät	Håv	Fälla	Annan	Okänt
Lax	57	13	24	4	7	-	-	1	2	-	1	5
Lax el. havsöring	5	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Havsöring	5	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Stationär öring	9	-	6	1	1	-	-	-	-	-	1	-
Regnbåge	4	-	2	-	-	-	-	-	1	-	1	-
Röding	5	-	1	-	-	-	1	-	1	-	2	-
Sik	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Det bimodala mönster som noterats samtliga år som rapportportalen varit aktiv planade ut 2021 och 2022 var det i princip helt ersatt av en stor topp på hösten. (Figur AF3A). Svamp var det vanligaste fyndet (45 laxar). I övrigt rapporterades sårskador, trasiga fenor, bit-/rivsår, rodnader, hudblödningar, fjällförluster, inre eller yttre parasiter samt **enstaka fall av "annat"**. I ett fall angavs inte fynd. Många fiskar var stadda i förruttelse. Rapporterna om havsöring fördelades över januari, juni och november, medan rapporterna som rörde antingen lax eller havsöring inkom i september till november (Figur AF3B). I åtta av tio fall angavs svampangrepp som fynd, i ett fall **angavs fisken bara som "död sedan länge" och för en som fångats vid spinnfiske angavs att det fanns bulor/bölder på kroppen men bild saknades.**



**Figur AF3. A)** Fördelningen av rapporter avseende laxfiskar över året under 2021 och 2022. **B)** Månadsvis fördelning av rapporter avseende lax, havsöring samt lax/havsöring (okänt) under 2022.

Från de vattendrag där provtagningar genomfördes 2022 har rapporter inkommit enligt följande:

### **TORNEÄLVENS VATTENSYSTEM**

Under 2022 rapporterades totalt tre sjuka eller döda laxar från Torneälvsystemet och mynningsområdet/Haparanda skärgård. Rapporterna kom in i juni, juli och september. En hade UDN-liknande förändringar på nosen samt lindriga svampangrepp på fenorna, en hade en mekanisk skada (säl eller krok) under buken samt misstänkt skada efter nejonöga på huden mellan gällocken. En angavs ha inre parasiter, men foton saknades. Antalet inkomna rapporter var kraftigt reducerat jämfört med tidigare år (2021 9 st, 52 st 2020, 144 st 2019, 44 st 2018, 26 st 2017 och 101 st 2016). Ytterligare sex rapporter (fem om lax, en oklart om det var lax eller havsöring) inkom från närliggande Kalixälvens vattensystem under maj, juli och september till november. Samtliga dessa fiskar var svampangripna.

Liksom 2021 bedömdes det låga antalet rapporter vara kopplat till en förbättrad laxhälsa.

### **UME- OCH VINDELÄLVENS VATTENSYSTEM**

Totalt inkom sju rapporter från Ume- och Vindelälven avseende sjuk eller död lax och en rapport om havsöring. Sex av rapporterna kom in under en månad från slutet av juni till slutet av juli, en inkom i september och en i oktober. Sju av laxrapporterna handlade om svampangripna fiskar, varav en var död och tre döende. För tre angavs inte hur de hittats/fångats och bilder saknades. Den sista laxen hade hittats död och hade omfattande mekaniska sårskador (sälångrepp) på buk och sidor. Antalet rapporter minskade gentemot tidigare år, ex inkom 13 rapporter 2021, 54 st 2020, 36 st 2018 och 42 st under uppstartsåret 2016.

### **KLARÄLVENS VATTENSYSTEM**

Liksom 2021 inkom tre rapporter från Klarälven, varav en i augusti och två i oktober. Alla tre rörde levande svampangripen fisk, varav två observerades inne i Karlstad, och en rörde två angripna laxar som fångats uppströms vid Forshults kraftstation. Den årliga rapporteringen från Klarälven och Väneren i närheten av mynningen har legat stabilt på 3-6 rapporter per år sedan 2016.

### **ÄTRANS VATTENSYSTEM**

Från Ätran inklusive Högvadsån inkom 12 rapporter om lax mellan 12 maj och 11 november, varav fem rapporter i november. Sju laxar var svampangripna, två hade rodnader och en hade hudblödningar som likande red skin disease och en hade lusangrepp och hudblödningar. Den tolfte fisken hade red vent syndrome (RVS/anisakiasis). Antalet rapporter ligger stabilt gentemot 2020–2021, 2017 (12–13 st per år) och 2018 (14 st) men har minskat gentemot 2019 (20 st).

# 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*) och vita prick/ich (*Ichthyophthirius multifiliis*) har genomförts på juveniler, större gulål eller blankål i tio provtagningspunkter. I tillägg har diagnostik avseende virus och bakterier genomförts. Totalt har 292 ålar undersökts. Syftet är att övervaka ålens hälsa samt risken för att vandrande ål introducerar virus i inlandszonen. Undersökningarna visar liksom tidigare år att ålherpes och simblåsemask är vanligt förekommande.

#### INTRODUKTION

Europeisk ål (*Anguilla anguilla*) är en hotad art i hela utbredningsområdet, som inkluderar Europa, Nordafrika och västra Asien. Sverige har en ålförvaltningsplan som 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>). I planen ingår årlig utsättning av importerad juvenil ål ut varje år i kust- och inlandszon efter karantän 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. Ål som är infekterad med IPN-virus är ofta symptomfri, men viruset har påvisats i svensk ålodling i samband med sjukdom. Sverige har fristatus avseende IPN i inlandszon (Nationella åtgärder enligt EU 2016/429 Artikel 226) 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.

SVA genomför sedan 2018 även hälsoövervakning av naturligt vandrande juvenil ål (liten gulål), samt blankål som fångas inom SLU:s provfisken på västkusten. Hälsokontrollen inkluderar undersökning avseende tecken på sjukdom samt rutinmässig provtagning för kontroll av olika virus, inklusive ålherpes (Ang-HV1). Hos ål som är minst 18 cm undersöks även förekomst av simblåsemask (*Anguillicola crassus*). Parasiten introducerades i Sverige under 1980-talet och kan påverka simblåsans funktion samt orsaka anemi. Vid tecken på sjukdom, t. ex i form av sår eller hudblödningar, tas extra prover för att fastställa sjukdomsorsak.

#### Syfte

Hälsoövervakningen 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).

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Provinsamling**

Provinsamlingen pågick från juni till augusti. 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. Totalt skulle 300 ålar från 10 geografiskt spridda provtagningspunkter samlas in. På grund av mycket dålig rekrytering av ål till en av provtagningspunkterna som användes 2021 ströks den från listan.

### **Provtagningspunkter och fisk**

Från varje planerad provtagningspunkt var målet att samla in 15 ålar fördelat på två omgångar, dvs totalt 30 ålar per provtagningspunkt. SLU:s kustprovfisken genomförs endast vid ett tillfälle per provtagningspunkt, och således fångades de 30 ålarna vid samma tillfälle i dessa provtagningspunkter. Ålen skulle skickas färsk till SVA för provtagning.

Utöver att insamlingen utgick från punkter där ål redan samlas in var också ett mål att sprida provtagningen geografiskt. Totalt utsågs 10 provtagningspunkter, och från varje provtagningspunkt var målet att samla in 30 ålar fördelat på två omgångar. SLU:s kustprovfisken tillät bara en fångstomgång och således fångades 30 ålar vid varje provfiske. Totalt skulle detta generera 300 fiskar. Ålen skulle skickas färsk till SVA för provtagning.

### **Obduktion och provuttag**

Beroende storlek genomfördes obduktion och provuttag på olika sätt. För ålar <18 cm togs endast totalvikten och längsta respektive kortaste ålen i inskicket mättes. Yttre avvikelser noterades. Provuttag för virusodling samt ålherpes gjordes genom att stjärt delen (bakom anus) kapades och resten av kroppen finfördelades med skalpell.

På ålar  $\geq 18$  cm togs individuella längd- och viktmått, obduktion genomfördes, det vill säga 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.

För virusodling poolades organdelar från upp till 10 individer till ett prov. För analys avseende ålherpes poolades organdelar från tre individer till ett prov. 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 qPCR avseende ålherpes (AngHV-1), dels genom allmän virologisk odling enligt av EU:s referenslaboratorium för fisk och kräftdjur föreskriven metodik för IHNV/VHSV ([VHS - EURL Fish & Crustacean Diseases \(eurl-fish-crustacean.eu\)](http://VHS-EURL.Fish&CrustaceanDiseases.eurl-fish-crustacean.eu)). Denna metodik fångar även upp IPNV.

Bakteriologisk odling på hästblod- och TYES-agar genomfördes på individer med indikation på bakteriell infektion. Plattorna inkuberades vid 20°C i upp till 7 dagar.

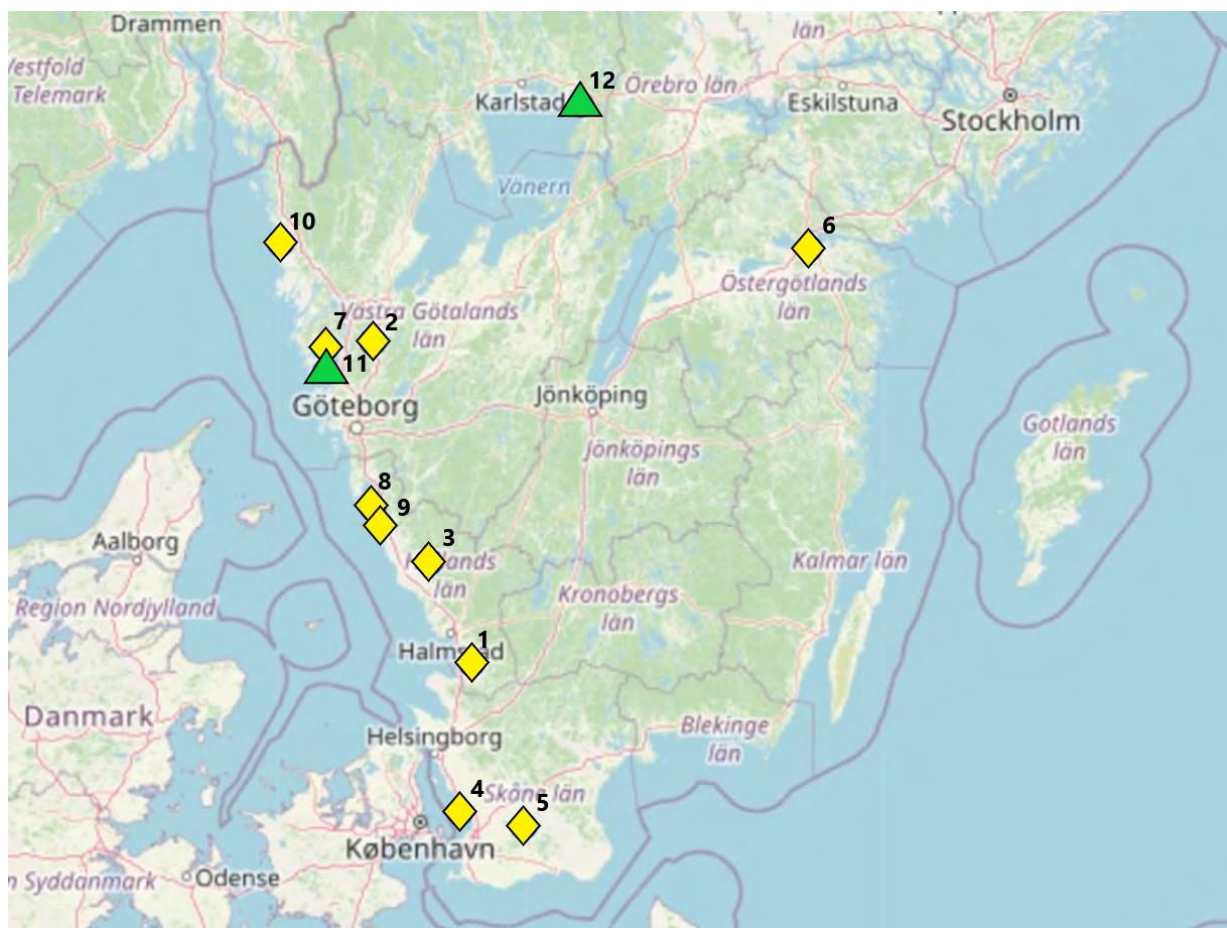
### **Databearbetning**

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 - oktober, med en provtagning i juni, tre provtagningar i juli, fyra i augusti, tre i september och två i oktober. Sammanlagt inkom 292 ålar från tretton olika provtagningstillfällen i tio provtagningspunkter (Tabell KF1, Bild KF1). Antalet ålar per inskick var 6 – 32 st. På grund av transportproblem sköts vissa inskick av ål upp. När ål sedan kunde var ålvandringen nästan var passerad på vissa lokaler, och således inkom mindre ål än beräknat från dessa till SVA. Vid en provtagningspunkt hade ålen börjat vandra tidigt. Detta ledde till att man missade merparten av ålen som passerade och endast sex individer kunde skickas in. I ett av inskickerna från SLU (Fjällbacka) var fisken frusen och skickades inte förrän två månader efter fångst och efter påminnelse. I övriga inskick ankom ålarna till SVA efter 1-2 dygn (åtta inskick) eller 4-5 dygn (två inskick).



**Bild KF1.** Gula romber (1-10) representerar lokaler från övervakningsprogrammet och gröna trianglar (11-12) = lokaler varifrån ål kommit in på akutmedel (se detta avsnitt nedan, s. 93). Numrering inom respektive program har gjorts utifrån ankomstordning till SVA. Kartunderlag från [www.rl.se](http://www.rl.se).

### Obduktion och provuttag

I sex inskick fanns ålar som var så små att endast min-max längd och snitt-/totalvikt skulle mätas. För tre av dessa inskick har individuella mått ändå tagits. Längden varierade mellan 9 - 62 cm och vikten mellan 0.15 – 384 g. Generellt var ålen i god kondition.

I inskicket från SLU Aquas kustprovfiske i Barsebäck noterades tretton ålar med rodnader/blödningar runt munnen (främst underkäken), samt hos nio ålar rodnader/blödningar kring bröst- och analfenor. I en ål påträffades en sten om ca 1x2 cm i magsäcken.

### Parasiter

Av 292 ålar undersöktes 166 st från sju provtagningar avseende simblåsemask. Totalt var 57 undersökta ålar (34%) från sex av de sju provtagningspunkterna infekterade. I tillägg hittades en simblåsemask hos en liten ål (ca 13 cm) i samband med sönderdelning för virusprovtagning, vilket ger en total av 58 infekterade ålar. Andelen infekterade ålar per provtagningspunkt var 0 - 84%. Medianvärdet var 3.5 (min 1, max 33) *A. crassus*/infekterad ål (Tabell KF1). Infekterade ålar var signifikant längre än oinfekterade ålar (median 48 cm (min 13, max 62 cm), n=58 vs. median 44.5 cm (min 15, max 58 cm), n=109;  $Z=-2.7$ ,  $p<0.01$ , Wilcoxon's rangsummetest). Figur KF1 visar antalet simblåsemaskar för ålar av olika längd och ett estimat av hur många simblåsemaskar som bör återfinnas vid en viss längd utifrån årets resultat.

Vita prick påvisades i fyra av tio provtagningspunkter. Andelen infekterade ålar per provtagningspunkt varierade från 5 - 40%. Totalt var 20 av 292 ålar (7%) infekterade.

### Laboratorieanalyser

Totalt odlades 36 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 101 organpooler, varav 46 st från sex olika provtagningspunkter var positiva (Tabell KF1, Bild KF2 punkt 1-10). Den minsta ålen i en positiv pool var 9 cm lång. Medianlängden hos ål i negativa pooler var signifikant kortare än ål i positiva pooler (12.5 cm (min 6.5, max 57 cm), n=111 vs. 47 cm (min 9 cm, max 62 cm), n=127;  $Z=-9.4$ ,  $p<0.0001$ , Wilcoxon's rangsummetest) (Figur KF2). 54 ålar ingår inte i beräkningen då längduppgift saknas, men finns med i figuren (markerade med X). Ingen av ålarna med hudblödning, sår eller bleka gälar ingick i viruspositiva pooler.

Bakteriologisk undersökning gjordes på två ålar med hudblödningar, från provtagningspunkt Barsebäck. En av ålarna var positiv för *Vibrio anguillarum* serotyp 2 (Bild KF3).

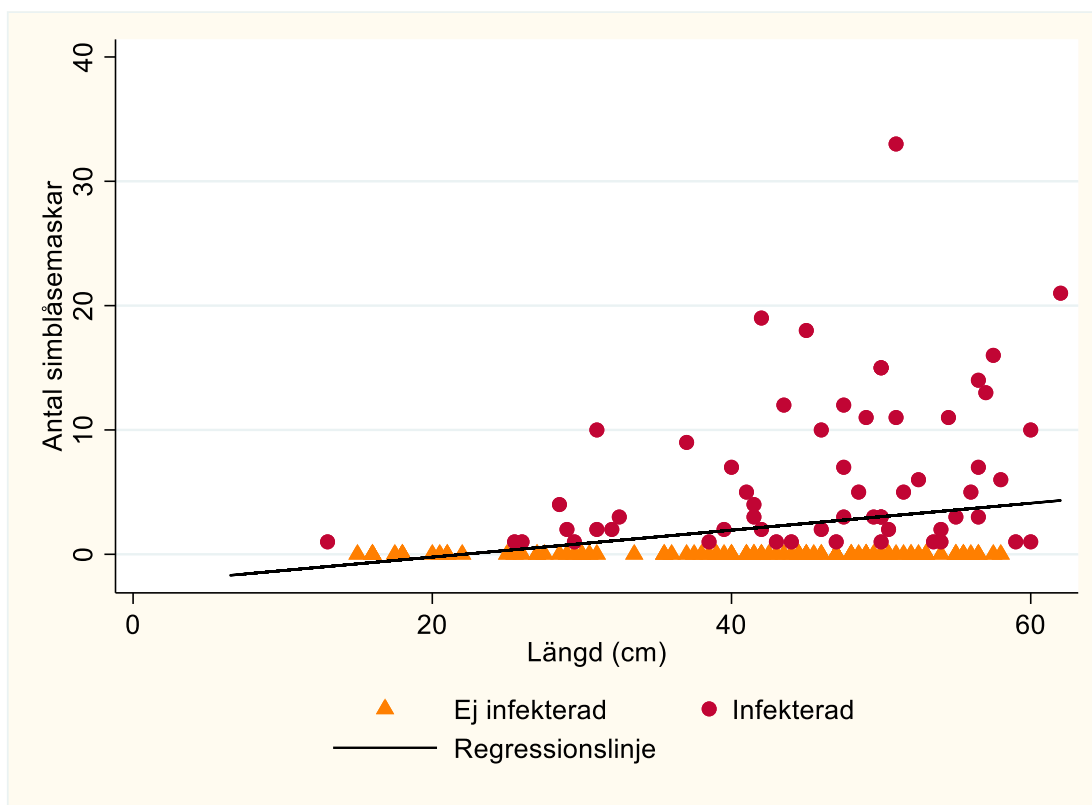
Bakteriologisk undersökning på njure gjordes på fem ålar från två provtagningspunkter (Barsebäck, Motala Ström) men ingen bakterie påvisades.

**Tabell KF1. Resultat avseende somatiska undersökningar, virusundersökning och förekomst av simblåsemask inom ålhäsoövervakningen 2022**

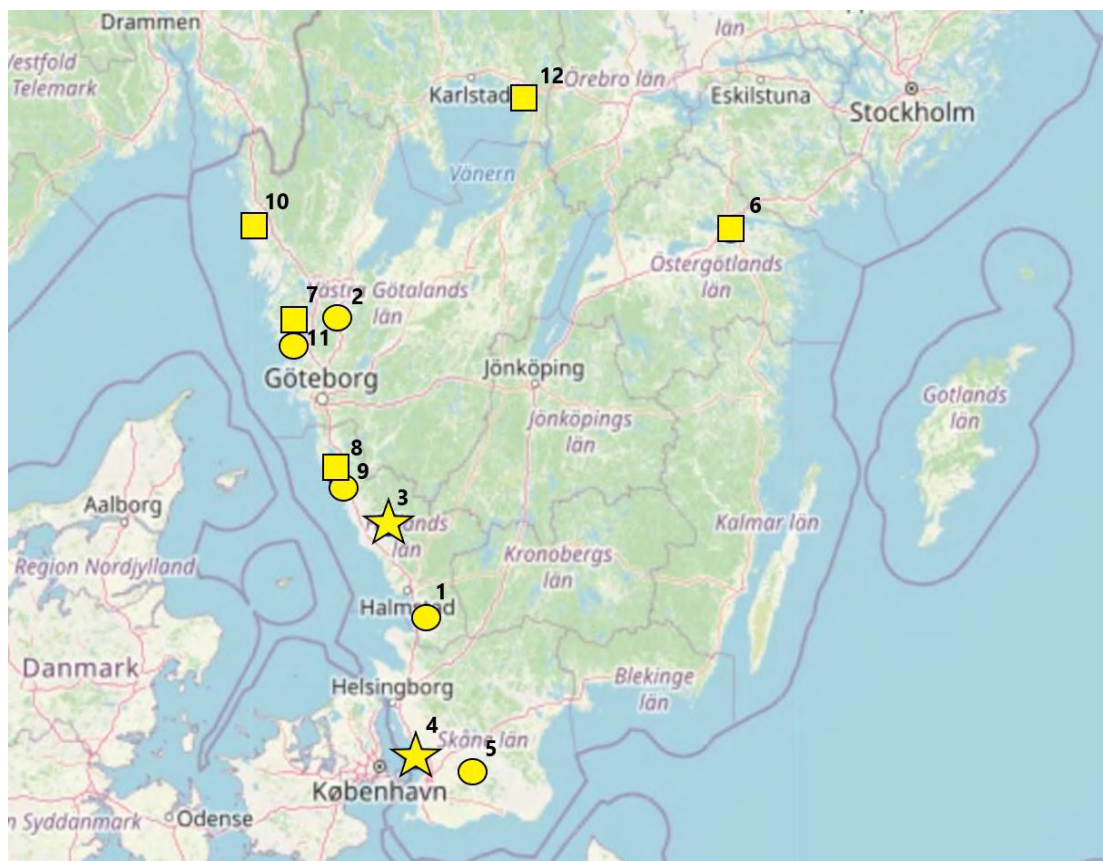
Provtagningsspunkt	Ankomst	Antal ålar	Längd, cm	Vikt, g	Ålherpes <sup>1</sup>	Virusodling <sup>2</sup>	Vita prick	<i>Anguillicoloides crassus</i>	
	SVA		Median (min, max)	Median (min, max)	Pos/totalt	Pos/totalt		Pos/totalt	Median (min, max) <sup>3</sup>
1 Lagan/Laholm kraftstation	28/6	19	(7, 10) <sup>4</sup>	0.65 (snittvikt)	0/6	0/0	0/19	Ej undersökt	Ej undersökt
	1/9	21	(7, 10) <sup>4</sup>	1.3 (snittvikt)	0/7	0/2	0/21	Ej undersökt	Ej undersökt
2 Göta älv/Lilla Edet	5/7	15	16 (12, 26)	6.1 (2.1, 18.7)	0/5	0/2	2/15	1/11	1
	25/7	15	12.5 (11.5, 17.5)	2.2 (1.66, 3.4)	0/5	0/2	6/15	Ej undersökt (1) <sup>5</sup>	1
3 Ätran/Ätrafors kraftverk	13/7	14	Data saknas	Data saknas	1/5	0/2	3/14	Ej undersökt	Ej undersökt
	16/8	20	11.3 (9, 20.5)	1.27 (0.56, 10.7)	1/7	0/2	1/20	0/1	0
4 Barsebäck	11/8	31	47.5 (38, 57)	174 (71, 320)	2/10	0/4	0/31	20/31	6 (1, 33)
5 Vombsjön/ Kävlingeån	16/8	6	18 (11, 35.5)	6.5 (1, 51)	0/2	0/1	1/6	1/4	4
6 Motala ström	18/8	30	30.8 (25, 50)	35 (20, 174)	10/10	0/3	7/30	11/30	2 (1, 10)
7 Stenungssund/Stig- /Askeröfjorden	1/9	32	47.5 (39, 58)	132 (52, 202)	11/11	0/4	0/32	0/32	0
8 Vendelsö, Kattegatt	7/9	32	49.3 (36, 57.5)	176.5 (70, 349)	11/11	0/4	0/32	3/32	2 (1, 3)
9 Viskan	4/10	32	8.3 (6.5, 10)	0.46 (0.15, 0.96)	0/11	0/4	0/32	Ej undersökt	Ej undersökt
10 Fjällbacka/Skagerrak	6/10	25	50 (37, 62)	202 (68, 384)	9/9	0/3	0/25	21/25	6 (1, 21)
<b>Totalt</b>		<b>292</b>	<b>39.3 (7.5, 62)</b>	<b>77.5 (0.2, 284)</b>	<b>46/101</b>	<b>0/36</b>	<b>20/292</b>	<b>58/167</b>	<b>3.5 (1, 33)</b>

<sup>1</sup> tre ålar per prov, <sup>2</sup> <10 ålar per prov, <sup>3</sup> för infekterade ålar, <sup>4</sup> endast min och max finns, <sup>5</sup> I en ål (ca 13 cm) upptäcktes en *A. crassus* vid sönderdelning för virusprov.

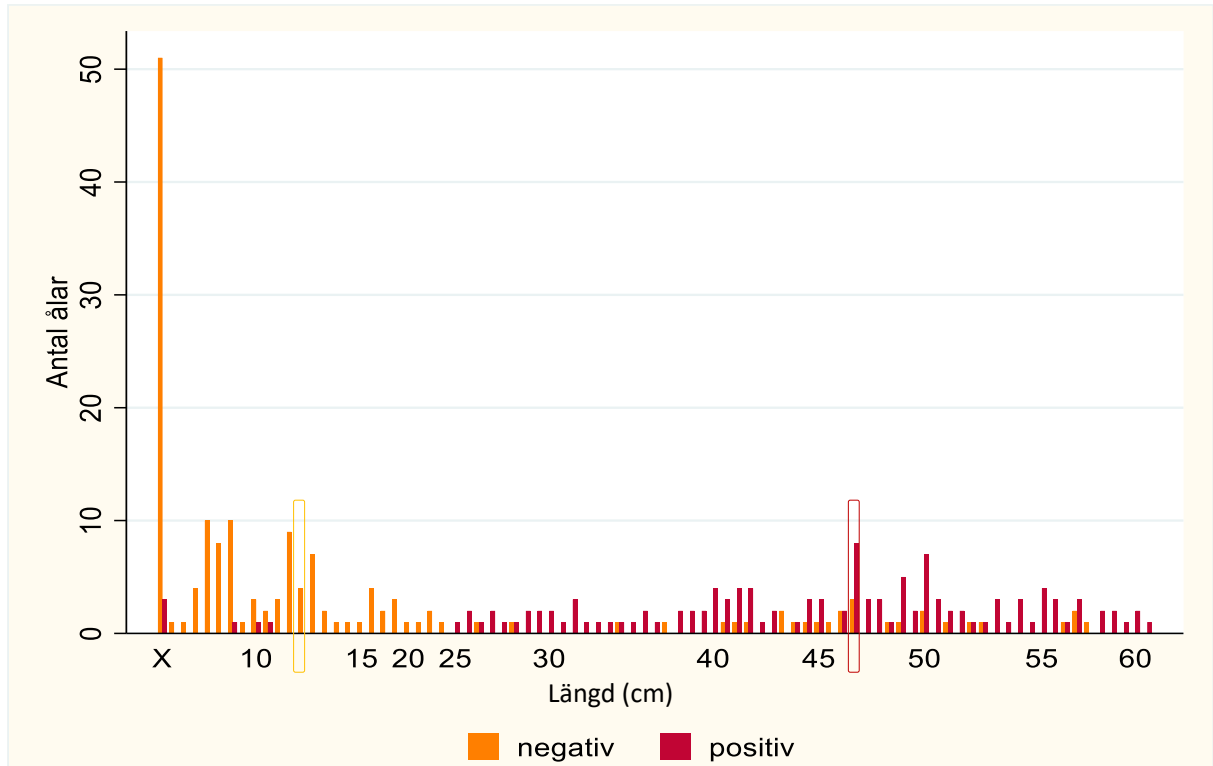




**Figur KF1.** Antal återfunna simblåsemaskar och längd hos ålar där förekomst av simblåsemask undersökts. Regressionslinjen visar förväntat antal maskar hos en individ av en viss längd.



**Bild KF2.** Resultat avseende Ang-HV1 för provtagningspunkter 2022. Cirkel = alla pooler negativa, stjärna = någon eller några av poolerna positiva, fyrkant = samtliga pooler positiva. Specifik analysinformation per provtagningspunkt inom ålhälsoövervakningen finns i **Tabell KF1**. Kartunderlag från [www.rl.se](http://www.rl.se).



**Figur KF2.** Längden hos ålar i AngHV-negativa respektive AngHV-positiva pooler inom ålhälsövervakningen 2022. Medianlängden i respektive grupp är inringat i respektive grupps färg. "X" representerar de fiskar där längdmått saknas. Avståndet på X-axeln varierar beroende på hur många olika mätvärden som finns representerade.



**Bild KF3.** Ål med blödningar runt anus, från provtagningspunkt Barsebäck. Bakterien *Vibrio anguillarum* serotyp 2 isolerades från blödningen. Foto: Ludvig Orsén, SVA

## DISKUSSION

Provtagningen för 2022 drabbades av en flygstrejk som var under sommaren. Detta innebar att vissa inskick pausades samt att inskick blev försenade i ett försök att hålla nere transportkostnaderna. På grund av förseningarna uteblev första inskicket från Motala ström, således bestämdes de att andra inskicket skulle vara på 30 ålar för att eliminera risken för utebliven ål ifall man hade senarelagt ett extra inskick från Motala ström. Från Vombverket inkom endast sex ålar i år, orsaken var en tidig uppstigning av ål inom ett snävt tidsfönster. Från provtagningspunkt Fjällbacka inkom fryst ål. SLU hade tyvärr missat att skicka in färsk ål till oss vid provtagningsstillfället. Ålen som var frusen var från samma tillfälle, dock endast 25 till antalet i stället för 30. I ett försök att uppfylla önskad årlig kvot om 300 ålar har överskott från olika inskick använts till årets provtagning.

### Simblåsemask

Simblåsemask var vanligt förekommande både på individnivå och geografiskt sett. Även om flera av de större ålarna var oinfekterade så fanns det ett samband mellan både längd och infektionsstatus samt längd och antal parasiter hos infekterade individer. De minsta ålarna, där simblåsemask inte undersökts, har inte räknats med. Minimilängden för obduktion ökades under 2022 från 12 till 18 cm på grund av att mindre ålar 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. Eftersom ål av den storleken inte födosökt någon längre tid bedömdes dessutom sannolikheten för infektion med *A. crassus* som relativt låg. Dock observerades en simblåsemask hos en ål som sönderdelades för virusodling. Större simblåsemaskar är lätta att upptäcka hos små juvenila ålar, då hela bukhålan spänns ut, men risken finns att enstaka små ålar infekterade med ännu extremt små *A. crassus*, missas när inte simblåsan kan undersökas.

Simblåsemasken är ursprungligen en parasit hos japansk ål (*Anguilla japonica*), och dök upp i europeisk ål på 1980-talet. Första gången parasiten påvisades i Sverige var 1987 (Lönqvist, 2001). 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. Det finns en misstanke om att simblåsemasken påverkar ålens förmåga att återvända till lekstråden i Sargassohavet, då försök visar på ökad syreförbrukning, lägre simhastighet och minskad uthållighet (Palstra et al., 2007). Exakt 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

Prover tagna 2022 visade ingen förekomst av virus som går att odla med ordinarie cellkulturer, vilket överensstämmer med resultaten från 2018 - 2021. 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 hälsoövervakningen av vildål inleddes. 2020 förekom ålherpes i Motala ström och Dalälven. Viruset har tidigare påvisats i Mälaren, Hjälmaren och Bolmen i samband med åldödlighet, senast under den varma sommaren 2018. Under 2022 har ålherpesvirus även påträffats i Vänern (se s 81). Detta visar att infektionen är geografiskt spridd i Sverige.

Eftersom proverna är analyserade i form av pooler innehållande 2 - 3 individer går det inte säkert att uttala sig om prevalensen på individnivå. 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. Dock kan noteras att ålen i provtagningspunkter där samtliga pooler var positiva hade en längd av minst 25 cm. Detta mönster stämmer med provtagningarna 2020 och 2021 och indikerar att smittspridning sker i svenska vatten.

Ålherpesvirus kan orsaka allvarlig sjukdom och dödlighet hos ål (van Beurden et al, 2012). Flera fall där hög virusförekomst påvisats i samband med åldöd i svenska vatten, till exempel ålen från Vänern (s. 93) samt 2018 i Bolmen och Hjälmaren. En hög virusförekomst 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), och antropogen aktivitet i form av 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 så länge ålen inte visar tecken på sjukdom (HVFMS 2021:7). 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, samt att man avstår från att flytta fisk där resultaten visar förekomst av ålherpes.

## SLUTSATS

Resultaten från 2022 års provtagningar visar på en generellt frisk population. Förekomst av ålherpesvirus kan dock 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. Det är också viktigt att undersöka förekomst av ålherpes när död ål hittas. 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, Eds: 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* 40(11): 1695-1706. 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.



Palstra, A.P., Heppener, D.F.M., van Ginneken, V.T.J., Székely, C., van den Thillart, G.E.E.J.M. (2007). Swimming performance of silver eels is severely impaired by the swim-bladder parasite *Anguillicola crassus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 352: 244-256

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

## Akutmedel

Akutmedel användes för undersökning av två döda ålar under 2022. Båda ålarna rapporterades in på <https://rapporteratfisk.sva.se>.

### Fall 1. Död ål upphittad vid Olsnäs, Tjörn

Rapport om en liten (ca 30 cm) död ål upphittad på botten vid strandkanten i Olsnäs på Tjörn inkom den 21 april. Kontakt med upphittaren hade redan upprättats i samband med en annan ål som rapporterades en månad tidigare. Bilder från fyndplatsen visade att ålen sannolikt inte var nydöd, men den stoppades i frys och skickades in när transportmaterial erhöles. Ålen inkom till SVA 3 maj.

Obduktionen visade att ålen var stadd i förruttelse. Ögonen var grumliga och gälarna sönderfallande. Huden runt analfenan samt analfenan i sig var fläckvis rodnad (Bild KF4). Levern var gul och mjälten något förstörd. Simblåsan var fin utan förekomst av simblåsemask. Provtagning för ålherpesvirus (AngHV-1) gjordes.

Dödsorsaken kunde inte fastställas. Undersökningen för ålherpesvirus var negativ. Det kan inte uteslutas att någon annan infektion orsakat ålens död, men ytterligare analyser (bakteriologisk eller virologisk odling) kunde inte genomföras på grund av att ålen var stadd i förruttelse.



**Bild KF4.** Ål upphittad vid Olsnäs, Tjörn. Foto: Ludvig Orsén, SVA

### Fall 2. Åldöd i Vänern, Kristinehamns kommun

Den 15 och den 20 augusti rapporterades fynd av 2–3 döda ålar i Vänern, i Kristinehamns kommun. Sannolikt rör det sig om samma ålar som rapporterats dubbelt. En ål hade sparats och upphittaren kontaktade kommunen samtidigt som ålen rapporterades på SVA:s rapporteringssida. Kommunen skickade till SVA efter kontakt och utsändning av packmaterial.

Ålen inkom till SVA den 24 augusti. Vid ankomst var ålen kraftigt förruttnad. Den mätte 81 cm och vägde 903 g. Huden var avskavd i partier och analområdet var förstört. Gälarna var kraftigt förruttnade och ögonen grumliga. Inre organ visade på kraftig förruttelse. Inga simblåsemaskar påvisades. Prov togs för analys av ålherpesvirus och trots förruttnelsen även för virusodling.

Virusodlingen var negativ. Ålherpesvirus påvisades och analysen visade att virusförekomsten i vävnaden var hög. Detta indikerar att ålen dött av ålherpes. Med största sannolikhet hade det varit ett mindre utbrott kopplat till höga vattentemperaturer, då ytterligare ålar påträffats döda tillsammans med den som skickades in.

## **Rapportportalen**

Fyra rapporter om döda ålar registrerades i rapportportalen under 2022, två från Tjörn och två från Vänern. De två rapporterna från Tjörn inkom i mars och april, och ålen som hittades i april är Fall 1 ovan. De två rapporterna från Vänern inkom med fem dagars mellanrum (15 och 20 augusti) från samma område och rörde med största sannolikhet samma utbrott. En av ålarna hade sparats och beskrivs i Fall 2 ovan.



## 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 2022 låg fokus på att fortsätta de undersökningar av gäddsarkom som påbörjades 2021. Vidare följde vi upp BKD-studien från 2020 (SVA, 2020) med en studie där prevalensen av BKD studerades i Siljan och Vättern.

### Gäddsarkom-projektet

#### SAMMANFATTNING

För 2021 togs beslutet att göra en riktad insats för att studera sarkom hos gäddor. Bakgrunden var att SVA under 2020 fick flera frågor om denna sjukdom från privatpersoner, samt att misstanke om sjukdomen vid 10 tillfällen anmälades genom vår rapportportal. Planen var att undersöka 50 gäddor under 2021 för att karakterisera infektionen bättre makroskopiskt, mikroskopiskt samt att identifiera det virus som misstänks vara orsak till sjukdomen. Antalet gäddor som inkom 2021 var relativt få (11 st) och beslut togs att fortsätta studien under 2022. Beslut togs också om att vara mer direkt involverade i provtagningen för att säkerställa att bra färskt material, dvs. ofryst, kunde säkras. Totalt kunde prover från 31 gäddor tas under 2022, varav 23 gäddor var ofrysta.

#### INTRODUKTION

Gäddsarkom eller lymfosarkom hos gäddor är en tumörsjukdom som innebär okontrollerad uppförökning av lymfocyter (en typ av vita blodkroppar) och som utgår från hudens mellanlager (dermis). Resultatet blir köttiga svulster i gäddornas hud och/eller munslimhinnor. I sena sjukdomsskeden finns uppgifter om att infiltration av lymfoida celler i inre organ, dvs. metastasering, kan förekomma (Quackenbush, 2016). Sjukdomen anses vara orsakad av ett retrovirus då retrovirusliknande partiklar har påvisats med elektronmikroskopi (Winqvist et al., 1973; Papas et al. 1976; Yamamoto et al., 1984). Flera retrovirus hos andra djurarter inklusive fisk (till exempel i gös, lax, abborre, och sebrafisk) är kända för att orsaka tumörsjukdomar (Bowser and Casey 1993; Quackenbush 2016). Gäddsarkomviruset har dock aldrig isolerats, eller karakteriserats genetiskt. Infektionsförsök i form av injektion av homogeniserad och filtrerad tumörvävnad har visat att sjukdomen är smittsam (Mulcahy & O'Leary, 1970), vilket talar för en viral orsak då virus är den absolut vanligaste orsaken till infektiöst inducerade tumörer. Spridning av gäddsarkom sker sannolikt frekvent i samband med lek. Tumörer växer till under den kalla årstiden och går i regression under sommaren baserat på studier som visar att man hittar få sarkomgäddor sommartid (Getchell et al. 1998). Den amerikanska maskalungen (*Esox masquinongy*) drabbas även den av en variant av gäddsarkom med en högre dödlighet än hos gädda (Sonstegard & Cheng, 1986). Frågan är därför om få gäddor med sarkom noteras sommar/höst på grund av att det läkt av eller på grund av att infekterade individer dött. Det är också oklart om de misstänkta sarkom-ärr som ibland noteras verkligen är orsakade av sarkom eller av någon annan hudskada (till exempel slagsmål kring lek eller predation).

Åsikterna om hur sarkomgäddor ska hanteras går isär. Givet att det är en smittsam sjukdom och lymfosarkom generellt är en mycket aggressiv tumörform kan man hävda att det är rätt att ta upp och avliva fisken. Då det finns en hög chans för överlevnad kan man å andra sidan hävda att det är rätt att släppa tillbaka fisken.

## Syfte

Målet var att använda befintliga undersöknings- och analysmetoder för att detaljerat karakterisera gäddsarkom och för att identifiera det virus som misstänks vara bakomliggande orsak till tumörsjukdomen. Tre specifika frågor att besvara definierades:

- 1) Hur smittsamt är gäddsarkom? Vi kommer inte kunna ange exakt hur smittsamt det är eftersom det då behövs en överföringsstudie. Däremot kan vi förhoppningsvis få svar på om ett virus alltid är orsak till sarkomen, dvs kan det finnas olika orsaker (smittsam/icke smittsam eller olika varianter av virus) och är det i så fall olika på kust och inland?
- 2) Är alla gäddsarkom verkligen samma tumörvariant och finns det i så fall olika malignitetsgrad?
- 3) Vid sarkom, förekommer det då även cellulära förändringar i inre organ?

Fråga 1 – 3 är intimt kopplade till varandra, då olika tumörtyper har olika ursprung ((olika virus/spontan etc), och tumörer av olika malignitetsgrad ger olika förutsättningar för överlevnad.

## MATERIAL OCH METODER

### Provinsamling

Samtliga 21 länsstyrelser kontaktades via mail inför säsongen 2021. Tre länsstyrelser (Stockholm, Kalmar och Östergötland) meddelade intresse och ett möte hölls för att diskutera möjligheterna avseende provinsamling kontaktades. För Kalmar län deltog även Linnéuniversitetet. Kontakt togs senare med Blekinge och Gävleborg avseende möjligheter att delta.

### Provtagningspunkter

I Kalmar län finns ett lekrområde där lymfosarkom förekommer på lekfisken, och Linnéuniversitetet som årligen genomför inventering och märkning kunde hjälpa till. SVA deltog vid inventeringen, och färskt material kunde säkras i fält. Ordinarie provfiskeplatser för gädda i Stockholms och Uppsala län utsågs också till fasta provtagningspunkter. Provtagningen koordinerades så att SVA hämtade upp gäddor med sarkom efter att provfisket avslutats och obduktion och provtagning skedde vid SVA:s fisklaboratorium. Länsstyrelserna i Blekinge och Östergötland hade inte möjligheten att delta under 2022.

Län som inte bedriver provfisker efter gädda, eller som inte normalt ser gäddsarkom i samband med sina provfisker hade möjlighet att skicka in gäddor om fall skulle dyka upp. Dessutom möjliggjordes sporadiska provtagningspunkter genom att rapportportalen övervakades för att snabbt identifiera fall som kunde bli aktuella för provtagning

### Fisk

Planen var att under 2022 ta in minst 39 gäddor med aktiva tumörer, så att det totala antalet gäddor i studien blev minst 50. Under 2022 provtogs även referensgäddor (utan sarkom) och referensprover togs från frisk hud på ryggen på gäddor med sarkom.

### Obduktion och provuttag

Vid obduktionen bedömdes/noterades somatiska data som kön, längd, och hos en del individer vikt. Dessutom noterades tumörstorlek, tumörutseende, antal tumörer, placering av tumörer externt och internt, eventuella andra avvikelser. Makroskopiskt bedömdes också hudtumörernas invasivitet genom att skära igenom dem ner i muskulaturen. Fotodokumentation genomfördes för

senare dubbel bedömning av fallen. Alla gäddor obducerades för att identifiera synliga interna metastaser.

Tumörvävnad togs från en tumör per individ för fixering i formalin. Inre organ (mjälte, lever, njure) togs för formalinfixering när SVA obducerade färsk fisk. Under 2021 provtogs hud för histopatologi även från fryst fisk där provuttag inte gjorts innan frysning och insändning. Detta för att se hur pass väl tumörerna kunde bedömas från tidigare fruset material. Under 2022 togs ingen histologi från material som varit fruset.

Under obduktionen säkrades prover för PCR i RNAlater. Dessa prover förvarades sedan i -20°C tills de analyserades. Från individer med omfattande sarkom tillvaratogs även större mängder tumörvävnad för att försöka rena fram virus. Även denna vävnad frystes ner. Referensmaterial från frisk hud förvarades i formalin och/eller RNAlater för senare analys.

## **Laboratorieanalyser**

### ***Histopatologi för bedömning av malignitetsgrad***

Rutinmässig preparering med paraffinbäddning, snittning och färgning med Hematoxylin & Eosin (HE) genomfördes på det formalinfixerade materialet för histopatologisk bedömning. Snitten undersöktes i ljusmikroskop vid 40 - 1000 x förstoring. Vid den histopatologiska bedömningen noterades celltyp (tumörtyp, till exempel sarkom, fibrom), bedömning av mitosfrekvens (celldelningsfrekvens), pleomorfism (cellpopulationens struktur, bland annat frekvens av olikhet i storlek på celler och kärnor), förekomst av inflammation, vävnadsdöd och kärlinväxt samt hur invasiv tumören var mot närliggande vävnad. Sammantaget ger detta en malignitetsgrad för tumören.

### ***Genetisk karaktärisering av malignitetsgrad***

Malignitetsgraden i tumörvävnad bedömdes även med en PCR för Ki-67. Ki-67 är ett protein som ofta används för att undersöka tumörers proliferaion då Ki-67 enbart uttrycks i snabbt delande celler. Vanligen färgas tumörvävnad in med en Ki-67-antikropp, men eftersom det inte finns några Ki-67 antikroppar validerade för fisk utvecklade SVA i stället en PCR-analys för att identifiera genutryck för proteinet, det vill säga hur mycket KI-67 som tillverkas. Det finns i litteraturen goda bevis för att mängden Ki-67 i vävnaden korrelerar väl med uttrycket på gen-nivå (Prihantono et al., 2017).

Genom att studera DNA direkt kan man inte säga något om hur mycket en gen uttrycks - mängden DNA förändras inte när en gen aktiveras och är således konstant. När en gen aktiveras skapas RNA som sedan används för att skapa proteiner. Genom att återskapa DNA (så kallat coding DNA eller cDNA) från detta RNA kan man kvantifiera hur mycket av en gen som uttrycks för stunden, vilket ofta korrelerar med mängden protein. För KI-67-analysen isolerades RNA från tumörvävnad och cDNA genererades. Från cDNA:t kvantifierades uttrycket av Ki-67 jämfört med medelvärdet av referenshud från flera individer.

### ***Analys för identifiering och isolering av Gäddsarkomvirus***

Karakterisering av virusets arvs massa

Då det virus som misstänks orsaka sarkom i gädda är ett RNA-virus (retrovirus) finns möjligheten att metoder uppsatta för andra retrovirus även fungerar för gädda, då alla kända retrovirus är nära besläktade. Speciellt en publicerad metod (Burmeister et al., 2001) är av intresse då den visat sig känna igen retrovirus som infekterar flera olika sorters värdjur, till exempel får, apa, mus, fågel

och häst. Med denna PCR amplifieras fragment av olika storlekar, från 1 200 till 5 000 baspar (bp), beroende på typ av retrovirus. Metoden är inte testad på fisk tidigare, och det var därför oklart om den kan identifiera retrovirus från fisk. För att utvärdera om denna metod fungerar på gäddsarkom renades RNA fram från tumörer och cDNA genererades. Därefter analyserades cDNA för förekomsten av retrovirus med primerparen från Burmeister et al. (2001). När virus-RNA i form av cDNA isolerats behöver det sekvenseras för att arvsmassan ska kunna karakteriseras. Eftersom gäddsarkomvirusets genomiska sekvens är okänd finns inga specifika primers och därmed kunde ingen sekvensdata genereras med hjälp av sådana. De primers som används för amplifiering av genfragmenten (Burmeister et al. (2001) kan dock inte användas för sekvensering då de inte uppfyller de tekniska specifikationerna för sekvenseringsmetoden. Därför klonades individuella fragment in i en sekvenseringsvektor (med hjälp av så kallad TOPO-kloning) för sekvensering. Vektorn fungerar så att den innehåller primerbindande regioner som gör att sekvensering kan påbörjas utan att man känner till sekvensen man vill generera data för. Efter kloning verifierades insättningen av cDNA i vektorn med så kallad restriktionsklippning innan det amplifierade DNA-fragmentet skickades för sekvensering.

#### Isolering av retroviruspartiklar

Större mängder tumörvävnad homogeniserades för att med ultracentrifugering (centrifugering vid 15 000 x g) eller fällning med polyetylglycol (PEG) pelletera och isolera virus. Potentiellt pelletat virus analyserades med small angle x-ray scattering (SAXS) för att sedan sekvenseras innan nya primers specifika för gäddsarkomvirus designades.

En Dot-Blot utvecklades också för att i tumörvävnad identifiera dubbelsträngat RNA (dsRNA). dsRNA är ett intermediat som bildas under RNA-virusets livscykel och som är främmande för värdcellen. Det finns alltså inget naturligt förekommande dsRNA i gäddvävnad. Om det finns en aktiv replikation av ett RNA-virus i vävnaden borde man alltså kunna detektera dsRNA.

Tumörvävnad från ett flertal tumörer per individ homogeniserades, varefter totalt RNA isolerades med hjälp av Trizol. Det rena RNA:t applicerades sedan på ett nitrocellulosamembran och dsRNA detekterades med antikroppen J2 som är specifik för dsRNA. För att underlätta senare sekvensering av proverna utvärderades även ett enzym som specifikt klipper sönder enkelsträngat RNA (ssRNA) så att provet som senare sekvenseras enbart innehåller dsRNA (viralt RNA). Liknande metoder har använts med framgång tidigare för analyser av dsRNA (Zangger et al., 2013)

## RESULTAT

### Fisk

Sedan tidigare (december 2020 – december 2021) fanns morfologiska data och vävnad från 11 gäddor. Under 2022 samlades det in 28 gäddor med sarkom eller misstänkta sarkomärr/sår under avläkning. Av dessa provtogs nio gäddor i fält (Hammarglo, Kalmar). Från Stockholms skärgård kom åtta färska gäddor och från Uppsala tre färska gäddor. Länsstyrelsen i Gävleborg levererade åtta gäddor som var frysta. I tillägg provtogs tre gäddor utan symptom (referensmaterial) i fält i Kalmar. Totalt har därmed 43 gäddor provtagits inom gäddsarkomprojektet. Ytterligare en gädda med misstänkt herpesvirusinfektion (EshV-1) provtogs i Hammarglo (se s. 110). De makroskopiska bedömningarna nedan är en kombination av vad som noterats vid provtagning och senare undersökning av foton. En sammanställning av fynden vid provtagning finns i Tabell SF1.

Könsfördelningen var 27 hanar och 12 honor. För fyra fiskar saknas anteckning om kön. Vikt fanns noterat för 30 individer och den varierade från 583 till 3 700 g med en medianvikt på 1 314 g. Hanarna vägde i snitt 1 150 g (583 – 2 150 g, n=15) och honorna 1 921 g (1 180 - 3 157 g, n=11).

Skillnaden var signifikant,  $p < 0.01$ , Wilcoxon rangsummetest. Individerna av okänt kön vägde i snitt 1 090 g (627 - 3 700 g,  $n=4$ ). Längd fanns noterat för 42 individer. Även längden skiljde mellan könen, hanarna var i snitt 54 cm (44 - 68 cm,  $n=27$ ) långa och honorna var i snitt 64 cm (55 - 80 cm,  $n=11$ ) långa,  $p < 0.001$ , Wilcoxon rangsummetest. Individerna av okänt kön var i snitt 57.5 cm (45 cm - 78 cm,  $n=4$ ) långa. Fultonfaktorn (konditionsfaktorn) varierade mellan 0.47 och 0.88, med ett snitt på 0.72. Hanarna hade ett snitt på 0.71 (0.57 - 0.88,  $n=15$ ) och honorna hade ett snitt på 0.72 (0.57 - 0.83,  $n=11$ ). Fiskarna av okänt kön hade ett snitt på 0.70 (0.47 - 0.78,  $n=4$ ). Honorna var alltså större än hanarna, men det var ingen skillnad i kondition mellan könen.

Ingen gädda som provtogs under 2022 hade så omfattande förekomst av lymfosarkom som den gädda som skickades från Öland i februari 2021 (Bild SF1, fisk 234). Utseendet på sarkomen varierade från enstaka små och plana till större svulstiga eller multipla och svulstiga (Bild SF1). Samtliga sarkom hade en sårig yta, dvs. de hade brutit igenom hudens yttersta lager (epidermis), och ytan kunde vara allt från ljus till blodig eller nekrotisk. Gulfärgning var vanligt förekommande. Hos ett par gäddor såg tumörerna ut att sitta i gamla mekaniska sår (Bild SF1, fisk 913 och 1480). Några gäddor hade ärrvävnad som skulle kunna härröra från avläkta sarkom. En gädda från Stockholms skärgård hade djupa inflammerade sår vilket väckte misstanke om att någon skurit bort tumörvävnad (Bild SF1, fisk 1925). Tumörernas konsistens var generellt mjuk, och vid genomskäring hade de en utsvällande, fuktig yta (Bild SF2, fisk 234). Vissa tumörer hade tydlig spridning ner i underhudsfett (hypodermis) och muskulatur, där en gulaktig missfärgning samt en strukturell förändring i vävnaden kunde ses (Bild SF2, fisk 234) medan andra tumörer såg ut att vara begränsade till mellan huden (dermis) (Bild SF2, fisk 913).

**Tabell SF1. Sammanställning av fynd vid provtagning av 42 gäddor inom sarkomprojektet, december 2020-2022. Tabellen fortsätter på nästa sida.**

Län, Lokal	År	ID	Kön	Längd (cm)	Vikt (g)	Antal tumörer	Utbredning vänster sida	Utbredning höger sida	Utseende	Utbredning på djupet
E, Rölängan	20	7531	Hona	59	1 180	0 (referens)	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant
H, Öland	21	234	Hona	80	3 157	(>) 5	En täcker nästan hela kroppen, en tumör ca 3 x 5 cm Ø på stjärtspolen	Tre tumörer, 2-4 x 2 cm längs sidolinjen	Gulröd köttig yta, mycket svulstig	I muskulaturen
H, Hammarglo	21	909	Hane	58	1 442	3	På främre delen av ryggfenan ner på fenbasen	En (ca 2 cm Ø?) bakom gällocket, en (ca 3.5 cm Ø?) vid sidolinjen ovanför bukfenan	Tumörerna på sidan bortskurna för fixering innan insändning; på ryggfenan platt, röd med gula kanter	Ytlig (ryggfena) De bortskurna saknas bild på
H, Hammarglo	21	910	Hona	58	1 373	2	Mitt under buken, ca 4 cm Ø? Bakkant av analfena, ca 1 cm Ø		Buktumören bortskuren för fixering innan insändning. På analfena rödgul glansig, ej svulstig	Bild saknas
H, Hammarglo	21	911	Hona	55	1 255	3	Tre st ca 1-3 cm Ø längs sidan från bukfenorna bakåt	Tre st ca 1-3 cm Ø längs sidan bakom bukfenorna	Gulrosa, ej svulstiga (vänster sida) Tumörer på höger sida bortskurna för fixering innan insändning	I dermis (vänster sida)
H, Hammarglo	21	912	Hona	60	1 690	1	-	Ca 3 cm Ø, vid sidolinjen precis bakom bukfenorna	Tumören bortskuren för fixering innan insändning	Bild saknas
H, Hammarglo	21	913	Hona	64	2 181	Ca 40	Multipla tumörer, ca 1-3 cm Ø, ett par avlånga i ärrvävnad, från gällockets bakre kant till stjärtfena	Multipla tumörer, ca 1-3 cm Ø från gällock till stjärtspole	Gulröda, köttiga Plana till svulstiga	Ev strax under dermis
H, Hammarglo	22	1476	Hane	56	-	1	Ca 0.5 cm Ø vid sidolinjen mellan buk- och analfena	-	Rödrosa, svulstig	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1477	Hane	52	-	3	Ca 1-2 cm Ø på buken mellan bröst- och bukfena	Ca 1-2 cm Ø på buken mellan bröst- och bukfena samt ca 3 x 1.5 cm vid mittlinjen ovanför bukfenan	Rödrosa med gula kanter, svulstiga (bukfenan), Rosaröd plan (sida)	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1478	Hane	68	-	1?	Ca 0.5 cm Ø mellan sidolinjen och analfenan	-	Ljusrosa med röda kanter, plan, mycket tidigt stadium?	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1479	Hane	51	-	0 (referens)	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant
H, Hammarglo	22	1480	Hane	54	-	4	En 2-3 cm Ø bakom bukfenan, en utgår från ögats bindhinna	Ca 0.5 cm Ø ovanför sidolinjen mellan bröst- och bukfena, en ca 0.5 cm Ø framför stjärtfenan	Rödrosa, gula kanter, glansig, lite svulstig (höger), gulröd, plan, pilformad (vänster), rosa, svulstig (öga)	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1481	Hane	51	-	1	Stort ärr mitt på sidan	Ca 0.5-1 cm Ø på ryggen strax framför ryggfenan	Vit, plan, ev bortskavd, huden runt buktar (liknar en stor finne)	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1482	Hane	49	-	1	-	Ca 1 x 2 cm ovanför sidolinjen mellan bröst- och bukfena	Rödrosa, något genomskinlig, glansig, plan yta, huden något insjunken runt	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1483	Hane	54	-	3	Ca 1 cm Ø vid bukfenans bas, två ca 2 cm Ø vid analfenan	-	Rödrosa med gula kanter, något buktande yta	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1484	Hane	52	-	1	Ca 1 cm Ø på buken mellan buk- och analfena, akut ytligt rivsår	Akuta ytliga rivsår	Röd, gula kanter, något svulstig	Bild saknas
H, Hammarglo	22	1485	Hane	49	-	0	Brett, långt ytligt ärr från rygg ner mot bukfena	Ca 1-2 cm Ø sår	Djupgående (i muskulatur), skarpa kanter	Ej relevant



Tabell SF1, fortsättning. Tabellen fortsätter även på nästa sida.

Län, Lokal	År	ID	Kön	Längd (cm)	Vikt (g)	Antal tumörer	Utbredning vänster sida	Utbredning höger sida	Utseende	Utbredning på djupet
H, Hammarglo	22	1486	Hane	54	-	0	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant
H, Hammarglo	22	1487	Hane	44	-	0	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant
AB, Askviken	21	2323	Hane	54	1 202	Ett flertal små	Bild saknas	Bild saknas	Bild saknas	Bild saknas
AB, Lännåkersviken	21	2324	Hane	55	1 113	1	Långa ärr efter mekanisk skada	Ca 4 cm Ø, mitt på kroppen	Rödgul, köttig, glansig yta, något svulstig	I muskulaturen
AB, Lännåkersviken	21	2325	Hona	67	2 160	1	Mitt på ryggen, ca 3 cm Ø		Rödgul, köttig yta, svulstig med insänkningar	I dermis
AB, Lännåkersviken	21	2326	Uppgift saknas	62	1 130	1	-	Ca 4 cm Ø under mittlinjen vid analfenan, ärr bakom bukfenan	Rödbrun, köttig, glansig yta, något svulstig	I dermis
AB, Lännåkersviken	21	2327	Uppgift saknas	78	3 700	1	Ca 10 cm Ø, mitt på sidan från sidolinjen ner på buken	-	Gul till mörkt röd, köttig, glansig och sårig yta	I muskulaturen
AB, Askviken	22	1923	Hane	54	1 125	17	Multipla små månformade, 1-2 cm långa	Multipla små månformade, 1-2 cm långa	Rödrosa svulstig yta	Bild saknas
AB, Askviken	22	1924	Hane	65	2 150	0	Långa ytliga ärr	Ett inflammerat yttligt sår vid stjärtfenan, multipla stora ytliga ärr	Rödvit, inflammerad och nekrotisk hud	Ej relevant
AB, Askviken	22	1925	Uppgift saknas	53	1 050	1?	2 st 4-5 cm långa sår (bortskurna sarkom)?	Ett liten svulst höger bröstfenbas, trasig rygghena med rivsår framför.	Blodig massa (svulst), sår djupgående (ner i muskulatur centralt) inflammerade	Bild saknas
AB, Lännåkersviken	22	1926	Hane	50	750	5	Ca 1-2 cm Ø, en bakom ögat på gällocket, tre vid sidolinjen, en bakom bukfenan	Yttligt stort ärr över sidolinjen	Rödgul, glansig något svulstig yta	Bild saknas
AB, Lännåkersviken	22	1927	Hane	61	2 005	2	-	Ca 5-6 cm Ø på höger sida av stjärtspolen upp över ryggen, liten begynnande tumör mitt på sidan	Blodig, svulstig och glänsande yta Den begynnande tumören gul i färgen.	I dermis
AB, Lännåkersviken	22	1928	Hane	52	1 150	4	En tumör, ca 2 cm Ø på buksidan, flera små riv-/bitsår	Ca 1-2 cm långa, en på ryggen, en bakom gällocket, en mot buksidan	Vitrosa till röda, svulstiga	Bild saknas
AB, Lännåkersviken	22	1929	Hona	63	1 727	3	Ett par sår, ett ca 2 cm långt ett mindre yttligt  Ett stort ärr ovanför analfenan	Ca 1-2 cm Ø, bakom gällocket under sidolinjen	Rödrosa, eventuellt lite epidermis kvar  Ett sår djupgående, inflammerat	Bild saknas
AB, Lännåkersviken	22	1930	Uppgift saknas	Uppgift saknas	Uppgift saknas	5	En ca 4-5 x 2 cm tumör mitt på sidan under sidolinjen, en ca 2 cm Ø under buken precis framför bukfenorna	Tre ca 2-5 x 2 cm stora tumörer på bakre delen av kroppen	Gulrosa, mycket svulstiga	I muskulaturen

**Tabell SF1, fortsättning**

Län, Lokal	År	ID	Kön	Längd (cm)	Vikt (g)	Antal tumörer	Utbredning vänster sida	Utbredning höger sida	Utseende	Utbredning på djupet
Uppsala	22	1964	Hane	44	583	1	Ca 1 cm Ø ovanför sidolinjen strax framför ryggen	.	Rödgul, något svulstig	Bild saknas
Uppsala	22	1965	Hane	46	718	1	Liten mekanisk skada	Ca 5 x 2 cm, över sidolinjen framför bukfenorna	Vitrosa med gula kanter, något svulstig	I muskulaturen
Uppsala	22	1966	-	45	627	4	-	2-5 cm Ø, samlade under sidolinjen i höjd med bukfenorna	Blodig, rödrosa glänsande yta, svulstiga	Bild saknas
X, Siviksfjärden	22	1568	Hane	59	1 445	2	-	6-7 cm Ø, från sidolinjen ner till buken bakom bukfenor, ca 2 cm vid analfenans bas	Gulrosa, insjunken under hudytans plan och nekrotisk i bakkant Gulröd glansig (lilla)	I dermis
X, Norbergfjärden	22	1677	Hane	56	998	1	-	Ca 10 cm Ø utgående från huden under gälloket	Rosaröd, något gulaktig, mycket svulstig	I dermis
X, Norbergfjärden	22	1678	Hane	58	1 219	1	Ca 2 cm Ø mitt mellan ögat och gällockets bakre kant	-	Rosaröd, något gulaktig, svulstig	I dermis
X, Njutångersfjärden	22	1679	Hane	58	1 474	4	Ca 2 cm Ø bakom bukfenan, ca 4 cm Ø vid analfenan samt på stjärtspolen	Ca 3 cm Ø mitt under buken	Tre med tydligt nekrotisk vävnad, en i plan med huden, övriga något buktande. Tumören på stjärtspolen mörkt brunröd och svulstig	Underliggande vävnad påverkad vid tumören på stjärtspolen, spridning eller inflammation?
X, Fäskärsfjärden	22	1680	Hona	65	1 969	1	Ca 3 cm Ø mitt på sidan	-	Brunröd, svulstig	I dermis
X, Grimsöbotten	22	1681	Hona	64	1 921	1	Ca 4 cm Ø mitt på sidan mellan bröst- och bukfenor	-	Rosaröd, glansig, svulstig	I muskulaturen
X, Grimsöbotten	22	1682	Hane	53	942	2	Ca 2 cm Ø och 3 x 4 tätt, ovanför sidolinjen vid bukfenorna	Ett flertal djupa, akuta rivsår	Brungul, något svulstig	I dermis
X, Björksundsfjärden	22	1683	Hona	70	2 800	1	Ca 3x5 cm	-	Bild saknas	Bild saknas

Län: E=Östergötland, H=Kalmar, AB=Stockholm, X=Gävleborg. Rosa rader markerar referensgäddor, dvs. friska gäddor. En referensgädda inkom i december 2020, innan projektet hunnit påbörjas, därför finns fyra referensgäddor i tabellen.



**Bild SF1.** Gäddor med olika varianter/stadier av lymfosarkom – från enstaka små till enstaka stora eller multipla små till medelstora, plana, insjunkna eller svulstiga. **234:** mycket omfattande/ avancerat stadium; **1480:** misstänkt tumörvävnad i ögats bindhinna; **1481** med misstänkt ärrvävnad från tumör på vänster sida och en liten tumör på ryggen på höger sida; **913:** långsträckta tumörer; **1568:** stor, något urgröpt tumör; **1677:** massiv tumör utstickande bakom gällocket.



**Bild SF2.**

**Norbergssfjärden 1677:** närbild på lyft gällock visar att tumören sitter i huden inne i gälhålan;  
**Hammarglo 909:** prov utskuret för fixering innan inskick, jämförs med **Askviken 1925:** inflammerat sår med väldefinierade kanter.  
**Öland 234:** exempel på tumör som går djupt ner i muskulaturen, den prickade linjen anger tumörens makroskopiskt synbara utbredning;  
**Hammarglo 913:** exempel på tumör där inget övergrepp på underhud och muskulatur kan ses makroskopiskt.



### **Histopatologi för bedömning av malignitetsgrad**

Prover hade inte tagits för formalinfixering innan frysning av gäddorna från Gävleborg och därför genomfördes inte någon histopatologi på dessa tumörer. Detta då tumörer från de fiskar som frusits utan föregående provuttag under 2021 (Öland och Stockholms skärgård) inte kunnat bedömas fullt ut, då frysskador på cellerna förstört mycket av strukturen. Samtliga fixerade tumörer analyserades mikroskopiskt och resultaten från både 2021 och 2022 sammanställs i Tabell SF2. Tumörutbredning i epidermis (överhuden) har inte tagits med i tabellen. I merparten av preparaten saknades epidermis på grund av tumörens sårbildande effekt. Där epidermis fanns kvar bitvis var lagret inte infiltrerat av tumörceller.

Två referensgäddor ingick i de histopatologiska undersökningarna och tre snitt innehöll ingen tumörvävnad utan enbart inflammatorisk vävnad. Hos två av dessa (fisk 1485 och 1924) hade sår, inte tumör, noterats som hudförändring. Den tredje (fisk 1925) hade en köttig svulst vid bröstfenbasen, vilket visade sig vara en kraftig inflammation och inte en tumör. I ett snitt (fisk 1478) noterades kraftig inflammation och enstaka potentiella tumörceller (eventuellt begynnande tumörbildning). I övrigt noterades alla steg från lindrig tumörinfiltration av övre mellan huden till omfattande invasion av underhud och muskulatur (ex fisk 234, Tabell SF2). Tumörens storlek var inte alltid relaterad till spridning i vävnaden. Till exempel hade fisk 1923 multipla små tumörer men spridning hade skett ner mellan muskelfibrerna, medan fisk 1927 hade en 6 cm stor tumör som var lokaliserad till underhuden. För de minsta tumörerna (max 1 cm Ø, n=6) var dock tumören i samtliga fall lokaliserad i underhuden. **Ingen tumör ≤3 cm Ø hade infiltrerat muskulaturen**, medan 6 av 11 tumörer som var >3 cm hade infiltrerat muskulaturen. För tio snitt som bedömdes histopatologiskt fanns makroskopiska bedömningar av tumörens utbredning i hud/underhud/muskulatur att tillgå. Hos fem av dessa fiskar hade spridning till muskulaturen noterats vid obduktion. Samtliga dessa hade muskelpåverkan (tumörinfiltration, inflammation och vävnadsdöd), vid den histopatologiska bedömningen. Hos fyra hade ingen spridning kunnat observeras vid makroskopisk vävnadsbedömning och hos en hade möjlig ytlig spridning i underhuden **noterats. Hos tre av fiskarna (inklusive den med ”möjlig spridning”) var tumören begränsad till mellan huden, medan ytlig infiltration av underhuden hade skett i en tumör och infiltration av underhuden ner mellan muskelfibrerna noterades i en tumör vid histopatologisk bedömning.** Inflammation, vävnadsdöd/nekroser och blödningar inne i tumörerna var vanligt förekommande, och inflammationen var ofta lokaliserad kring kärlen. Likaså fanns rikligt med kärl. Det är dock oklart om dessa kärl var nybildade av tumören (patologisk neovaskularisering) eller var redan befintliga kärl som hade omgärdats av tumörmassan. Mitosfrekvensen var generellt låg (Tabell SF2), och bara i en tumör noterades en hög förekomst av mitoser. Celler i mitos kan ses i Bild SF3E. Variationen i cellernas utseende (anisocytos=variation i cellstorlek och form samt anisokaryos=variation i cellkärnans storlek och utseende) var högre än mitosfrekvensen, vanligen måttlig till kraftig (Tabell SF2, Bild SF3). Förekomsten av kärnvakuoler och klustring av celler var generellt låg (Tabell SF2).

Elektronmikroskopi för att påvisa potentiella viruspartiklar har inte genomförts, men ett exempel på sådana partiklar kan ses i Bild SF3F.

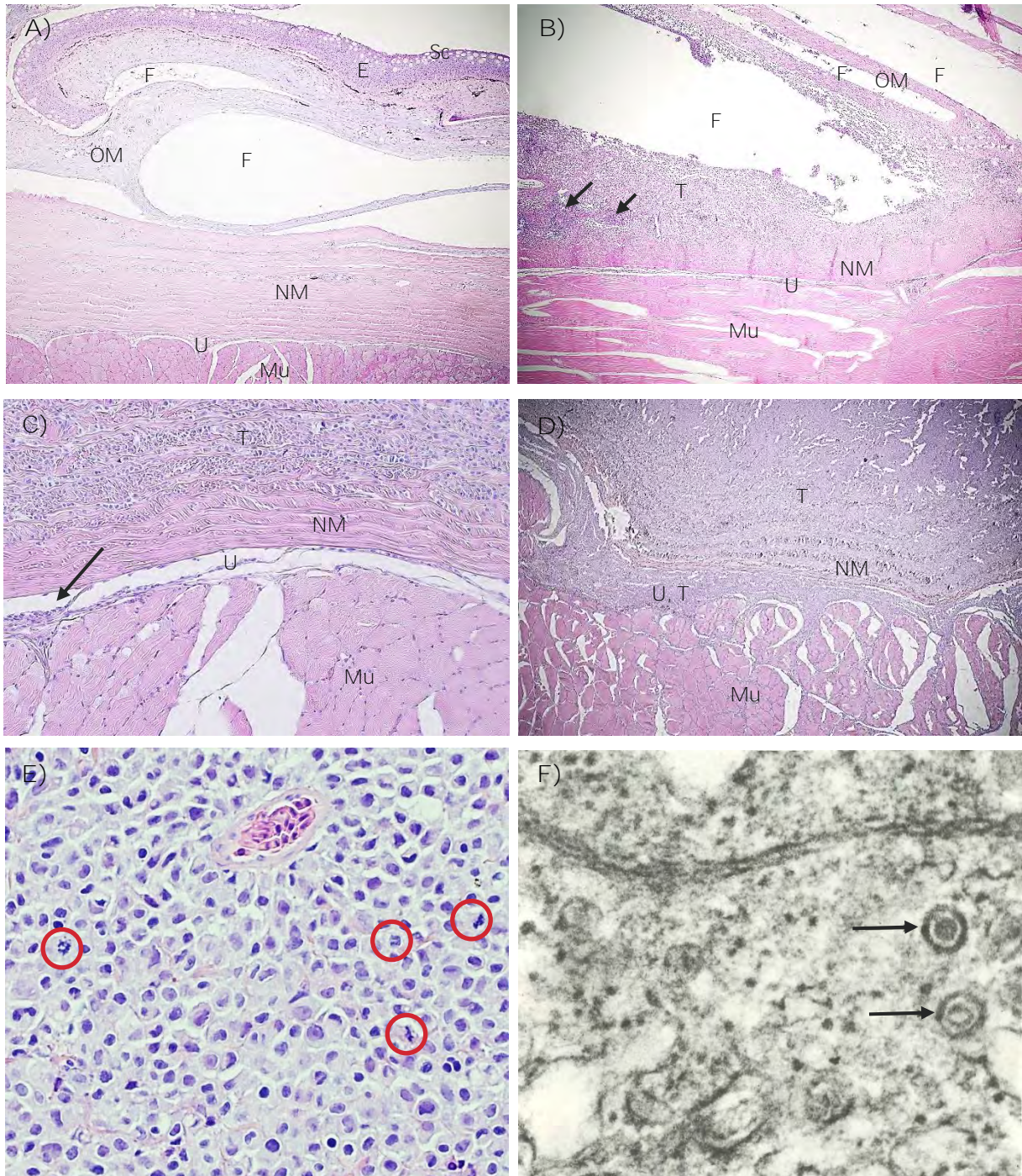
Inre organ (njure, hjärta, mjälte och lever) undersöktes hos 24 individer, varav fyra var referensgäddor. Inga patologiska förändringar påvisades, dvs. ingen metastasering kunde påvisas.

**Tabell SF2. Sammanställning av histologiska undersökningar av tumörvävnad provtagen inom gäddsarkomprojektet december 2020 - 2022.**

Lokal	År	ID	Utbredning			Inflammation				Nekros/blödning		Vaskularisering		Pleomorfism			
			Övre dermis	Undre dermis	Hypodermis/muskel	Tumör	Epidermis	Dermis	Hypodermis/muskel	Tumör	Tumör	Mitosfrekvens	Anisokaryos	Anisocytos	Kärnvakuoler	Klustring	
Rörlången	20	7531	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Öland <sup>1</sup>	21	234	1	1	3	0	-	X	X	X	1	-	X	X	X	X	X
Hammarglo	21	909	1	1	3	3	1	?	0	1	2	2	2	2	1	1	1
Hammarglo	21	910	1	1	2	3	1-2	2-3	0	2	2	2	2	2	1	1	1
Hammarglo	21	911	1	0	0	1	1	0	0	2	1	1	3	2	1	1	1
Hammarglo	21	912	1	1	2	3	-	2	3	2	1	1	2	2	1	1	1
Hammarglo	21	913	1	1	?	1	3	?	?	3	3	1	2	2	0	1	1
Hammarglo	22	1476	1	1	0	4	-	2	0	(2)	3	1	3	3	1	1	1
Hammarglo	22	1477	1	1	1	1	1	0	0	3	2	3	3	2	2	1	1
Hammarglo	22	1478	(1)	0	0	(4)	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hammarglo	22	1479	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	0	0	0	0	0	0
Hammarglo	22	1480	1	1	(1)	4	0	4	2	2	0	X	X	X	X	X	X
Hammarglo	22	1481	1	0	0	4	0	0	0	0	1	1	2	2	1	1	1
Hammarglo	22	1482	1	1	0	3	0	2-3	0	2	1	1	2	2	1	1	1
Hammarglo	22	1483	1	2	0	3	0	2-4	0	0	2	1	2	2	1	1	1
Hammarglo	22	1484	1	3	0	2	-	2	0	3	3	1	2	2	1	1	1
Hammarglo	22	1485	0	0	0	-	1	3	4	1	0	0	0	0	0	0	0
Askviken <sup>1</sup>	21	2323	1	0	0	1	-	1	0	0*	1	-	X	X	X	X	X
Lännåkersviken <sup>1</sup>	21	2324	1	1	3	1	-	-	-	4*	2	-	X	X	X	X	X
Lännåkersviken <sup>1</sup>	21	2325	1	1	1	1	-	0	0	4*	1	-	X	X	X	X	X
Lännåkersviken <sup>1</sup>	21	2326	1	0	0	0	-	1	0	1*	1	-	X	X	X	X	X
Lännåkersviken <sup>1</sup>	21	2327	1	1	3	0	-	2	0	2*	1	-	X	X	X	X	X
Askviken	22	1923	1	1	2	0	0	0	0	(1)	1	1	3	3	1	3	3
Askviken	22	1924	0	0	0	-	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Askviken	22	1925	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Lännåkersviken	22	1926	1	1	1	0	0	0	0	1	2	1	3	3	1	3	3
Lännåkersviken	22	1927	1	1	0	2	0	2	0	2	2	1	2	2	0	1	1
Lännåkersviken	22	1928	1	1	1	0	0	0	0	1	2	1	2	2	0	3	3
Lännåkersviken	22	1929	1	1	0	0	0	0	0	1	2	1	2	2	1	2	2
Lännåkersviken	22	1930	1	1	3	0	0	0	0	1	1	1	2	2	1	1	1
Uppsala	22	1964	1	(1)	0	2*	-	2*	0	1	0	X	X	X	X	X	X
Uppsala	22	1965	1	1	3	0	-	0	0	1	1	1	2	2	1	1	1
Uppsala	22	1966	1	1	2	0	-	0	0	1	1	1	2	2	1	1	1

<sup>1</sup> Histologi på fruset material; Dermis=mellanhud, hypodermis=underhud (fettväv), nekros=vävnadsdöd, vaskularisering=kärlbildning, pleomorfism= grad av ojämnhet i cellpopulationen, mitosfrekvens= celldelningsgrad, anisokaryos=oregelbundenhet i cellkärnornas storlek och utseende, anisocytos= oregelbundenhet i cellernas storlek och form, kärnvakuolisering=bildning av vakuoler/bubblor i kärnan, klustring=sammanklumpning av celler. Graderingar: Utbredning i övre och undre dermis: 0=nej/ingen tumör, 1=ja; Utbredning i hypodermis (underhud) och muskel: 0=nej, 1=ja, i hypodermis, 2=ja, i fettvävnaden ner mellan muskelbuntar, 3=ja, även muskelvävnaden påverkad; Inflammation, vaskularisering, pleomorfism: 0=ingen, 1=lindrig, 2=måttlig, 3=kraftig/hög, 4=mycket kraftig (för hypodermis/muskel även muskulatur inflammerad). Nekros/blödning: 0=ingen, 1=ja, 2=ja, mot ytan, 3=ja, omfattande mot ytan, 4=ja, massiv mot ytan. \*=svårbedömt, X=förekommer men grad kan inte bedömas, ( )=begränsande





**Bild SF3.** Histopatologiska snitt av hud och lymfosarkom hos gädda. **A)** normal hud, fjällen har försvunnit vid snittning och fjällfickorna vidgats. **B)** Tumör lokaliserad i mellan huden. Pilarna visar på områden med inflammation runt kärl i tumören. **C)** Begynnande infiltration av under huden (pil). **D)** Kraftig infiltration i under huden och ner mellan muskel-fibrerna, muskeln har börjat påverkas. **E)** Närbild av lymfosarkom. Flera mitoser kan ses (ex inringat). Cellerna har ett mycket varierat utseende i storlek, form och kärnor. Kärnor är ljusst till mörkt blålila och den omgivande cytoplasman ljust rosa-lila. Kraftigt rosa celler är röda blodkroppar (normala). **F)** EM-bild av retrovirus (pilar) i en sarkomcells cytoplasma. *Teckenförklaring:* E=epidermis/överhud, F=fjällficka, ÖM=mellanhudens övre lager, NM=mellanhudens undre lager. U=underhud, Bm=basalmembran, Mu= muskulatur, Sc=slemceller, T=tumör. **Bild A-E** är tagna vid 40–200 X förstoring. *Foto:* David Persson & Charlotte Axén, SVA. **Bild F)** är från Winqvist et al., 1973, 110 000 X förstoring.



### **Genuttryck för karakterisering av malignitetsgrad**

Totalt analyserades 65 prover från 38 individer. Graden av KI-67-uttryck varierade från 0.58 till 22.86 gånger medelvärdet för uttrycket av KI-67 i samtliga referensprover (Figur SF1). De tre individer som hade sårskador hade KI-värden på 1.5, 4.8 och 5.8. I flera fall fanns inte nog med tumörvävnad för att genomföra både histopatologi och Ki-67 analys av samma tumör. För nio tumörer var det dock möjligt (individerna 1481, 1482, 1484, 1485, 1924, 1925, 1927, 1964, 1965). I vissa fall korrelerade uttrycket av KI-67 relativt väl med de histologiska bedömningarna av pleomorfism (tumör från fisk 1482, 1484, 1925 och 1964), men för övriga tumörer var korrelationen dålig. Medelvärdet för KI-67 per individ plottades också mot storleken på individens största tumör samt graden av invasion i underhud och muskulatur (O – 3, se Tabell SF1) men inga samband kunde ses.

### **Genetiska analyser för isolering av Gäddsarkomvirus**

Optimering av PCR- och sekvenseringsmetodik

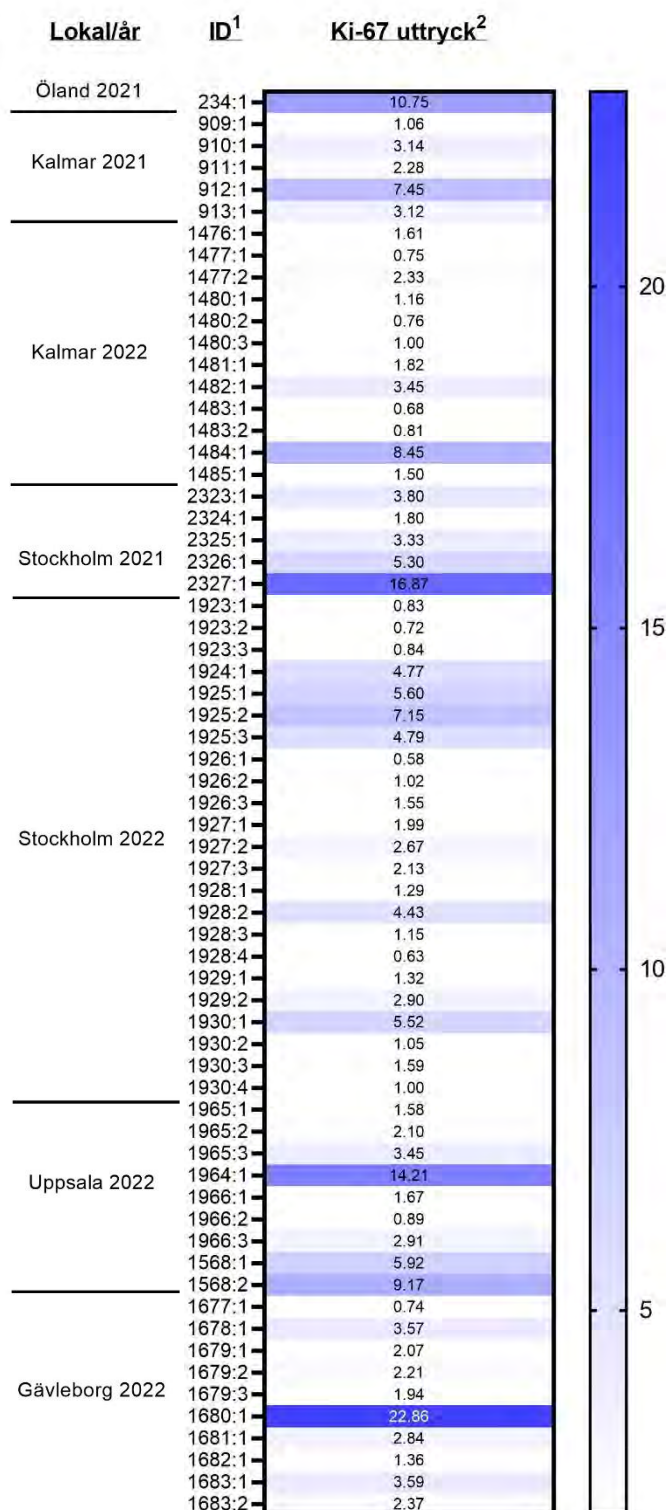
Då det inte finns någon etablerad PCR för att detektera viruset har mycket tid gått till att optimera redan etablerade PCR-metoder för andra virus. En första screening av flera tumörer med hjälp av primerparen från Burmeister et al. (2001) visade att amplifiering av cDNA skedde för en del men inte samtliga tumörer. Vidare amplifierades fragment av rätt storlek, men inte bara ett utan flera fragment inom en tumör (Figur SF2A). Det var först genom rening på agaros-gel möjligt att isolera de individuella fragmenten (Figur SF2B). Därför klonades de fyra fragmenten in i en sekvenseringsvektor och insättningen av cDNA-fragmentet i vektorn verifierades med hjälp av så kallad restriktionsklippning (Figur SF2C). Metoden fungerade väl och samtliga fragment kunde skickas för sekvensering. Tyvärr gav inte sekvenseringen något då de amplifierade sekvenserna inte gick att matcha med några kända retrovirus utan det som genererades var mest sekvenser med gädd-DNA och dessutom genererades olika sekvenser som var otillförlitliga.

Rening av retroviruspartiklar

Flera försök har gjorts för att rena fram viruspartiklar från tumörvävnad med ultracentrifugering eller fällning med polyetylenglycol (PEG). SAXS -analysen visade på partiklar av rätt storlek (i snitt 100–200 nm Ø) för att vara retrovirus (Figur SF3A). Tyvärr visade sekvensering av dessa prover att allt RNA var fragmenterat.

Dot-Blot-analysen gav liknande resultat. Det gick att rena fram dsRNA och signalen var starkare efter enzymbehandling (Fig SF3B), men även om metoden ser lovande ut så är dsRNA:t efter behandling fragmenterat och kan inte användas för sekvensering. En möjlighet är att i framtiden försöka sekvensera allt RNA och inte bara dsRNA. Detta innebär dock en mer komplicerad bioinformatisk analys.

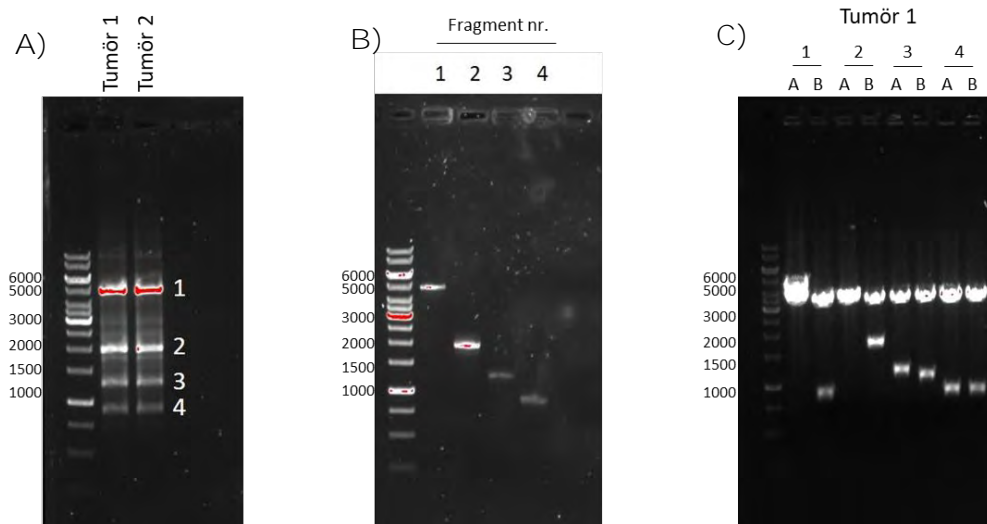
**Figur SF1.** Sammanställning av uttrycket av Ki-67 i tumörvävnad analyserad med qPCR.



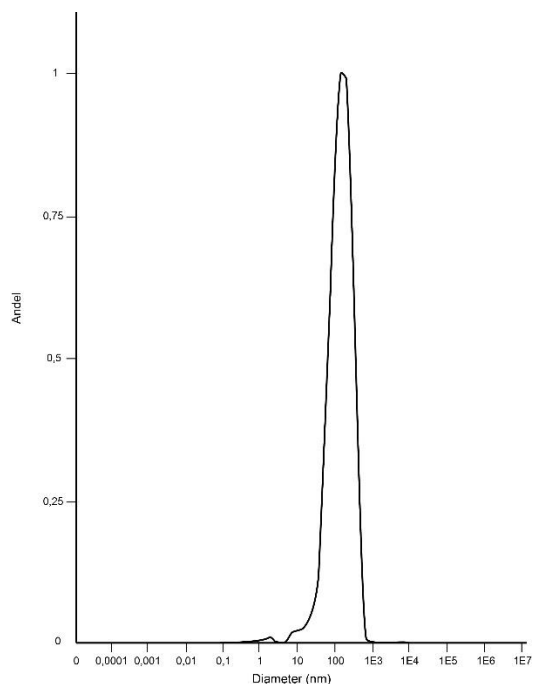
<sup>1</sup>ID anges som individnummer:tumörnummer. Individernas fångstplats och histopatologiska data finns i Tabell SF1.

<sup>2</sup>KI-67-uttryck anges som tumörens aktivitetsgrad i relation till medeluttrycket av KI-67 för samtliga referensprover, dvs siffran 1.61 motsvarar 1.61 gånger så hög aktivitet som hos referensproverna. Längst till höger ses färgskalan för aktivitetsgraden.

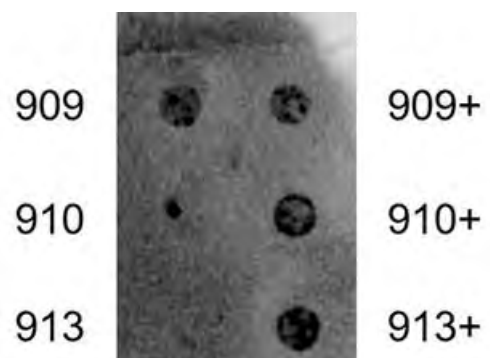
**Figur SF2.** Genetisk analys av gäddsarkom. I samtliga bilder ses längst till vänster en markör med fragment av känd storlek och skalan till vänster om bilderna visar storleken på dessa fragment (1 000 – 6 000 baspar). **A)** Exempel på amplifiering av potentiellt retrovirus-cDNA i tumörvävnad. Fyra fragment av olika storlek kan ses. **B)** Gel-rening av amplifierade retrovirus-fragment från tumör 1 i **A)**. **C)** Restriktionsklippningsanalys med EcoR1 efter TOPO-kloning. Det övre bandet på ca 5 000 baspar tillhör vektorn. Det nedre bandet tillhör det framrenade fragmentet. 1 – 4 motsvarar fragmenten i B) och A och B motsvarar olika kloner av fragmenten.



**Figur SF3. A)** SAXS-analys visade att partikelstorleken var 100 nm i diameter. **B)** Dot-Blot analys av renat RNA visualiserat med antikroppen J2. Till vänster visas renat RNA utan RNase-behandling (909 etc.) och till höger efter sönderklippning av ssRNA (909+ etc.).

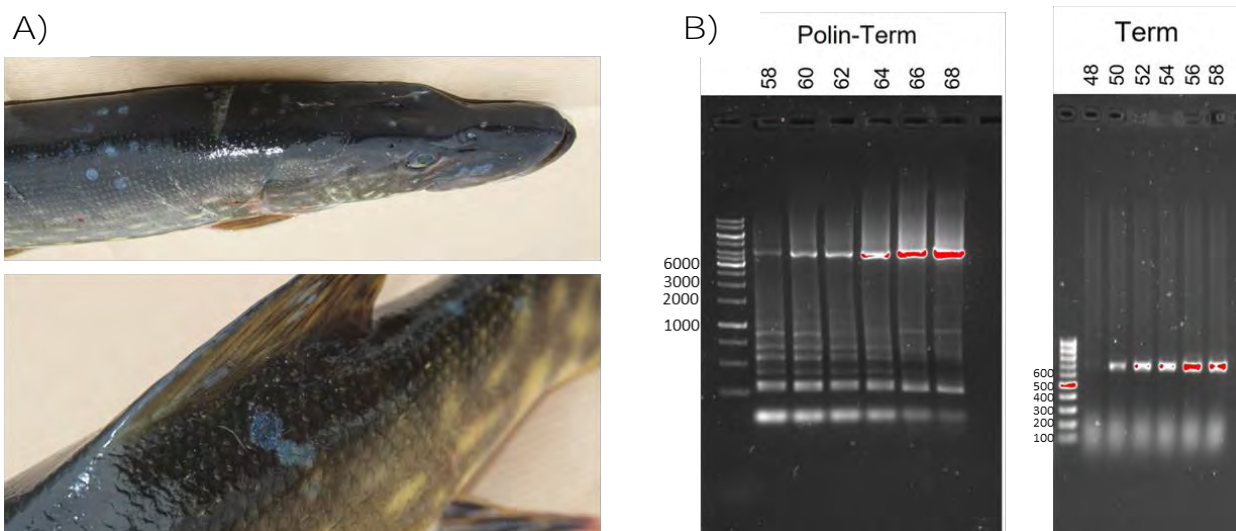


B)



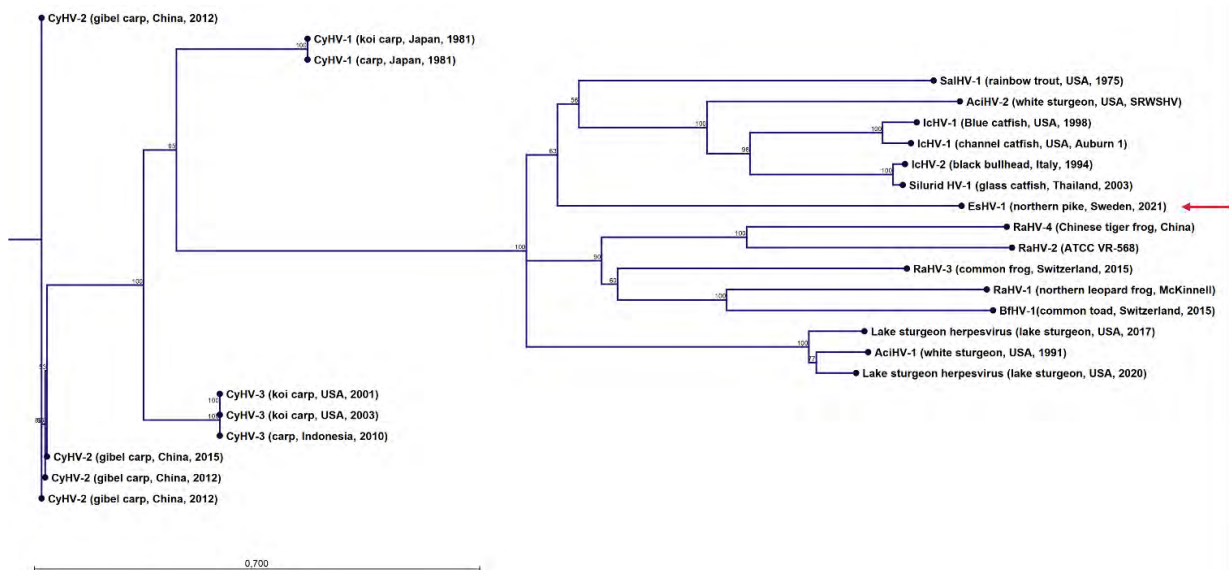
### Esocid herpesvirus 1 (EsHV-1)

Under provtagningen i Kalmar identifierades oväntat en gädda med blåa fläckar (Figur SF4A). Fläckarna är karakteristiska för infektion med gäddans herpesvirus (EsHV-1). Detta DNA-virus är välkänt men ovanligt, och har enligt vår kännedom aldrig tidigare påvisats i Sverige eller i Europa utanför Irland (Graham, et al. 2004; Freitas et al., 2016). Däremot har enstaka gäddor med blåa fläckar observerats under inventeringarna i Hammarglo (Petter Tibblin, LNU, *pers. komm.*). Denna gädda är därför väldigt intressant. Prover säkrades genom att hud fixerades i etanol och RNAlater för PCR och i glutaraldehyd för elektronmikroskopi. Vidare fixerades inre organ i formalin för histologisk bedömning. Väl i labbet isolerades små bitar från etanolfixerad hud och RNA isolerades för PCR analys enligt Freitas et. al. (2016). SVA lyckades amplifiera virus-DNA med hjälp av två (Polin-Term och Term) av de tre primerpar som anges i publikationen (Figur SF4B). För Polin-Term genererades dessutom ett flertal olika produkter vilket innebar att sekvensering var möjligt först efter gel-extraktion. Sangersekvensering av proverna visade 98% identitet med den sekvens som finns publicerad i GenBank (KX385272). Således är detta det första verifierade fallet av EsHV-1 i Sverige.

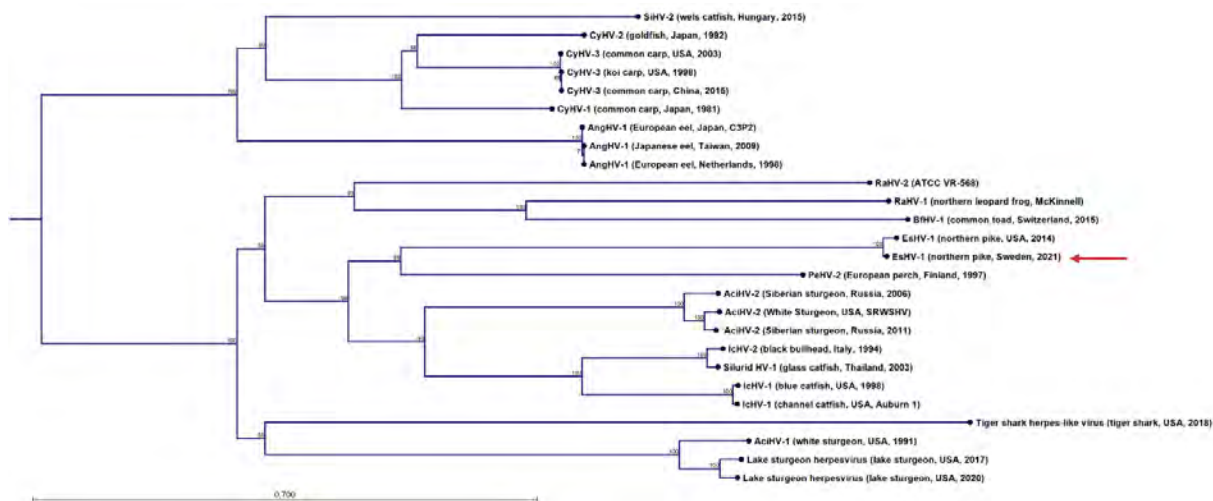


**Figur SF4.** Misstänkt infektion av EsHV-1 på gädda. **A)** Typiska blå fläckar på gädda. **B)** PCR-amplifiering av två olika DNA-fragment inom EsHV-1 genomet, Polin-Term och Term enligt Freitas et.al. (2016). Längst till vänster i bilderna ligger en markör med fragment av känd storlek och skalan till vänster om bilderna visar storleken (antal baspar) på dessa fragment. Siffrorna ovanför respektive fragment visar resultat vid olika temperaturer för inbindning av primers (°C).

Eftersom de publicerade sekvenserna för EsHV-1 är relativt korta (ca 5 000 baspar) genomfördes helgenomsekvensering av DNA isolerat från hud för att få fram längre, mer kompletta sekvenser. Herpesvirus har generellt sett genom på 125 000 – 240 000 baspar och vi har nu sekvensdata för ca 90 000 baspar från det svenska EsHV-1-viruset. Eftersom EsHV-1 inte ingick i den ursprungliga budgeten fanns inte ekonomiskt utrymme för att annotera sekvenserna, dvs identifiera samtliga gener som det sekvenserade DNA:t kodar för, utan vi har fokuserat på sekvenserna för kodning av två enzymer, helikas (Figur SF5) samt polymeras (Figur SF6). Dessa två enzymer används vanligen för fylogenetiska analyser då sekvenserna generellt sett är väl konserverade. Sekvensen för EsHV-1 helikaset liknar mest ett herpesvirus isolerat från regnbåge 1975 och polymeraset ett herpesvirus isolerat från abborre i Finland 1997. Den biologiska relevansen av dessa likheter går inte att utvärdera utan ska ses som deskriptiva avseende viruset och dess släktingar.



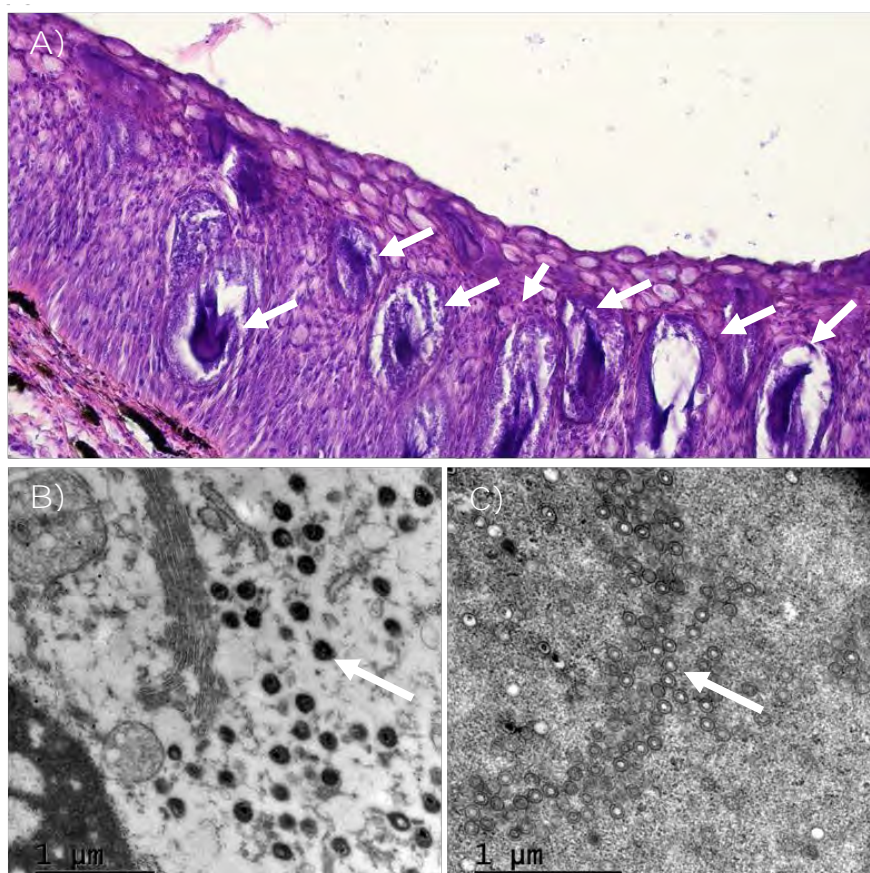
**Figur SF5.** Maximum likelihood phylogeny-jämförelse av sekvensen för EsHV-1 helikas med sekvensen för helikas från andra herpesvirus. AciHV (1, 2)=Acipenserid herpesvirus (störar), CyHV-1=Carp pox virus, CyHV-2=Goldfish hematopoietic necrosis herpesvirus, CyHV-3=Koiherpesvirus (KHV), IcHV (1, 2) Ictalurid herpesvirus (malar), SalHV-1 =Salmonid herpesvirus-1/Steelhead herpesvirus-1 (regnbåge), RaHV (1-4)=Ranid herpesvirus & BfHV-1=Bufonid herpesvirus-1 (groddjur).



**Figur SF6.** Maximum likelihood phylogeny jämförelse av sekvensen för EsHV-1 polymeras med sekvensen för polymeras från andra herpesvirus. AciHV (1, 2)=Acipenserid herpesvirus (störar), AngHV-1=Anguillid herpesvirus-1 (ål), CyHV-1=Carp pox virus, CyHV-2=Goldfish hematopoietic necrosis herpesvirus, CyHV-3=Koiherpesvirus (KHV), IcHV (1, 2) Ictalurid herpesvirus & SiHV-1=Silurid herpesvirus-1 (malar), PeHV-1=Percid herpesvirus-1 (abborre), RaHV (1-4)=Ranid herpesvirus & BfHV-1=Bufonid herpesvirus-1 (groddjur), SalHV-1 =Salmonid herpesvirus-



Utöver sekvensering analyserades inre organ samt hud histologiskt. Inre organ påvisade inga förändringar vilket indikerar att infektionen enbart är lokaliserad till hud. Tyvärr fixerades inget material från huden i formalin vilket innebär att etanolfixerat material fick användas. Fixering med etanol gör att vävnaden krymper och vissa förändringar kan vara svåra att bedöma. Det gick dock att se tydliga hypertrofierade celler, dvs. celler som har ökat i storlek, i överhuden (epidermis) (Bild SF4A). Detta fenomen uppstår vid vissa typer av virusinfektioner, till exempel en del herpesvirusinfektioner, då de infekterade cellerna ökar i storlek. I övrigt såg huden intakt ut men kunde inte bedömas fullständigt på grund av fixeringsmetoden. Glutaraldehydfixerat material snittades tunt och förbereddes för elektronmikroskopi (EM). Under EM-analysen identifierades två olika former av svarta partiklar vilka är synonymt med EsHV-1 infektion (Freitas et al., 2016) (Bild SF4B-C).



**Bild SF4.** Histologi och ultrastruktur-analys av EsHV-1-infekterad hud. **A)** H&E-färgat snitt från etanolfixerad hud. Infekterade celler är kraftigt förstörade (pilar). Foto: Charlotte Axén, SVA. **B-C)** Negative stain EM-bilder som visar förekomsten av viruspartiklar (pil) i hudvävnaden. Foto: Rudbeckslaboratoriet.

## DISKUSSION

De tre frågor som sattes upp för projektet kunde delvis besvaras. Vi har inte kunnat bedöma hur smittsamt gäddsarkom är (Fråga 1) utifrån tanken att vissa tumörer skulle kunna vara virusorsakade och vissa spontant uppkomna. Flera olika angreppsvinklar har prövats och gett delvis positiva resultat men i slutändan inte resulterat i att vi lyckats isolera och identifiera viruspartiklar eller virusets genetiska kod/arvs massa. Detta är ett måste för att kunna utveckla metodik för att enkelt kunna screena ett antal tumörer.



Vi gjorde flera mindre framsteg som skulle kunna hjälpa oss med framtida studier om vi får in bra vävnad. Speciellt lovande är möjligheten att välja ut tumörer för virusanalys baserat på förekomsten av dsRNA. Genom att uteslutande studera tumörer med en hög mängd dsRNA så ökar chanserna för att isolera viruspartiklar. En möjlig framtida metodik vore att först analysera tumörer för förekomsten av dsRNA för att välja ut tumörer som man analyserar med EM för att förhoppningsvis identifiera viruspartiklar visuellt. Från den vävnaden försöker man då isolera virus via PEG-fällning eller ultracentrifugering följt av sekvensering.

En möjlig förklaring till att vi inte lyckats isolera viruspartiklar kan vara att det i den vävnad vi undersökt inte funnits något replikerande virus. Retrovirus lägger sig i värdens arvsmassa och kan alltså gömma sig i stället för att direkt börja producera nya viruspartiklar. För att en tumör ska **kunna bildas måste virusets RNA/DNA integreras i värdens DNA, vilket leder till "fel" i värdens** genom och mutationer uppstår lätt när DNA sedan ska avkodas i olika processer. Detta kan ge upphov till tumörer. När tumören väl bildats behöver inte viruset replikeras för att tumören ska finnas kvar. Således måste man i ett sådant fall studera DNA i stället för RNA för att kunna hitta viruset vilket är mycket svårare rent tekniskt.

Att tumörerna hos ett par gäddor såg ut att växa ur ärr/uppkomna mekaniska sår kan indikera att skador i huden är en inkörsport, vilket därmed talar starkt för smittsamhet. Detta skulle kunna vara en orsak till att gäddsarkom verkar spridas frekvent i samband med lek, då gäddor är våldsamma mot varandra, vilket innebär att de inte bara kommer i närkontakt genom leken utan att många får skador där viruspartiklar kan få fäste.

Frågan om alla gäddsarkom är samma tumörvariant eller inte, och om de i så fall kan ha olika malignitetsgrad (Fråga 2) kan vi svara relativt väl på. Samtliga knölar som bedömts om gäddsarkom och som innehållit tumörceller har varit av typen lymfosarkom. Ur den aspekten är alltså alla gäddsarkom samma tumörvariant. Andra typer av tumörer, till exempel fibrosarkom, kan också utgå från huden och ge stora svulster, men dessa har en annan karaktär vad gäller växtsätt, färg och konsistens utöver att en annan celltyp kan identifieras vid histopatologisk undersökning. Vad gäller olika malignitet visar undersökningen på skillnader i invasivitet (makroskopisk bedömning, histopatologi) och proliferationshastighet (mitosfrekvens och genuttryck av KI-67) men inte något samband mellan tumörstorlek eller invasivitet och genuttryck av Ki-67. Detta kan innebära att det finns mer eller mindre aggressiva/invasiva varianter av gäddsarkom, men det kan också helt enkelt spegla tumörer som befinner sig i olika tillväxtfas och att sjukdomen befinner sig i tidiga eller avancerade stadier. Tumörer som vid undersökningen var begränsade till dermis skulle mycket väl ha kunnat sprida sig ner i underliggande vävnad om gäddan fått fortsätta leva. Exakt hur en hög proliferationshastighet påverkar sannolikheten att sarkomet sprids från en individ till en annan är svårt att svara på eftersom snabb tumörtillväxt inte nödvändigtvis betyder en hög förekomst av virus.

Olika malignitet skulle också kunna innebära olika sannolikhet för dödlighet eller avläkning. Att antalet tumörgäddor verkar minska i frekvens under sommaren kan bero på att vissa tumörer är mer aggressiva, och att en del gäddor då i likhet med maskalungen skulle dö av sjukdomen. Minskningen kan också bero på att virusets replikeringsenzymer (polymeras) minskar i aktivitet vid temperaturer över 20°C, och att fiskens immunförsvar får en chans att gripa in så att tumörerna kan börja läka av. Detta kräver dock att tumören är i en tidig fas där virusets aktivitet fortfarande krävs för att skapa mutationer som tumöromvandlar vita blodkroppar. Ärrbildningar tolkas ibland som att det är avläkta sarkom, och detta är inte helt omöjligt men ärr kan lika gärna uppstå efter andra skador.

Fråga 3 gällde huduvida man kan påvisa cellulära förändringar även i inre organ. Det finns ett fåtal referenser som uppger påvisad spridning till inre organ (**Plumb & Hanson, 2010; Quackenbush, 2016**). Den histologiska undersökningen av inre organ från gäddor i detta projekt visade inte på förekomst av metastasering. Samtliga gäddor som kunnat provtas färska hade dock relativt små sarkom, och ingen befann sig i ett så framskridet stadium som den frusna gädda som skickades från Öland 2021 (Bild SF1). Hos denna gädda skulle möjligen inre förändringar ha kunnat påvisas om histopatologisk undersökning kunnat genomföras. Det är inte orimligt att metastasering sker i avancerade fall, eftersom tumörerna består av lymfoida celler som lätt sprider sig via blod och lymfa, det är snarare remarkabelt att tumörerna i de allra flesta fall bara förefaller vara lokalt invasiva.

Skillnaden i könsfördelning och storlek mellan gäddorna ska inte tas som en indikation på hanar eller mindre individer har högre sannolikhet för tumörbildning hos att göra. Resultaten beror på selektion i samband med provtagning. Stora hanar samt honor har i görligaste mån sållats bort för att tillåta reproduktion, även om tumörer förekommit. Honor är också generellt större än hanar varför dessa i högre grad sorterats bort. Detta på grund av att dessa individer är viktiga för gäddstammens återväxt.

Slutligen är det värt att notera två saker som delvis är kopplade till varandra. Det första är att genom att bedöma en tumör makroskopiskt går det inte att självklart bedöma huruvida den sitter enbart i huden eller har spridit sig ner till muskulaturen. Tumörer över 1 cm är inte garanterat ytliga, och inte ens vid genomskärning kan det vara säkert att man kan bedöma detta. Det andra är **att vi fick in en gädda som såg ut att ha blivit ”kirurgiskt” befriad från ett par sarkom. Baserat på** ovanstående är det inte en garanti att man får bort en tumör ens om man skär ner i muskulaturen, eftersom spridningen i den vävnaden är diffus och gränserna otydliga. Den tänkta goda gärningen kan alltså vara helt bortkastad. Utöver detta är det oetiskt att skära i ett djur som är vid fullt medvetande och kan känna smärta. Kirurgi ska förbehållas tillfällen när sövning kan göras, sterila instrument kan användas och sårhål kan förslutas för att minimera lidande, se till att ingreppet utförs korrekt av personer som är utbildade på området och att läkningsprocessen får optimala förutsättningar. I tillägg till detta omfattas numera vilda djur av EU-lagstiftningen avseende djurskydd ((EU) 2016:429). Att skära bort tumörer på vaken fisk kan alltså klassas som djurplågeri.

Trots att gäddsarkom är smittsamt är SVA:s rekommendation för hantering av sarkomgäddor följande:

1. Fiskar med små till medelstora tumörer i huden, och som inte förefaller allmänpåverkade ska släppas tillbaka utan att man försöker skära bort tumörerna.
2. Fiskar med tumörer som omfattar mer än 30% av kroppsytan, eller är kraftigt avmagrade/allmänpåverkade och/eller har omfattande lymfosarkom i munhålan (förhindrar normalt födointag) eller som växer över ögat (förhindrar bytesjakt) bör avlivas av djurskyddsskäl (Bild SF5).



**Bild SF5.** Kraftigt avmagrad gädda med sarkom på nosen, fångad i augusti -22. En gädda i detta skick vid denna tid på året är inte tunn på grund av lek utan med största sannolikhet beroende på tumörsjukdomen och bör avlivas av djurskyddsskäl. Foto: Fredrik Olofsson.

Avseende hull bör man beakta vilken tid på året det är, då urlekta gäddor (vår), särskilt honor, kan vara tunna i hullet. Gäddor kan också upplevas som slöa/allmänpåverkade vid fångst då det inte är alla som slåss, utan låter sig vevas in relativt lätt. Avlivad fisk bör inte lämnas i vattnet på grund av risk för smittspridning vid predation på kroppen. Fisken är inte lämplig som föda för landlevande djur även om viruset inte smittar till andra djurslag, och man bör därför inte lämna den på landbacken heller, utan man ska se till att den hamnar i en kompost eller sophantering beroende på vilka möjligheter som finns tillgängliga.

Intressant var att vi för första gången i Sverige verifierade herpesvirusinfektion (EshV-1) på gädda. Histologisk undersökning visade enbart förändringar i hudens yttersta lager, och det fanns inga tecken på att förändringarna ledde till en skadad hudbarriär. Detta virus är med största sannolikhet inte dödligt, åtminstone inte för vuxna gäddor, och skulle därmed kunna liknas vid CyHV-1 (carp pox virus) som ger en liknande manifestation på karp. Viruset är troligen inte heller speciellt smittsamt eftersom prevalensen förefaller vara väldigt låg - **enstaka ”prickiga” gäddor** identifieras under Linnéuniversitetets årliga provtagningar, men inte varje år, och blåprickiga gäddor är inget som rapporterats till oss. Eftersom vår sekvensdata inte är komplett eller färdiganalyserad, kan vi inte säga mycket om detta virus eller dess relation till andra fiskpatogena virus. Vår förhoppning är att med hjälp av ytterligare medel från HaV utöka sekvenseringen av EshV-1 för att under 2024 publicera virusets kompletta genom, och då också jämföra det med andra publicerade herpesvirusgenom inom djurriket.

## SLUTSATS

Vi har kunnat identifiera skillnader på makroskopisk, mikroskopisk och genetisk nivå mellan lymfosarkomgäddor. Ytterligare arbete behövs för att isolera och identifiera ett eventuellt retrovirus. **Gäddor med sarkom ska inte "räddas" genom avlägsnande av tumörer utan släppas tillbaka utan ingrepp eller avlivas beroende på deras skick.**

Infektion med EsHV-1 har verifierats för första gången i Sverige.

## REFERENSER

- Bowser, P.R., Casey, J.W. (1993). Retroviruses of fish. *Annual Review of Fish Diseases* 3: 209-224
- Burmeister, T., Schwartz, S., Thiel, E. (2001). A PCR primer system for detecting oncoretroviruses based on conserved DNA sequence motifs of animal retroviruses and its application to human leukaemias and lymphomas. *Journal of General Virology* 82: 2205-2213
- Getchell, R.G., Casey, J.W., Bowser, P.R. (1998). Seasonal occurrence of virally induced skin tumors in wild fish. *Journal of Aquatic Animal Health* 10(2): 191-201
- Iwamoto, T., Nakai, T., Mori, K., Arimoto, M., Furusawa, I. (2000). Cloning of the fish cell line SSN-1 for piscine nodaviruses. *Diseases of Aquatic Organisms* 43: 81-89
- Mulcahy, M.F., O'Leary, A. (1970). Cell-free transmission of lymphosarcoma in the northern pike *Esox lucius* L. (Pisces: Esocidae). *Experientia* 26(8): 891. doi: 10.1007/BF02114242
- Papas, T.S., Dahlberg, J.E., Sonstegard, R.A. (1976). Type C virus in lymphosarcoma in northern pike (*Esox lucius*). *Nature* 261(5560): 506-8. doi: 10.1038/261506a0
- Quackenbush, S. (2016). Retroviruses of Fish. I: *Aquaculture Virology*, kap 13: 193-204. Elsevier, ISBN 9780128015735
- Sonstegard, R.A., Chen, T.T. (1986). A review of lymphosarcoma of muskellunge and northern pike. *American Fisheries Society Special Publication* 15: 47-50
- Winqvist, G., Ljungberg, O., Ivarsson, B. (1973). Electron microscopy of sarcoma of the Northern pike (*Esox lucius*). I: Unifying concepts of Leukemia, *Bibliotheca haematologica* 39: 26-30
- Yamamoto, T., Kelly, R.K., Nielsen, O. (1984). Epidermal hyperplasias of northern pike (*Esox lucius*) associated with herpesvirus and C-type particles. *Archives of Virology* 79(3-4): 255-72. doi: 10.1007/BF01310815

## BKD-undersökningar i Vätterns och Siljans vattensystem

### SAMMANFATTNING

SVA har tidigare genomfört undersökningar i Umeälven, Ångermanälven, Faxälven och Ljungan för att bedöma förekomsten av BKD i dessa älvars vilda laxfiskpopulationer (SVA, 2016; SVA, 2020). Under 2022 genomfördes motsvarande undersökningar på vild laxfisk i Vättern och Siljan med biflöden. I Vättern finns i dagslägen inga aktiva odlingar. Däremot sätts det årligen ut Gullspångslax. 2019 påvisades BKD påvisades i en Vätternröding med misstänkt spawning rash, vilket är en sårmanifestation av BKD. I Siljan/Dalälvens vattensystem finns ett flertal odlingsanläggningar och under 2020 uppdagades BKD i flera av dessa. En låggradig förekomst av BKD i Siljansöring-populationen är sedan tidigare känd. Syftet med studien var att undersöka prevalensen av BKD i de vilda bestånden av röding och harr i Vättern, samt att för Siljan undersöka huruvida utbrotten i odlingarna resulterat i en omfattande spridning av infektionen till de vilda bestånden av harr, sik, och siklöja. Resultaten visar att ingen större etablering av smitta skett i de vilda populationerna i Siljan eller Vättern. Resultaten i Siljan kan dock bero på att provtagning gjorts för nära inpå de utbrott som skett, då infektionen har ett långsamt förlopp.

### INTRODUKTION

BKD är en smittsam, kroniskt progressiv sjukdom hos laxfisk, orsakad av den intracellulära bakterien *Renibacterium salmoninarum*. Sjukdomen förekommer i både sötvatten 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, Bild SF5) 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, vi vet bara att arterna är mottagliga för infektionen. För siklöja saknas information helt. 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, vid för bakterien optimala vattentemperaturer, 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.





**Bild SF5. Vätternröding med spawning rash, en sårmanifestation av BKD. Foto: Victor Felix.**

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 andel av all sik och harr som tas in för avel inom kompensationsodlingen provtas också efter romstrykning för att säkerställa att avkomman inte riskerar att ha 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.

I Vättern finns i dagslägen inga aktiva odlingar men historiskt sätt har det förekommit odling i kassar. Det sätts årligen ut kompensationsodlad Gullspångslax, men denna härstammar från honor som friförklarats från bland annat BKD. 2019 påvisades BKD påvisades i en Vätternröding med misstänkt spawning rash, en sårmanifestation av BKD.

I Siljan/Dalälvens vattensystem finns ett antal odlingsanläggningar och under 2021 uppdagades BKD i flera av dessa. Sporadisk förekomst av BKD i Siljansöring-populationen är sedan tidigare känd från årlig provtagning av stamfisk (kompensationsodling).

### **Syfte**

Vi har tidigare bekräftat att BKD kan påvisas i vildfisk i vattenområden med BKD-smittade anläggningar (SVA, 2016; SVA, 2020). Syftet med denna studie var att göra en mer omfattande undersökning avseende BKD i två vattensystem med känd förekomst av infektionen. För Vättern saknas data över förekomsten av BKD utöver ett påvisat fall på röding 2019. Studien genomfördes för att skapa en uppfattning över naturlig förekomst av BKD hos röding och harr i vattensystemet. När det gäller Siljan och närliggande delar av Dalälven genomfördes studien för att undersöka förekomsten av BKD i harr, sik och siklöja för att bedöma risken för etablering i vildfiskpopulationer och spridning i vattensystemen till följd av fördröjd sanering av infekterade anläggningar i området.



## **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 under hösten.

### **Provtagningspunkter**

#### **Vättern**

Länsstyrelsen i Jönköpings län ansvarade för insamlingen av röding i Vättern, och tog hjälp av lokala yrkesfiskare. Inga specifika platser valdes ut, utan insamlingen skedde på de platser där fiskarna normalt fiskar. Totalt visade fyra yrkesfiskare intresse för att delta i studien. Fisk provtogs under hela perioden april-september, då röding normalt vistas på djup där vattentemperaturen håller sig under 15°C. Harr från Hjoån samt Hökesån provtas i samband lek (maj), då fångst för insamling av rom och mjölke för kompensationsodling sker, och därför kunde temperatraspekten inte beaktas i den provtagningen.

#### **Siljan**

För Siljan-provtagningen valdes en tänkt oinfekterad lokal (negativ kontroll), belägen uppströms sjön och där fisk inte kan vandra till/från Siljan så att det inte finns någon risk för spridning av bakterier från sjön via vatten eller fisk. Ytterligare en lokal valdes uppströms Siljan, i Österdalälven nedströms Säs. I dessa två lokaler skulle länsstyrelsen fånga harr under våren under rätt temperaturintervall för provtagning. Trålningssprovfisken brukar genomföras i Siljan under september. Från dessa fisken bestämdes att fångst från tre områden/fiskepunkter i sjön skulle inkluderas, om möjligt på en punkt nära en odlingsanläggning, en så långt bort från anläggningar som möjligt samt en provtagningspunkt mellan de två första punkterna. I första hand skulle sik och siklöja prioriteras. Siljansöringens BKD-status var av intresse men då öringen normalt släpps tillbaka av bevarandeskäl, skulle enbart öring som dött eller var i mycket dåligt tas undan för provtagning. Då För denna provtagning var vi beroende av fisket som sker vid en fastställd tid, och därför kunde fisket inte riktas temperaturmässigt. Om dessa fisken inte skulle generera tillräckligt med fisk fanns en tanke om att samla in sik (ryssing) som vandrar upp för lek i strömmande vatten under hösten.

Målet var att provta 150 fiskar spridda över storlek och om möjligt fångstplats i respektive vattensystem. Harren i Vätternområdet provtogs på plats i samband med rom- och mjölkestrykning. Övrig fisk avlivades direkt efter fångst och frystes för att möjliggöra färre och större inskick till SVA. Fryst fisk håller dessutom bättre under transport eftersom förruttnelse undviks och avseende BKD-diagnostik finns inga nackdelar med att fisken fryses innan analys.

### **Provuttag**

Art, längd vikt och eventuella sjukliga förändringar noterades för varje individ. För lekharr från Vättern genomfördes en icke-invasiv provtagning av kloak och gälar med bomullstops, och som innebär att fisken inte behöver avlivas (Jansson et al., 2022). Övriga fiskar öppnades och cirka 1 g njurvävnad togs per fisk, i första hand vävnad som uppvisade sjukliga förändringar. Därefter togs ett svabbprov genom att en steril bomullstops drogs genom hela den resterande njuren. Om fisken var så liten att 1 g njurvävnad inte gick att få ut togs enbart svabbprov från njuren.

## Laboratorieanalyser

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 (p57), som binder till en antikropp 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 njursvabben 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 (sekundär) ELISA med en annan antikropp som hindrar inbindning av p57 till antikropparen. Det innebär att om den sekundära ELISA:n är negativ finns p57/renibakterier i provet. Då **blir provets slutliga status ”misstänkt positiv”**. Om reaktionen från den primära ELISA:n kvarstår i den sekundära ELISA:n är det en ospecifik reaktion, dvs det är inte p57 som gett upphov till resultatet, och då anses provet som negativt.

Samma PCR som används för att verifiera ELISA-resultat används som enda analysmetod för prover tagna med in vivo-metodiken. Eftersom dubbel metodik inte kan användas anses ett positivt resultat indikera förekomst av renibakterier.

## Databearbetning

Efter genomförda laboratorieanalyser extraherades all data avseende fisk och vattenprover från journalsystemet och överfördes till statistikprogrammet R för deskriptiv statistisk bearbetning.

## RESULTAT

### Provinsamling

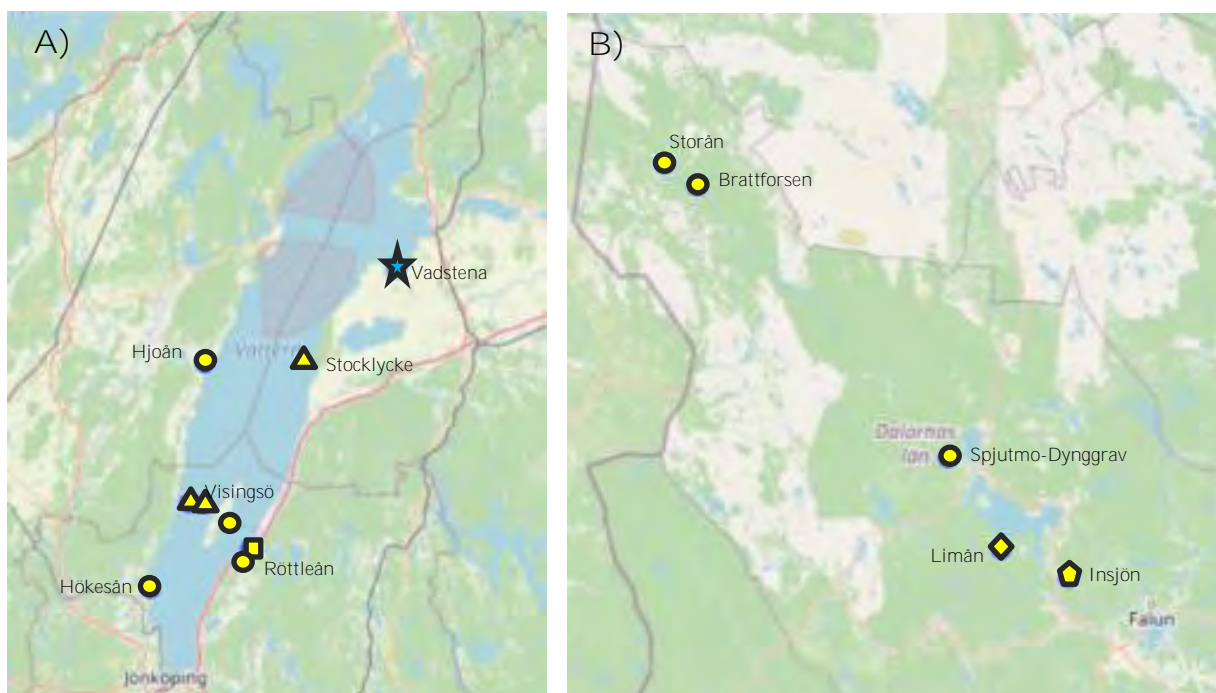
Fisket genomfördes löpande under året såvida vattentemperaturen inte översteg 15 grader. Provtagningspunkter i Vättern och Siljanområdet framgår av Figur SF7.

#### Vättern

Totalt samlades 110 fiskar in. Rödingar (n=50) fångades i bottesatta garn väster om Visingsö. Ytterligare en röding fångad vid trolling utanför Stocklycke skickades in. Prover från harr fångade genom elfiske var insamlade i Hjoån (n=24), Hökesån (n=21), och i Röttleån (n=2) samt med nät i Visingsö hamn (n=7). Då totalantalet röding och harr från Vättern inte uppgick till det önskade antalet kompletterades insamlingen med fem öringar som hittats svampangripna (döda) i Röttleån under höstens lekperiod.

#### Siljan

Totalt samlades 106 fiskar in. Harr fångades med flugspö i Storån (uppströms Idre, n=17) och Brattforsen i Österdalälven (nedströms Idre, n=14) samt genom flugfiske och elfiske i området mellan Spjutmo kraftverk och Dynggrav i Österdalälven (n=28). Trålfisket i Siljan ställdes in av utföraren på grund av tidsbrist. I stället lyckades länsstyrelsen samla in 17 sikar genom håvning i Limåns mynning samt 30 siklöjor, som fångades med pelagiska nät i Insjön.



**Figur SF7. A) Vättern, B) Siljan** Gula cirklar=fångstpunkter för harr. Gul triangel = fångstpunkt för röding. BKD-positiva rödingar i denna studie kom från punkterna väster om Visingsö. Gul kvadrat=fångstpunkt för öring. Blå stjärna=fångstpunkt för den röding som var positiv för BKD 2019 (**Bild SF5**). Gul romb=fångstpunkt för sik. Gul pentagon=fångstpunkt för siklöja.

### Provuttag och analyser

Totalt provtogs och analyserades 216 fiskar. Av dessa var tre positiva för BKD i ELISA, varav två bekräftades positiva med PCR. En översikt över fördelningen av provtagna arter och resultat finns i Tabell SF1.

#### Vättern

I Vättern noterades spawning rash-liknande hudsår med skarpa kanter hos tre rödingar (**Bild SF6**). I övrigt noterades inga förändringar som kan vara associerade med BKD hos någon av fiskarna. Samtliga 51 rödingar och 5 öringar provtogs med ett njurprov samt svabb av njure, medan alla 54 harrar provtogs med svabbnings av gäle och kloak. Två rödingar, från positionerna väster om Visingsö, var positiva för BKD (3,9% av rödingarna, 1,8% av alla prover från Vättern, Tabell SF3). Dessa fiskar hade inte hudsår.



**Bild SF6.** Röding med hudsår, 2022 års provtagning i Vättern. *Foto: David Persson, SVA*

## Siljan

Inga fiskar uppvisade symptom associerade med BKD. Samtliga 78 fiskar, även siklöjor, var stora nog för att kunna provtas med både vävnadsprov och svabb. En harr (1.3% av harrarna, 0.9% av alla prover från Siljanområdet) var positiv för BKD i ELISA men negativ i PCR.

**Tabell SF3. Översikt över antalet fiskar som analyserats för BKD samt analysresultat inom 2022 års studie av vild sötvattenslevande laxfisk.**

Vattensystem	Röding		Öring		Harr		Sik		Siklöja		Totalt	
	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)
Vättern	51	2 (3.9)	5	0 (0.0)	54	0 (0.0)	0	-	0	-	110	2 (1.8)
Siljan	0	-	0	-	59	1 (1.7)	17	0 (0.0)	30	0 (0.0)	106	1 (0.9)
<b>Totalt</b>	<b>51</b>	<b>2 (3.9)</b>	<b>5</b>	<b>0 (0.0)</b>	<b>113</b>	<b>1 (0.9)</b>	<b>17</b>	<b>0 (0.0)</b>	<b>30</b>	<b>0 (0.0)</b>	<b>216</b>	<b>3 (1.4)</b>

## DISKUSSION

Studien visar att BKD i dagsläget inte är vanligt förekommande på vild fisk i Siljan eller Vättern. Med undantag för SVA:s årliga undersökningar av de Siljansöringonor som används inom kompensationsodling saknas historiska data avseende BKD på vildfisk i de två vattensystemen. Det kan därför vara av intresse att följa upp denna studie vid ett senare tillfälle. Detta gäller särskilt för Siljan, där studien möjligen har genomförts för nära inpå utbrott i anläggning för att ge en bild av hur stor smittspridning som skett till de vilda bestånden.

Renibakterier utsöndras bland annat i fiskens urin och avföring. Infektionen sprider sig från odlade till vilda fiskbestånd genom att vild fisk uppehåller sig runt kassarna och utsätts för renibakterier i vattnet samt äter spillfoder under kassarna där avföringen också hamnar. Fördröjd sanering av infekterade anläggningar innebär därmed en hög risk för smittöverföring till vild fisk. Ytterligare faktorer som vattenföring och den vilda fiskens vandringsmönster påverkar smittspridningen inom vattensystemen och upprepade provtagningar behövs för att följa infektionsdynamiken.

Ingen smitta påvisades på siklöja, en art som vi tidigare inte undersökt, och där vi inte har hittat några data på om arten ens är mottaglig för infektionen eller inte. Den lilla provstorleken gör att inga slutsatser avseende artens mottaglighet för renibakterier samt hur allvarlig infektionen skulle bli, särskilt som ingen omfattande förekomst påvisat på övriga provtagna arter i området.

I Vättern jobbar Länsstyrelsen intensivt med att hålla BKD borta från sjön och man har successivt fasat ut insättning av t. ex regnbåge i närliggande vatten. Gullspångslax sätts ut årligen men alla avelshonor provtas avseende bland annat BKD. Om fisken flyttats och fötts upp i annan anläggning, och som tar in fisk från olika anläggningar, innan utsättning finns dock risk för smitta om inte ytterligare prover tagits för att verifiera smittfrihet. Risker för ytterligare introduktion av smitta till Vättern också genom att ett intensivt fiske på kräftor förekommer i sjön, om laxfisk används som agn trots att det inte är tillåtet.

I Siljan sker årlig övervakning av de vildfångade Siljansöringonor som används inom kompensationsodlingen. Normalt används då romvätska för att honorna inte ska behöva avlivas utan återutsättas. Analys av romvätska är inte en lika känslig metodik som analys av njurvävnad, dvs. det är större risk att något prov blir negativt trots närvaro av renibakterier. Oavsett sker övervakning av stammen, som sannolikt är den mest mottagliga vilda arten i vattenområdet. Samtliga odlingsanläggningar övervakas inom den obligatoriska provtagning som sker i Jordbruksverkets regi.

## SLUTSATS

Förekomsten av BKD är enligt denna undersökning i dagsläget låg på vildfisk i både Siljan och Vättern, men Siljan bör följas upp om några år på grund av utbrottet av BKD på odlad fisk för ett par år sedan. Det är fortsatt oklart om siklöja är mottaglig för infektionen och om sjukdom i så fall skulle utvecklas.

## REFERENSER

Jansson, E., Aspán, A, Comin, A, Hjort, M, Jinnerot, T, Axén, C. (2022). Non-lethal sampling for the detection of *Renibacterium salmoninarum* by qPCR for diagnosis of bacterial kidney disease. *Journal of Fish Diseases* 45: 883-894

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

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”**

SVA (2020). Provtagning avseende renibakterios/BKD i vild laxfisk i Umeälven, Ångermanälven, Faxälven och Ljungan. Delrapport till Havs- och vattenmyndigheten, 2020-10-02

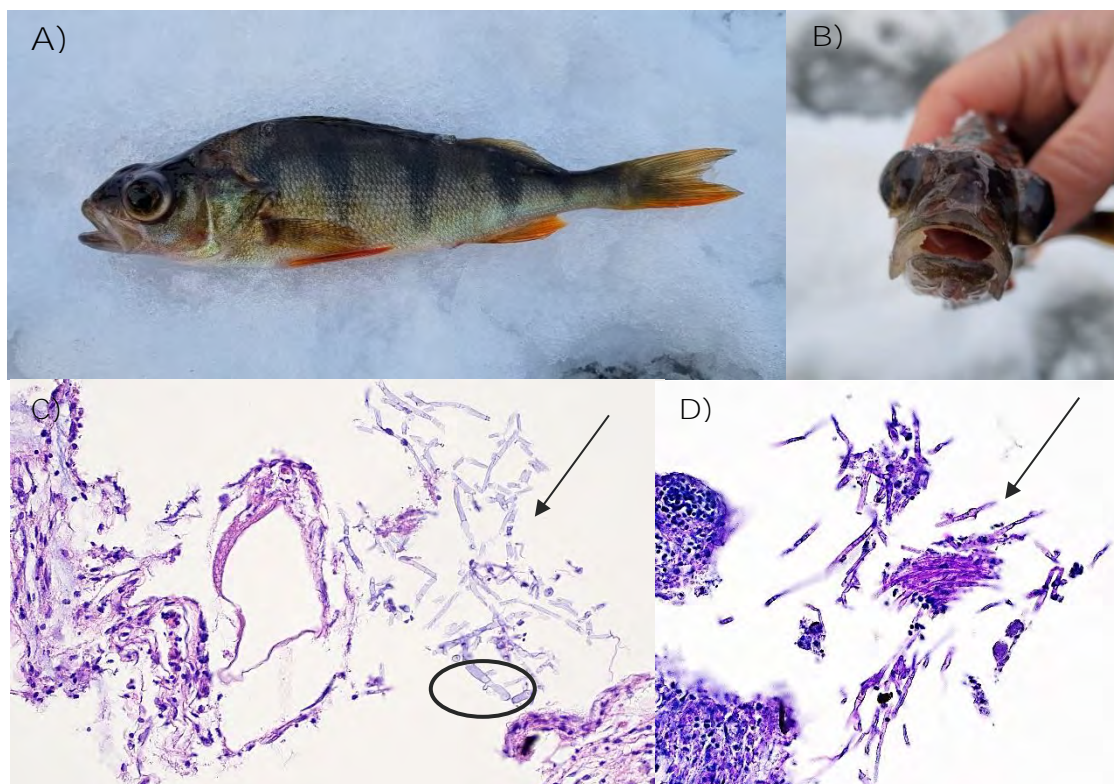


## Akutmedel

Nedan redovisas två fall avseende sötvattenslevande fisk som tagits in för undersökning med hjälp av akutmedel under 2022. Ytterligare fisk eller prover från sötvattenslevande fisk har tagits in för analys, men det har då gällt diagnostik av *Saprolegnia parasitica*. Dessa fall ingår därför i den specifika rapporten avseende detta arbete, se sid XX.

### Fall 1. Abborre med utstående ögon

I början av januari fångades en abborre med utstående ögon (Bild SF7A-B) i Djurmosjön, Dalarna. Abborren frystes och rapporterades via rapportportalen. Efter kontakt skickades abborren in till SVA. Vid obduktion noterades utöver kraftigt utstående ögon ett vid lätt tryck sviktande skalltak. När skalltaget öppnats noterades ansamling av en klar vätska kring hjärnan. I övrigt noterades inga avvikelser hos fisken. Bakteriologisk provtagning gjordes från hjärnvätskan, och hjärnan samt ett öga fixerades och preparerades för histopatologi för att försöka bedöma orsaken till förändringarna. Inga bakterier påvisades vid odling. Trots att abborren varit fryst, vilket påverkar cellstrukturen, kunde diagnos ställas genom histopatologisk undersökning. Abborren hade en mykos (svampinfektion, Bild SF7C-D)) som drabbat hjärnhinnorna (meningit) samt bindväven runt ögat (fasciit). Svamphyferna hade septan (avgränsningar) och hos en del noterades förgreningar (Bild SF7C). Ödemet, som tillkommer under inflammationsprocessen till följd av svampinfektionen, är det som tryckt ut abborrens ögon. Vilken svampart som infekterat abborren har inte fastställts.



**Bild SF7. A-B)** Abborren i samband med fångst den 3/1-22. Foto: Therese Källman. **C-D)** Svamphyfer (pilar) i bindväven runt ögat med **C)** rutinfärgning (H&E) och **D)** färgning för mukopolysackarider (PAS). Inringat i **C)** ses en hyf med ett par avknoppningar/förgreningar. Foto: SVA.



## Fall 2. Rödning med eroderad stjärtfena

Den 16 mars rapporterades en röding, fångad i Rölfisksjön, Dalarna, och som hade en kraftigt eroderad stjärtfena. Stjärtfenan hade lite svampangrepp och en kraftig rodnad som spred sig en liten bit fram på stjärtspolen (Bild SF8A). Fisken hade fileats och det utvändigt sett drabbade området hade skurits bort. I köttet syntes dock omfattande förändringar fram till analfenan och avgränsningen mot frisk muskulatur var synbart skarp (Bild SF8B). Filéerna hade frysts, och skickades till SVA efter upprättad kontakt.

Prov för bakteriologisk och mykologisk odling togs från den drabbade muskulaturen. Vävnad i övergången till frisk muskulatur fixerades också för histopatologisk bedömning. Ingen växt av bakterier eller svamp påvisades genom odling. Den histopatologiska undersökningen visade i likhet med vad som kunde ses vid besiktning av filéerna en relativt skarp avgränsning av skadorna genom de bindvävsstråk som finns mellan muskelfibrerna. **Fläckvis sågs dock ”genombrott”, dvs att spridning framåt i muskulaturen pågick, med så länge lindriga förändringar.** I den tydligt påverkade muskulaturen sågs rikligt med stavformade bakterier, inflammatoriska celler och vävnadsdöd. Detta visar att fisken hade en bakteriell infektion. Anledningen till att den bakteriologiska odlingen var negativ torde vara att filén varit fryst innan provtagning. Frysning ska inte döda bakterier men av erfarenhet kan det vara svårt att få vissa bakterier att växa efter att vävnad varit fryst.



**Bild SF8. A)** Bild av inflammerad stjärtfena med svampangrepp, tagen i samband med fångst. **B)** Utseende hos filéerna. Notera skarp gräns mellan frisk (orange) och sjuk (vit med rodnad) muskulatur. Foto: Lars Björkman

## Rapportportalen

Rapporter från Östersjön inkluderas här såvida de rör en sötvattenlevande art som även kan förekomma i brackvatten. Anadroma och katadroma fiskar rapporteras under sitt respektive delavsnitt även om rapporten kommit från sötvatten. Totalt kom 34 rapporter rörande sötvattenslevande fisk in under 2022 (Tabell SF4).

**Tabell SF4. Artfördelning i inkomna rapporter om sötvattenslevande fisk 2022**

<b>Familj</b>	<b>Art</b>	<b>Antal</b>
<b>Laxfiskar</b>	Stationär öring	10
	Röding	4
	Regnbåge	4
	Sik	2
	Nors	1
<b>Gäddor</b>	Gädda	5
<b>Abborrfiskar</b>	Abborre	5
<b>Karpfiskar</b>	Benlöja	2
	Björkna, braxen, faren	1
<b>Spiggar</b>	Ej angivet (stor-/småspigg)	1
<b>Totalt</b>		<b>35</b>

Sju av tio rapporter om öring rörde svampangripen fisk i Vättern eller dess tillrinnande åar och inkom under oktober-november. Ytterligare en rapport om svampangrepp kom från Gimån i Jämtland. En rapport rörde parasitcystor i inre organ/muskulatur och i en rapport angavs inte fynd. Kontaktinformation saknades och orsaken till rapportering har därför inte kunnat fastställas.

Rapporterna om röding gällde fallet ovan under Akutmedel, s. 125, ett fall med omfattande angrepp av gällösa (*Salmincola* sp.) och kraftig avmagring, ett fall med parasitcystor på de inre organen och ett fall av svampangrepp under senhösten.

I slutet av maj kom två rapporter om svampangripen regnbåge in till portalen. Den ena såg ut att ha relativt ytliga mekaniska skador som grogrund för infektionen, medan inga uppenbara primära skador noterades på bifogad bild för den andra fisken. En svampangripen regnbåge rapporterades från Mörrumsån i oktober. Bild och kontaktuppgifter saknades och fyndet har därför inte kunnat verifieras. Mörrumsån är en lax- och havsöringså, och den tiden på året är det inte ovanligt att laxen och öringen är svampangripen. Enstaka förvildade regnbågar förekommer dock i ån och fyndet är därför inte orimligt. Från en put-and-takesjö rapporterades i augusti att sårskador börjat uppkomma på fisken. Diagnos fastställdes på aktuellt FVOF:s bekostnad.

Rapporterna om sik rörde fynd av ett antal döda sikar, ett i Mettjärvi, Norrbotten och ett i Skräbeån i Skåne. Rapporten om Nors kom från Edsviken i Stockholm och rörde ett antal fiskar som hittats vid strandkanten. Ingen synbar dödsorsak kunde identifieras utifrån bifogade bilder.

Fyra av fem rapporterade gäddor hade gäddsarkom (se ex Bild SF5, sid 115) och en hade svampangrepp. En av rapporterna rörde en gädda som hade fångats redan 2017.

Rapporter om abborre kom in från januari till augusti. Ett fall avhandlas under Akutmedel ovan (s. 124). Två rapporter gällde lusangrepp och två rapporter gällde sårskador. I det ena fallet var det en abborre som hade ett sår på vardera sida av gälloppet, och i det andra fallet flera abborrar med enstaka större sår på kroppen. I båda fallen var såren av äldre natur (minst en vecka) och orsaken gick inte att avgöra mer än att det inte såg ut som mekaniska skador.

En rapport om karpfisk rörde vita fläckar på huvudet på en benlöja, vilket vid kontroll av fotot bedömdes vara ”vita prick”, orsakad av den encelliga parasiten *Ichthyophthirius multifiliis*. Övriga rapporter om karpfiskar samt den om spigg rörde observationer om ett flertal döda fiskar. Rapporterna kom under juni-augusti. Vattenförhållandena på fyndplatserna är oklara, men

sommartemperaturer kan ge både syrebrist och orsaka algbloomningar, så det är potentiella orsaker till dödligheten.

## Del 5. Kräftdjur

För flodkräftor finns ett övervakningsprogram som i första hand bygger på passiv övervakning av kräftpest. Invasiva sötvattenlevande arter (till exempel signalkräfta) som provtas för kräftpest inkluderas också i övervakningsprogrammet. Sötvattenlevande invasiva arter som provtas av annan anledning samt havslevande kräftdjur rapporteras under rubriken Akutmedel.

### Övervakningsprogram

#### SAMMANFATTNING

Övervakningens syfte är att utreda orsaken till akut dödlighet hos framför allt flodkräftor, där kräftpest, orsakad av algsvampen *Aphanomyces astaci*, ofta är misstänkt dödsorsak. Även fall med sjuka och döda signalkräftor eller andra invasiva arter undersöks, då signalkräftor ofta är bärare av kräftpest och därmed utgör ett hot för den inhemska flodkräftan som är mycket känslig för patogenen. Övervakningen av sötvattenslevande kräftor sker passivt.

Fisksektionen har under 2022 handlagt sex uppdrag rörande sjukdom/dödlighet på flodkräftor och två på signalkräftor. Totalt undersöktes inom dessa uppdrag 24 flodkräftor (*Astacus astacus*) och 12 signalkräftor (*Pacifastacus leniusculus*). Det material som har sänts in har varit färska, frysta eller spritfixerade, hela kräftor eller delar av kräftor. Samtidigt med kräftpest undersöks proverna för viruset WSSv, som orsakar vitprickig kräftdjursjuka, samt för parasiten *Astathelohania contejeani* (tidigare *Thelohania contejeani*) som orsakar porslinssjuka. Samtliga patogener undersöks med hjälp av qPCR-teknik. Kräftorna har även undersökts med mikroskopering för förekomst av parasiter ur släktet *Psorospermium* om skicket på insända kräftor tillåtit det. I tillägg har 19 eDNA-prover (vatten) undersökts med avseende på kräftpest.

Kräftpest konstaterades i fyra nya lokaler under 2022, varav en lokal med signalkräftor och tre med flodkräftor. Spridning till nya vattensystem sker varje år. Det mest noterbara är att sjukdomen plötsligt sprids långt norrut, då smitta bekräftades i Skellefteälven under 2022. Även i Ångermanälven har flodkräftorna försvunnit under året. Här hittades dock inga sjuka eller döda kräftor för analys, och därmed har inte misstanken om kräftpest som dödsorsak kunnat konfirmeras.

I två lokaler har fynd av flodkräftor positiva för *Astathelohania contejeani* har gjorts under året, varav det ena fyndet var på en kräfta analyserad inom SNEIF-projektet (Svensk-norsk innsats för edelkreps/flodkräftor; se nedan).

Alla undersökta prover har varit negativa för WSSv.

#### INTRODUKTION

För sötvattenslevande kräftdjur är det främst kräftpest, orsakad av algsvampen *Aphanomyces astaci*, som utgör ett sjukdomsproblem. Kräftpest orsakar 100 % dödlighet hos flodkräftor (*Astacus astacus*) medan sjukdomen har ett subkliniskt förlopp hos signalkräftor (*Pacifastacus leniusculus*) såvida individen inte är immunologiskt nedsatt. Kräftpesten introducerades i Sverige 1907, och algsvampen förekommer i olika haplotyper (kallas ibland genotyper i litteraturen). I Europa har man observerat åtminstone fem olika haplotyper av kräftpest (Svoboda et al., 2014). Dessa har

olika patogenicitet (sjukdomsframkallande förmåga) för endemiska europeiska sötvattenskräftor. Haplotyperna kan ha lite olika beteckningar i olika publikationer, men vanligast är att kalla dem haplotyp A-E. De olika haplotyperna har var och en koppling till olika invasiva kräftarter.

Signalkräftan klassas numera som en invasiv främmande art (IAS) av EU och flytt av levande signalkräftor får inte genomföras inom unionen. Övervakning av förekomsten av signalkräftor och flodkräftor görs av SLU. SVA övervakar sedan många år förekomsten av kräftpest genom att misstänkta fall skickas in och diagnosticeras. Även parasitinfektionerna porslinssjuka (*Astahelohania contejeani*) och psorospermium (*Psorospermium* spp.), främst då den första, kan orsaka problem hos sötvattenslevande kräftor. Vitprickig kräftdjursjuka/White spot syndrome (WSS) är en exotisk virussjukdom som förekommer framför allt i Sydostasien och ger massdödlighet i odlingar med peneida räkor (jätteräkor). Sjukdomen kan drabba alla tiofotade arter av kräftdjur, vilket inkluderar räkor, kräftor, humrar och krabbor. Den höga dödlighet som förekommer på jätteräkor har dock inte rapporterats för andra kräftdjur. Sjukdomen är A-listad av EU, vilket innebär att den inte förekommer inom EU:s territorium. Enstaka fall har dock påvisats i odlingar av importerade jätteräkor i södra Europa. Snabb utslaktning har gjort att sjukdomen inte fått fäste inom unionen. All sjukdom/dödlighet som inte kan förklaras av andra orsaker ska enligt kommissionen därför undersökas avseende WSS-virus (WSSv) för att tidigt upptäcka eventuell introduktion av sjukdomen och möjliggöra snabb utrotning.

Eftersom signalkräftor och andra arter kan bära olika patogener som riskerar att utrota flodkräftan provtas och diagnostiseras även andra vildfångade kräftdjur inom övervakningsprogrammet.

### Syfte

Syftet är att passivt övervaka förekomsten av kräftpest som dödsorsak hos flodkräftor. Vi utreder också varje fall diagnostiskt för att utesluta WSSv eller porslinssjuka, samt i görligaste mån infektion med *Psorospermium* som dödsorsak. Andra kräft- och kräftdjursarter undersöks också inom programmet.

## MATERIAL OCH METODER

### Provinsamling

Material inkom vid fall av sjukdom eller dödlighet efter diskussion med SVA. Kräftor skickades levande eller döda, färska, frysta eller spritfixerade (hela eller delar av kräftor).

Under sommaren 2021 drabbades sjön av Öresjö i Lilla Edets kommun i Västra Götaland av kräftpest. Detta kunde visas genom både undersökning av kräftor och eDNA-prover. Sjön var en sedan tidigare utsedd provtagningspunkt i samarbete med SLU Aqua, då den innehöll ett för södra Sverige unikt livskraftigt bestånd av flodkräftor trots att kräftpest fanns i närområdet. Sjön följdes upp under 2022, då SLU Aqua gjorde en uppföljande provtagning av eDNA på samma provtagningspunkter som året innan.

Material inkom också från Interreg-**projektet ”Svensk-norsk innsats för edelkreps/flodkräftor”** (SNIEF), där fortsatta provtagningar både av döda kräftor och eDNA från filtrerat vatten gjordes.

Signal- och flodkräftor från tre sjöar där båda arter förekommer utan tecken på sjukdom provtogs också, och då enbart med avseende på kräftpest.

I tillägg genomförde Stockholms länsstyrelse en inventering av kinesisk ullhandskrabba (*Eriocheir sinensis*) som bifångst vid fiske i Mälaren (Barthel Svedén & Reid, 2023). Från denna inventering skickades 27 individer för obduktion och analys avseende kräftpest.

## Obduktion och provuttag

Inkomna döda kräftor undersöktes makroskopiskt. Gälar och carapaxhud mikroskopiserades för att förekomst av den encelliga parasiten *Psorospermium* spp. *Psorospermium* är tillräckligt stora för att påvisas vid direktmikroskopering, och metodiken används därför rutinmässigt om skicket på insända kräftor tillåter det. *Astahelohania contejeani* (orsakar porslinssjuka) är också en encellig parasit. **Denna lägger sig insprängt i muskelvävnad i små lokaliserade ”öar”. Kraftig infektion kan anas makroskopiskt genom att undersidan av kräftans stjärt får ett kokt/porslinsvitt utseende.** Parasiten går dock inte att påvisa vid direktmikroskopering, utan det krävs histopatologisk preparering med färgning av vävnaden för mikroskopisk diagnostik. Även då kan det vara svårt att avgöra närvaro av parasiten om den inte förekommer i riklig mängd. SVA använder därför sedan 2021 en egenutvecklad qPCR för att påvisa infektionen.

Ett samlingsprov av hud under stjärt, olika delar av muskulatur, carapaxhud, en pleopod (gångben) **och telson (”stjärtfena”)** togs ut för molekylärbiologisk analys avseende kräftpest (*Aphanomyces astaci*), porslinssjuka (*Astahelohania contejeani*) och vitprickig kräftdjursjukesvirus (WSSv).

Eftersom ullhandskrabban är mellanvärd för orientalisk lungmask (*Paragonimus westermani*), en zoonos, fryser SVA krabborna i minst tre dygn innan obduktion genomförs. Frysningen dödar eventuella parasiter men gör att materialet inte passar för histologiska undersökningar. PCR-analyser går dock att genomföra. Provuttag gjordes enligt Svoboda et al., (2014) (hud under stjärt, mjuk hud från gångbensleder och klor, en maxilliped och telson, med tillägg av carapaxhud som är ett utmärkt material både för analys av kräftpest och WSSv).

## Laboratorieanalyser

### Kräftor

qPCR används för att påvisa DNA från *A. astaci*. Den qPCR vi tidigare använt (Vrålstad et al., 2009), korsreagerar dock med en nyligen beskriven apatogen art av *Aphanomyces*, *A. fennicus* (Strand et al., inskickat manuskript). Därför har SVA under 2022 övergått till att använda den *A. astaci*-specifika metod som beskrivs i Strand et al. qPCR-metoden används för både kräftvävnad och eDNA. Även förekomst av porslinssjuka och WSSv i kräftvävnad undersöks med hjälp av qPCR (egenutvecklad qPCR avseende *A. contejeani* och för WSSv enligt Sritunyalucksana et al. (2006)). Från och med 2021 undersöks samtliga fall av kräftdöd rutinmässigt för alla tre smittämnen.

Tidigare metoder för haplotypning av *A. astaci* har krävt renodlade isolat och arbetsintensiva PCR-analyser. En ny publikation (Di Domenico et al., 2021) beskriver en qPCR-baserad haplotypning som kan utföras på DNA-extrakt från kräftvävnad eller eDNA. Positivt referensmaterial för de fem beskrivna haplotyperna erhöles från David Strand, Veterinärinstitutet i Oslo, och under 2022 implementerade SVA metodiken för haplotypning av *A. astaci* enligt Domenico et al. (2021). Samtliga påvisade fall av *A. astaci* analyserades med avseende på haplotyp.

### eDNA-analyser

Under 2021 skickades alla eDNA-filter till Irland för DNA-extraktion. Extraherat DNA skickades tillbaka till SVA i februari 2022 för qPCR-analys. Under 2022 har SVA börjat använda det extraktionsprotokoll som tagits fram på Irland inom deras kräftövervakning och samtliga eDNA-prover har extraherats och analyserats vid SVA. Vattenproverna analyserades för förekomst av kräftpest samt flod- och signalkräfta med hjälp av qPCR (Agersnap et al., 2017; Strand et al., inskickat manuskript). eDNA-analyser har även utförts med SVA:s metodik på ett antal prover inom SNEIF-projektet.



## RESULTAT

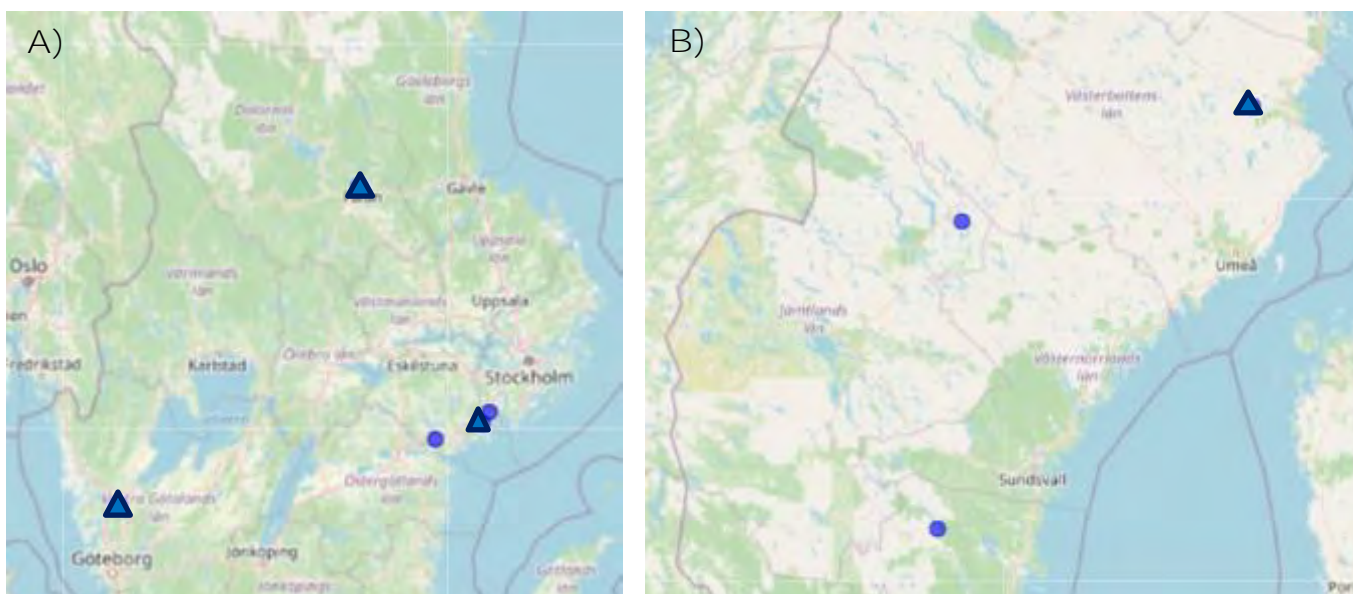
### Misstänkta fall av kräftpest

Totalt inkom åtta fall av misstänkt kräftpest under 2022. Resultaten har kontinuerligt svarats ut till HaV och berörd länsstyrelse. I Tabell SK1 sammanfattas fallen i kronologisk ordning. Tre fall av kräftpest hos flodkräfta och ett fall av kräftpest hos signalkräfta har påvisats, varvid en rapport om påvisad anmälningspliktig sjukdom utgått till Jordbruksverket, HaV och länsstyrelserna. Fynden var relativt spridda geografiskt. Tre fynd låg inom signalkräftans utbredningsområde (Bild SK1A) och ett långt norrut (Bild SK1B). *Astathelohania contejeani* påvisades på en kräfta från Skellefteälven, medan samtliga prover var negativa för WSSv. *Psorospermium* spp. påvisades inte hos någon kräfta. Samtliga utbrott av kräftpest diagnostiserade under 2022 var av haplotyp B.

**Tabell SK1. Fall med misstanke om kräftpest under 2022, angivna i kronologisk ordning.**

Art	Lokal	A. astaci	A.c.	WSSv
signalkräfta	sjön Björken, Trosa kommun, Södermanland	+ (htB)	-	-
flodkräfta	biflöde till Kilaån, Jönåker, Nyköpings kommun, Södermanland	-	-	-
flodkräfta	Skellefteälven, Skellefteå kommun, Västerbottens län	+ (htB)	(+)	-
flodkräfta	sjön Stora Vällan, Falu kommun, Dalarna	+ (htB)	-	-
flodkräfta	Bäckesjön, Ljusnan, Ljusdals kommun, Gävleborg	-	-	-
flodkräfta	Rossön, Strömsund kommun, Jämtland	-	-	-
flodkräfta	Hälgånån, biflöde till Bäveån, Lilla Edets kommun, V Götaland	+ (htB)	-	-
signalkräfta	Trosaån, Trosa kommun, Södermanland	-	-	-

*A. astaci* = kräftpest; *A.c.* = *Astathelohania contejeani*; WSSv = whitespot syndrome virus; + = patogen påvisad; (+) = enstaka positiva av ett flertal analyserade kräftor; - = patogen ej påvisad; (htB) = haplotyp B



**Bild SK1.** Geografisk lokalisation av fyndplatser för inskickade döda i **A)** södra och **B)** norra Sverige under 2022. Fynden i sjön Björken, Trosa kommun, i Vällan, Falu kommun, i Hälgånån, Lilla Edets kommun samt Skellefteälven, Skellefteå kommun (trianglar) var positiva för kräftpest. Kartunderlag <https://rl.se/rt90>

I mars skickades två döda signalkräfter från sjön Björken i Trosa kommun. De hade pigmentförändringar i skalet, vilket är klassiskt när signalkräfter är infekterade, men som inte noteras hos flodkräfter som drabbas av kräftpest (Bild SK2). Hos dessa kräfter kunde pest påvisas (Tabell SK1) och detta kan vara en bidragande orsak till att kräftorna dött. Ofta finns andra faktorer som spelar in som påverkat djurens immunstatus eller dålig vattenkvalitet.

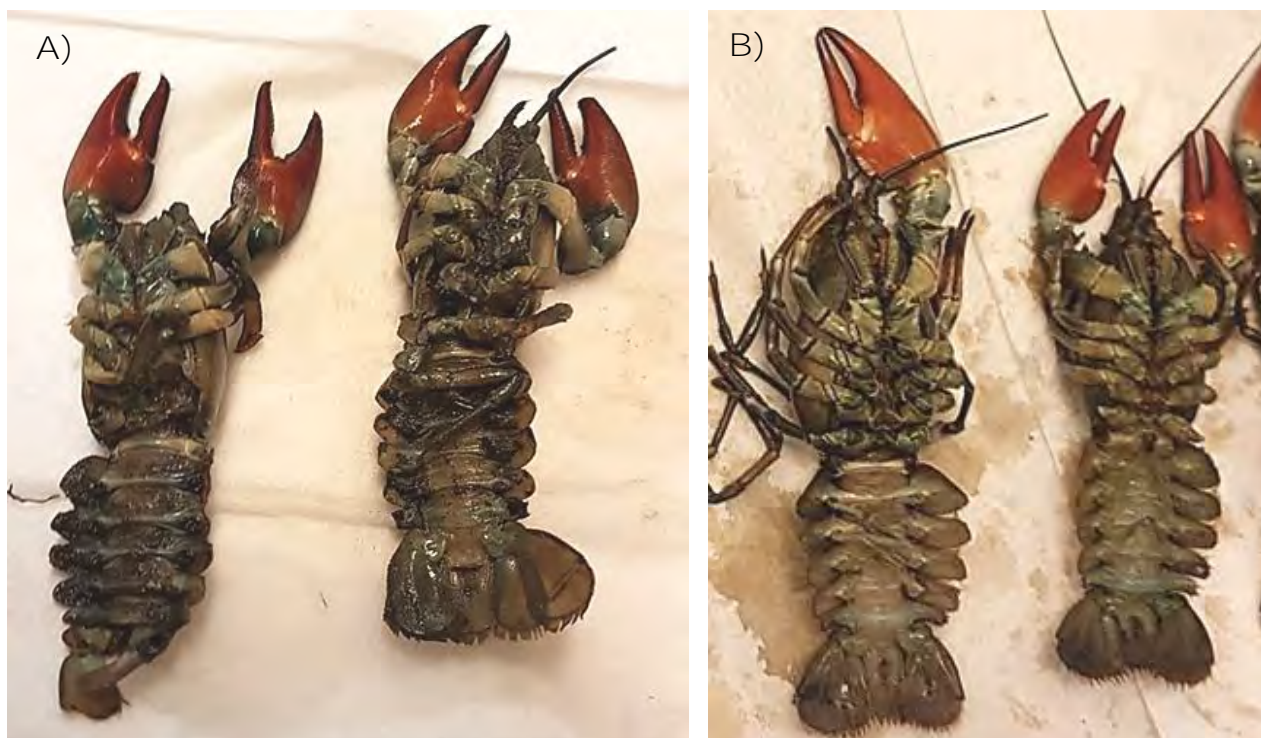


Bild SK2. A) Pestdrabbade signalkräfter från sjön Björken i Sörmland. B) Pestdrabbade flodkräfter från Skellefteälven. På signalkräftorna har skalet under stjärten melaniserats, medan flodkräftornas stjärtskal har normal färg. Foto: Anna Aspán, SVA

Den 23 maj kontaktade Skellefteå kommun SVA angående att de fått en rapport om döda kräfter i älven. Kommunens handläggare gick själva ner till älvstranden inne i Skellefteå och kunde konstatera att det låg döda kräfter längs botten. En intensiv provtagningsinsats inleddes, där provfiske skedde i ett antal magasin uppströms Kvistforsdammen (nedersta kraftverksdammen i vattensystemet), och döda kräfter samlades in från ett flertal platser inklusive inne i Kvistforsens fiskodling, där enstaka småkräfter kan komma in med vattnet och då blir kvar i tankarna. Samtliga provtagningspunkter var positiva för kräftpest. I den längst uppströms provtagningspunkten, i övre delen av Båtforsmagasinet, hittades levande kräfter. Senare under sommaren dog kräftorna även där till följd av kräftpest. Uppföljning i närliggande vattendrag (en flodkräfta från Göksjön i Rickelåns avrinningsområde provtogs den 1 juli och en kräfta från Bure camping, Bureälven den 14 juli) visade inte på spridning, dvs. de provtagna kräftorna var negativa avseende kräftpest.

I juni hittades en levande men sjuk flodkräfta i sjön Stora Vällan, Falu kommun. Kräftan påträffades mitt på dagen, var slött och saknade flyktbeteende. Detta är typiska tecken på att en flodkräfta har drabbats av pest och snart kommer att dö. Kräftan skickades in för analys och kräftpest påvisades.

Det fjärde fyndet av kräftpest var från flodkräftor i sjön Hälgårån, ett biflöde till Bäveån, Lilla Edets kommun. I september hittades döda kräftor i samband med elfiske. Inga levande kräftor återfanns. Bäveån är sedan tidigare pestförklarad, men smittan har inte funnits så långt uppströms. Hälgårån/Bäveån ligger uppströms Öresjö (Bild SK3), där flodkräftbeståndet slogs ut av pest sommaren 2021.

### Uppföljning av kräftpesten i Öresjö

Samtliga åtta eDNA-prover som togs i den uppföljande provtagningen i Öresjö i augusti 2022 var negativa med avseende på kräftpest. Inte heller förekomst av signal- eller flodkräftor kunde påvisas. De åtta provtagningspunkterna för 2021 och 2022 kan ses i Bild SK3.



**Bild SK3.** Hälgårån, strax uppströms Öresjö, drabbades av kräftpest 2022 (stjärna). Övriga punkter visar provtagningspunkter för kräftpest i Öresjö 2021 och 2022, där trianglar visar provtagningspunkter som var positiva för kräftpest 2021. Samtliga åtta punkter i Öresjö var negativa för kräftpest vid den upprepade provtagningen i augusti 2022. Kartunderlag <https://rl.se/rt90>

### SNIEF-projektet

Inom Interreg-projektet Svensk-norsk handlingsplan för sötvattenkräftor (SNIEF) gjordes provtagningar under året (SNIEF: Delrapport 6, eDNA – utvärdering av 2022 års provtagning, Slutrapport SNIEF - SNIEF (<https://www.snief.org/slutrapport-snief/>)). SVA utförde analyser av



vattenprover (eDNA), nattsländelarvfångstnät, upphittade flodkräftor (antingen döende, självdöda eller skaldelar) samt minkspillning.

#### **Vatten med bestånd av både flodkräftor och signalkräftor utan dödlighet i kräftpest**

Kräftor från blandade, friska bestånd skickades från Hasselasjön i Hudiksvalls kommun, Hälsingland, från Logården i Gavleåns avrinningsområde, Dalarna, samt från Vålungen i Säffle kommun, Värmlands län. Alla undersökta signal- och flodkräftor från dessa provtagningspunkter var negativa för kräftpest.

#### **Kinesiska ullhandskrabbor från Mälaren**

Vid yttre besiktning var 26 av 27 krabbor i gott skick (Bild SK4). Hos två av de 26 ”friska” krabborna noterades mindre melansieringar. En hade en mindre melaninfläck på ryggskölden och en hade en melaniserad skada på stjärtskölden. Den sista krabban hade ett runt ”borrat” hål som var av äldre datum då kanterna var ”uppdrivna” och det fanns en färgförändring både i det uppdrivna området och runt det (Bild SK5A), vilket tyder på en inflammations- och läkningsprocess. Vid öppning av ryggskölden såg denna individ uräten ut (Bild SK5B).

Alla 27 individer var negativa avseende kräftpest och WSSv.



**Bild SK4:** Ullhandskrabborna som undersöktes var generellt i mycket gott skick.  
*Foto: Anna Aspán, SVA.*



**Bild SK5. A, B)** en ullhandskrabba hade ett hål i ryggskölden, och var i princip tom innanför skalet. *Foto: Anna Aspán, SVA.*

## DISKUSSION

Kräftpesten fortsätter att sprida sig i Sverige. Tidigare var den nordliga gränsen Holmsjön i Ljungans vattensystem. Utbrottet av pest hos flodkräftor i Skellefteälven har därmed flyttat den nordliga utbredningsgränsen långt norrut. Det är oklart hur förekomsten av kräftpest ser ut mellan Ljungan och Skellefteälven. Även i Ångermanälven försvann flodkräftorna helt under 2022 men dödsorsaken har inte kunnat bekräftas då inga kräftor återfanns. Att kräftpest är orsaken är dock högst sannolikt eftersom ett helt bestånd försvunnit så plötsligt. Det är oklart om kräftpesten till Skellefteälven introducerats via kontaminerade redskap eller om signalkräftor satts ut någonstans i Skellefteälvens avrinningsområde. Om signalkräftor planterats in kommer nyintroduktion av flodkräftor för att återuppbygga bestånden vara meningslös. Fortsatt smittspårning genomförs därför under 2023 för att försöka spåra eventuella utplanteringar.

Övriga kräftpestfall påvisades inom signalkräftans utbrednings-/hanteringsområde. I ett av fallen var det signalkräftor som drabbats av dödlighet, dessa signalkräftor påträffades i sjön Björken, Trosa kommun, Södermanland.

Signalkräftor är oftast bärare av kräftpest utan att dödlighet förekommer. Det enda symptomet kan vara melaniserade fläckar i skalet, vilka beror på att kräftans immunförsvar effektivt kapslar in algsvampen, och immuncellerna är pigmenterade. När andra sjukdomar eller miljöfaktorer påverkar kräftorna negativt kan dock dödlighet förekomma och den kan vara omfattande. Vi har i

detta fall ingen information om vilka underliggande faktorer som har lett till att signalkräftorna inte kunnat hantera infektionen. Kräftorna hade melanisering av skalet (Bild SK2A), vilket tyder på att deras immunförsvar börjat hantera infektionen. PCR:en visar dock på relativt hög förekomst av kräftpest-DNA, vilket indikerar att de inte bara var infekterade utan att det också var en möjlig dödsorsak.

I sjön Stora Vällan, Falu kommun, Dalarna, påträffades döda flodkräftor. Enligt Kräftdatabasen (<https://kraftdatabasen.se/>) planterades signalkräftor ut på några platser i Dalarna 1969 och finns väl spridda åtminstone i sydöstra delen av landskapet. Därmed är fyndet av kräftpest i Stora Vällan inte helt oväntat. Signalkräfta finns dock inte rapporterad från Stora Vällan enligt SLU:s kräftdatabas.

Bäveåns vattensystem (Uddevalla och Vänersborgs kommuner) pestförklarades sommaren 2021, efter fynd av döda flodkräftor vid Sägbron i Sågån som är Öresjöes utlopp. Öresjö var en av de sista sjöarna i södra Sverige som haft ett stort och livskraftigt bestånd av flodkräfta. I september 2022 hittades döda kräftor i Hälgåån, vilka visade sig ha dött av kräftpest. Hälgåån ligger uppströms Öresjö, vilket visar att pesten letat sig uppåt i vattensystemet.

Länsstyrelsen i Värmland har inom SNIEF fortsatt att följa utvecklingen av förekomsten av kräftpest, flod- och signalkräfta inom Billälvens vattensystem, samt några andra vattensystem i Värmland, främst mot den norska gränsen. Projektet har pågått under tre år och syftet är att skydda och utveckla flodkräftbeståndet i Värmland och motsvarande område på den norska sidan om gränsen. 2022 var projektets sista år. Ett antal rapporter som kommer att tillgängliggöras på projektets websida (<https://www.snief.org/>) har skrivits. I projektets slutrapport utvärderas bland annat hur eDNA-metodiken fungerat. Liksom tidigare år visade eDNA-provtagningarna 2022 att man inte alltid kan påvisa DNA från kräftor i vatten där man vet att det finns flod- eller signalkräftor. Utifrån provtagningar i sju vattensystem med kända flodkräftförekomster beräknades en träffsäkerhet för att påvisa kräftor endast till 40% (SNIEF: Delrapport 6, eDNA – utvärdering av 2022 års provtagning). SVA har därför under 2023 tillsammans med SLU Aqua initierat ett internationellt samarbete för att undersöka hur metodiken kan förbättras.

**Inom SNIEF-projektet påvisades kräftpest och signalkräft-DNA i ett eDNA-prov från sjön Mjögan i Göta älvs avrinningsområde. Mjögan är ett känt signalkräftvatten med ganska höga tätheter. Detta aktualiserade frågan om hur ett eDNA-prov som är positivt för en anmälningspliktig sjukdom ska hanteras - är ett sådant resultat tillräckligt för att en K12-anmälan ska göras? Frågan lyftes till EU-kommissionen under den årliga workshopen för EU:s nationella referenslaboratorier den 1 juni 2023. Andra länder hade liknande frågor kring andra smittämnen än kräftpest. Svaret var att man avseende eDNA bör agera enligt artikel 18 i EU:s djurhälsolag ("AHL", EU 2016/429). Där står det att om det finns misstanke att djur smittade med en av EU listad sjukdom ska Competent Authority (CA, i Sveriges fall Jordbruksverket) varslas om misstanken, och att CA är skyldiga att utreda misstanken. Kommissionen hänvisade till att även icke EU-listade, men nationellt anmälningspliktiga sjukdomar bör hanteras på samma sätt. En misstankeanmälan är dock inte detsamma som en K12, eftersom det senare innebär bekräftad smitta. SVA har lyft frågan till Jordbruksverket för att riktlinjer ska sättas upp för patogener i eDNA-prover, framför allt eftersom fler aktörer än SVA analyserar eDNA och sannolikt inte är medvetna om vad en påvisad patogen kan innebära.**



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 för flodkräftan förvärrats - varhelst signalkräftan introduceras försvinner flodkräftorna. Det förekommer spekulationer om att flodkräftor skulle ha utvecklat resistens mot kräftpest, då man ibland hittar bestånd av flodkräftor i vatten där det också finns signalkräftor. Under 2022 undersöktes 14 signalkräftor och åtta flodkräftor från tre olika vattendrag med blandade bestånd utan tecken på sjukdom, och kräftpest kunde i dessa fall inte påvisas. Baserat på dessa resultat finns det alltså ingen grund för att tro att vissa bestånd av flodkräftor skulle ha utvecklat en resistens mot *A. astaci*. Värt att notera är att det vid SNEIF-projektets slutmöte hölls ett föredrag av finska forskare, som berättade att de under många år följt ett pestfritt vatten med bestånd av både signalkräftor och flodkräftor. På sikt konkurrerade signalkräftorna ändå ut flodkräftorna, vilket innebär att man inte medvetet bör blanda bestånd även om man vet att signalkräftorna är fria från kräftpest.

Samtliga fall av påvisad kräftpest under 2022 tillhörde haplotyp B. Haplotyp A var den som först spreds i Sverige, med import av kräftor från Finland 1907. Haplotyp A dödar flodkräftor relativt långsamt. Alltså kunde infekterade flodkräftor sprida kräftpesten från Stockholm vidare ut i Mälaren, utan att det fanns signalkräftor närvarande som bärare av pesten. Kräftpest av haplotyp A har sedan spridits vidare till Norge. När signalkräftor började planteras in i Sverige på 60-talet kom en aggressivare variant av kräftpest (haplotyp B) med dem. Den varianten är så aggressiv att den slår ut ett flodkräftbestånd på några dagar till någon/några veckor, beroende på hur täta bestånden är. I dag är det haplotyp B som dominerar vid kräftpestutbrott både i Sverige och Norge.

I oktober 2020 påvisade Finska Livsmedelsverkets kräftpest hos flodkräftor som fångats i Kemi älvs mynning. Tidigare kräftpestfynd i Finland har, liksom i Sverige, varit av haplotyp A eller B. Detta utbrott orsakades dock av haplotyp D, en variant som inte påvisats i Finland tidigare. Denna haplotyp är förknippad med en annan invasiv art än signalkräfta, nämligen röd sumpkräfta (*Procambarus clarkii*). Liksom signalkräftan kommer den röda sumpkräftan ursprungligen från södra Nordamerika och har efter introduktion i Europa spridit sig framför allt i de södra delarna. Haplotyp D har också påvisats hos akvariehållna kräftarter. Utsläppta akvariekräftor skulle därför kunna vara en möjlig smittväg för flodkräftorna i Kemi älv. Det är också välkänt att kinesisk ullhandskrabba kan bära kräftpest, och detta har tidigare bekräftats vid undersökning av krabbor fångade i Sverige (Svoboda et al., 2014). Ullhandskrabbor kan spridas via fartyg och har hittats i hamnområden efter Finlands kust, vilket bland annat rapporteras på [landsbyggensfolk.fi](http://landsbyggensfolk.fi). Man spekulerade därför om smittan kommit in via invasiva ullhandskrabbor.

Den kinesiska ullhandskrabban kom till Sverige redan på 1930-talet. Från Mälaren finns rapporter om fynd i Västeråsfjärden så tidigt som 1944 och på Kärrbolandet 1950. De krabbor som undersöktes 2022 bar inte på kräftpest, men i en tidigare studie av ullhandskrabbor och signalkräftor fångade i Vänern påvisades kräftpest av haplotyp B hos båda arterna (Svoboda et al., 2014). Då kräftorna och krabborna fångats på samma lokaler och båda var infekterade med kräftpest av haplotyp B menar författarna att krabborna skulle kunna ha smittats av signalkräftorna. På grund av att ullhandskrabbor kan bära på kräftpest undersöks alla individer som skickas till SVA alltid med avseende på *A. astaci*.

Kinesisk ullhandskrabba kan även drabbas av Whitespot syndrome (vitprickig kräftdjurssjuka), en sjukdom med brett värdspektrum - alla hittills undersökta kräftdjur har visat sig mottagliga för

sjukdomen. Introduktion av sjukdomen i landet skulle få en starkt negativ effekt på de svenska kräftdjursbestånden, och därför analyseras alltid insända kräftdjur för denna sjukdom samtidigt med kräftpestanalysen.

WSSv påvisades inte i några 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 WSSv inte är värdspecifikt utan kan drabba ett brett spektrum av kräftdjursarter, och konsekvenserna om viruset börjar sprida sig i Europa kan bli 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 *Astahelohania* spp. som tidigare använts (histologi) har låg känslighet, varför det är stor risk att man förbiser fall av låggradig infektion. En egenutvecklad qPCR införlivades därför i diagnostiken 2021, och vi har under året i två fall kunnat påvisa parasiten hos döda flodkräftor, ett i samband med kräftpest, och ett inom SNIEF-projektet, där kräftor dött utan att kräftpest påvisades. Metodiken är validerad och har hög känslighet, varför vi bedömer att vi inom några år kommer att ha ett bättre kunskapsläge avseende parasitens förekomst i svenska kräftpopulationer. Ett problem är dock att parasiten paralyserar kräftan, vilket innebär att infekterade djur blir svåra att fånga då de inte går att locka med betning av kräftburar. Sjukdomen leder inte heller till den massdöd som kräftpesten orsakar, och som gör det lätt att hitta döda kräftor om man upptäcker utbrottet innan kräftorna blivit uppätta eller ruttnat. Detta kan medföra att porslinssjuka kommer att förbli underdiagnostiserad trots bra analysmetodik.

Dödsorsak har inte gått att fastställa i hälften av de åtta fall med kräftpestmisstanke som kom till SVA under 2022.

Det är oklart vad som skadat den ullhandskrabba som hade ett hål i skölden. Krabban såg också uråten ut, men det framgår inte av informationen kring djuren om de är fångade levande eller hittade döda. Det går därför inte att avgöra om de inre förändringarna är en del av en förruttnelseprocess eller följd av en sjukdom, men att krabban skulle ha kunnat leva i det skicket förefaller högst osannolikt.

Slutligen är det värt att notera att då kända mellanvärdar för *P. westermani* inte finns i Sverige är det inte särskilt troligt att parasiten kan fullfölja sin livscykel här. Nyintroducerade krabbor kan dock inte garanteras smittfria, och det är inte uteslutet att parasiten kan hitta lämpliga mellanvärdar i endemiska arter. Därför ska alltid rekommendationer som minimerar risken för zoonotisk spridning följas.

### **SLUTSATS**

Kräftpesten fortsätter att sprida sig i Sverige och fortsatt passiv och aktiv övervakning för att följa utvecklingen är viktig. Haplotypning kommer att ge möjlighet att spåra introduktion av nya varianter av kräftpest. Ännu finns inga tecken på introduktion av WSSv i populationerna av sötvattenskräftor. Med den nya qPCR:en för *A. contejeani* kommer vi att få en bättre överblick över förekomsten av denna parasit hos svenska sötvattenskräftor, samt en bättre förståelse för hur den påverkar hälsan hos inhemska flodkräftor.

## REFERENSER

Di Domenico M., Curini V., Caprioli R., Giansante C., Mrugała A., Mojžišová M., Cammà C., Petrušek A. (2021). Real-Time PCR Assays for Rapid Identification of Common *Aphanomyces astaci* Genotypes. *Frontiers in Ecology and Evolution* 9: 597585

Barthel Svedén, J., Reid, N. (2022). Kinesisk ullhandskrabba (*Eriocheir sinensis*) som bifångst i Mälaren. Fakta 2023:5, Länsstyrelsen Stockholm ISBN: 978-91-7937-215-6

Svoboda, J., Strand, D.A., Vrålstad, T., Grandjean, F., Edsman, L., Kozák, P., Kouba, A., Fristad, R.F., Bahadır K.S., Petrušek, A. (2014). The crayfish plague pathogen can infect freshwater-inhabiting crabs. *Freshwater Biology* 59: 918-929. <https://doi.org/10.1111/fwb.12315>

## Akutmedel och Rapportportalen

En rapport kom in till Rapportportalen i början av maj, då ett tiotal krabbtaskor (*Cancer pagurus*) hittats vid Tjuvkils huvud i Kungälv kommun, Västra Götalands län (Bild SK6). En del krabbor var döda, andra vid liv men medtagna.



**Bild SK6.** En av rapportörens bilder från Tjuvkils huvud. Foto: Jorunn Hellman.

Efter kontakt skickade rapportören in fyra individer till SVA för obduktion. Krabbtaskorna hade förvarats i frys innan inskick.

Vid yttre besiktning var alla fyra krabbor i fint skick, men en hade ett skarpt, färskt snitt som kapat bort ögonen (Bild SK7). Morfologiska data och fynd finns i Tabell SK2. Alla fyra var hanar.

Frysning påverkar kroppens celler, och eventuella sjukliga förändringar blir därmed svårare att bedöma om fixering och histopatologi genomförs. Trots detta fixerades vävnad för histopatologisk undersökning. Undersökningen visade inte på några uppenbara sjukliga förändringar.



**Bild SK7.** Individ 1 & 4 vid obduktion. Notera avskurna ögon på individ 4. Foto: Anna Aspán, SVA.

**Tabell SK2.** Morfologiska data, fynd samt prover uttagna för analys på fyra krabbtaskor

Observation <sup>1</sup>	Djur 1	Djur 2	Djur 3	Djur 4
Hel vikt (g)	488	568	613	713
Sköldbredd (cm)	14.5	15.0	15.5	16.0
Sködlängd (cm)	9.5	10.0	10.5	10.5
Klohöjd (cm)	3.8	3.7	4.1	3.7
Klolängd (cm)	3.5	3.5	3.5	3.4
Klobredd (cm)	2.0	1.8	2.2	2.2
Extremiteter	klor & fyra gångben intakta	Klor & sex gångben intakta	klor & alla åtta gångben intakta	klor & sju gångben intakta
Gonader	hane – vuxen	hane – vuxen	hane – vuxen	hane – vuxen
Svarta fläckar	Nej	Nej	Nej	Nej
Rosa fläckar	Nej	Ja	Ja	Ja
Annat på skölden	kalkmaskar	Nej	kalkmaskar	Skölden avhuggen vid ögonen, ögonen skadade
<b>Analys</b>				
<i>Janickina feisti</i> PCR-analys	Hepatopancreas, gälar & hjärta	Hepatopancreas, gälar & hjärta	ND	ND
Histopatologi	Ja	Ja	ND	ND
<i>Hepatopancreas</i>	Ja	Ja	-	-
<i>Gälar</i>	Ja	Ja	-	-
<i>Gonader</i>	Ja	Ja	-	-
<i>Klomuskel</i>	Ja	Ja	-	-
<i>Tarm</i>	Ja	Ja	-	-
<i>Antennkörtel</i>	ND	Ja	-	-

<sup>1</sup> Noterade mått och förändringar bygger på data från Haig et al. (2015). ND=ej genomfört.

Krabbtaskor är motståndskraftiga djur, som inte förefaller drabbas av många sjukdomar i vilt tillstånd. Skalsjuka, analogt med skalsjuka hos amerikansk hummer, kan drabba djur som hålls tätt

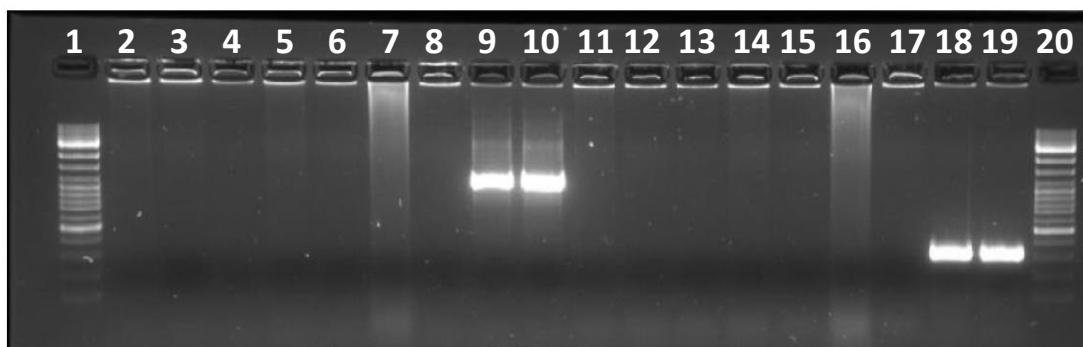


efter fångst, och orsakas troligen av bakterier med förmåga att bryta ner skalvävnad. Inga tecken på skalsjuka sågs på de inskickade individerna. Några parasitinfektioner finns beskrivna, såsom *Hematodinium* sp., *Paramarteilia canceri* och *Enterospora canceri* (Stentiford, 2008). *Hematodinium* är den enda parasit som beskrivits orsaka viss dödlighet, särskilt vid hållning/sumpning av krabbor efter fångst. Infekterade krabbor får sprickor med utsipprande vätska i skalet, vilket inte var fallet med de inskickade krabborna. Den histopatologiska undersökningen, som rutinmässigt utförs vid misstanke om mikroskopiska parasiter, var mycket svårtolkad då proverna varit frysta.

Vid förfrågan till OIEs referenslaboratorium för parasitinfektioner (Cefas, England) om möjliga orsaker till dödlighet hos krabbtaskor, fick SVA veta att de fått rapporter om förhöjd dödlighet i fångster av krabbtaskor i Engelska kanalen. Cefas hade därför undersökt döda individer och kunnat påvisa en amöba-art som infekterat krabbtaskorna. Sjukdomen har döpts till Amoebic crab disease (ACD) och orsakas av en paramöba-art som fått namnet *Janickina feisti* (Bateman et al., 2022).

Cefas försåg SVA med analysprotokoll samt med positivt kontrollmaterial för analys av *J. feisti* med hjälp av en nested (tvåstegs-) PCR. Som positiv kontroll användes en plasmid, också erhållen från Cefas, som konstruerats för att ge en positiv signal i denna PCR. Metoden beskrivs mer ingående i Bateman et al. (2022).

Alla fyra krabbtaskor var negativa för *J. feisti*. I Bild SK8 visas resultaten från PCR-reaktionerna för individ 1 och 2.



**Bild SK8.** Nested PCR avseende *J. feisti* på två krabbtaskor. I brunn 1–10 ses resultaten från steg 1, i brunn 11–20 resultaten från steg 2. Brunn 1 och 20 innehåller en storleksmarkör med DNA-fragment av känd storlek. Övriga brunnar innehåller från vänster till höger, med start i brunn 2 och 11 för respektive steg: gälar, hepatopancreas samt hjärta från individ 1; gälar, hepatopancreas samt hjärta från individ 2; ett blankprov (8, 17) samt två brunnar med positiv kontroll (9–10, 18–19).

Vi har inte hittat någon förklaring till varför krabbtaskorna hittats döda. Det skarpa snittet på en krabba såg mekaniskt ut, vilket kan indikera att de är en bifångst som dumpats nära stranden, och därmed inte har varit drabbade av någon sjukdom. Fyndet gjordes inte under krabbfiskesäsongen, och det är oklart om samtliga krabbor som hittats var hanar, i likhet med de fyra undersökta. Honor är mer eftertraktade under krabbfiskesäsongen, då de innehåller rom, och en tanke är att krabbfiskare som kan könsbestämma krabbor helt enkelt gjort sig av med alla hanar.

Trots att ingen sjukdom påvisats var insändningen av värde, då SVA nu har diagnostik uppsatt för sjukdomen Amoebic crab disease, och som kan användas om nya fynd av sjuka eller döende krabbor görs.



## REFERENSER

- Bateman K.S., Stentiford G.D., Kerr R., Hooper C., White P., Edwards M., Ross S., Hazelgrove R., Daumich C., Green M.J., Ivory D., Evans C., Bass D. (2022). Amoebic crab disease (ACD) in edible crab *Cancer pagurus* from the English Channel, UK. *Diseases of Aquatic Organisms* 150: 1 – 16.
- Haig, J.A., Pantin, J.R., Salomonsen, H., Kaiser, M. (2015). Size at maturity of the edible crab (*Cancer pagurus*) in Welsh waters. *Fisheries & conservation science* report No 51, Bangor University.
- Stentiford G.D. (2008). Diseases of the European edible crab (*Cancer pagurus*): A review. *ICES Journal of Marine Science* 65 (9): 1578 – 1592.

## Del 6. Blötdjur

### 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. Övervakningen sker passivt genom direkt rapportering till SVA:s fiskjour eller via rapportportalen. Ingen förekomst av ökad eller plötslig dödlighet rapporterades 2022, och därmed har inte heller några prover tagits.

### HAVSLEVANDE BLÖTDJUR

Övervakning av havslevande blötdjur inkluderades 2021 i uppdraget från HaV. Innan dess gjordes provtagning och analys (2009- 2020 med undantag för 2016) i samarbete med Jordbruksverket. Dessutom utnyttjas delar av materialet för ett gemensamt forskningsprojekt mellan SVA och Uppsala universitet.

### SAMMANFATTNING

Övervakning av hälsoläget hos platta/Europeiska ostron (*Ostrea edulis*) och blåmusslor (*Mytilus edulis*) sker längs den svenska västkusten. Ett bestånd av blåmusslor finns även i Östersjön men där är salthalten i vattnet så pass låg att de vanligaste musselparasiterna ej överlever. Under 2022 provtogs 150 platta ostron samt 150 blåmusslor. Varje individ vägdes och mättes samt undersöktes med avseende på synliga avvikelser. Från varje individ togs prover för histopatologisk undersökning samt för PCR. Undersökningarna är inriktade på att detektera de av EU listade infektionerna bonamios, marteilios, perkinsos och mikrocytos, men även andra patogener och skador på organ kan detekteras med hjälp av histopatologin. Ingen av de EU-listade parasiterna påvisades. Inga borstmaskar har påvisats i skal från blåmusslor. Ett fåtal borstmaskar har påvisats i enstaka ostronskal (*O. edulis*) på utsidan eller i mantelhålan. Ingen av dessa uppvisas dock morfologiska likheter med den invasiva borsmaskarten *Polydora websteri*. Därmed ser vi fortsatt ingen indikation på spridning till det platta ostronet eller blåmusslor.

### INTRODUKTION

Blåmusslor och platta ostron utgör några av de nyckelarter som bygger upp det marina ekosystemet längs den svenska västkusten. Ur ett internationellt perspektiv har de skandinaviska ostronpopulationerna ett stort bevarandevärde eftersom det platta ostronet decimerats kraftigt i andra europeiska kustområden till följd av bland annat omfattande sjukdomsspridning. I vissa kustområden där de platta ostronen helt försvunnit är de föremål för försök med återintroduktion. De encelliga parasiterna *Mikrocytos mackini* (orsakar mikrocytos) samt *Perkinsus marinus* och *P. olsenii* (orsakar perkinsos) är A-listade av EU. A-listning innebär att det inte finns någon känd förekomst av patogenen inom unionen och övervakning bör genomföras för att snabbt upptäcka introduktion. Vid fynd ska patogenen om möjligt utrotas. De encelliga parasiterna *Bonamia ostreae* och *B. exitiosa* (orsakar bonamios) samt *Marteilia refringens* (orsakar marteilios hos ostron) är C-listade av EU. Det innebär att infektionerna utgör ett problem inom vissa delar av unionen medan andra delar av unionen anses fria, samt att åtgärder ska vidtas för att undvika spridning till de fria områdena. Artnamnet *Marteilia pararefringens* (orsakar marteilios hos

blåmusslor) är inte listat, beroende på att OIE fortfarande räknar de två arterna som en (*M. refringens* typ O (oyster) och typ M (mussel)). Det innebär att *M. pararefringens* ingår i listningen för *M. refringens*.

Den sjukdom som främst hotar våra marina bestånd och då framför allt det platta ostronet är bonamios. Sjukdomen är vanligt förekommande i Europa. Bonamios förekommer närmast i vårt grannland Danmark, där den har spridits till hela Limfjorden. Sverige och Norge har i dagsläget en unik sjukdomsfrihet från bonamios. Därmed finns det stor anledning att skydda våra inhemska platta ostron.

Undersökningar 2017-2020 visade att Sverige med största sannolikhet är fritt från den anmälningspliktiga sjukdomarna bonamios och marteilios hos platta ostron. Marteilios hos blåmusslor, som påvisats i svenska vatten senast 2015, påvisades inte heller under tidsperioden. Undersökningarna syftar till att följa upp det goda hälsoläget längs den svenska västkusten genom fortsatt kontroll och bevakning av våra havslevande blötdjurspopulationer men också till att ge faktastöd för att förhindra import från redan smittade kustområden i andra delar av Europa. Området som övervakas är den svenska västkusten, där skörd av både vilda och odlade musslor sker kontinuerligt under året. Ett viktigt framtida fokus och inriktningen för dessa undersökningar är de vilda blötdjurspopulationernas hälsostatus. Hittills är det enbart *M. pararefringens* av ovanstående patogener som påvisats i svenska vatten. Sverige skulle utifrån detta ha möjlighet att skapa ett övervakningsprogram med potential att ge landet frihetsstatus avseende bonamios. Då OIE i dagsläget ej accepterar *Marteilia pararefringens* som en egen art kan det möjligen vara svårare att få frihetsstatus avseende marteilios men då det är så pass länge sedan arten påvisades bör möjligheterna vara goda.

### Syfte

Övervakningen av havslevande blötdjur inriktar sig främst på hälsostatusen hos blåmusslor och ostron. De sjukdomar som primärt undersöks är bonamios, marteilios, perkintos och mikrocytos. Alla dessa infektioner listas av EU. I övrigt möjliggör provtagningen övervakning av andra, makroskopiskt eller mikroskopiskt synliga, sjukliga förändringar hos musslor och ostron.

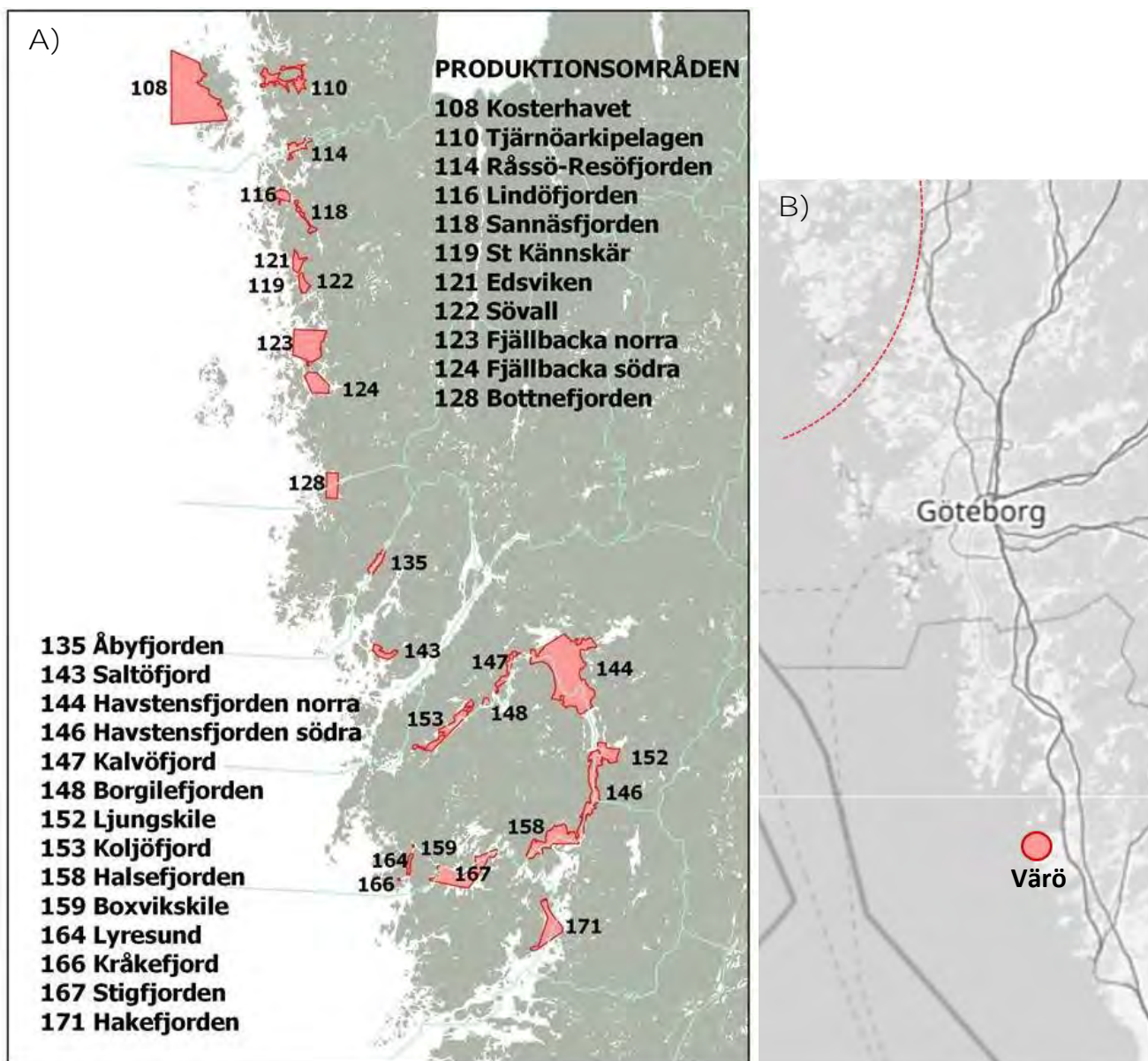
## MATERIAL OCH METODER

### Provinsamling

Vilda populationer av blåmusslor och platta ostron provtogs. Insamling sker i produktionsområden belägna på västkusten (Bild HB1A) samt från Värö söder om produktionsområdena (Bild HB1B), och fördelat på 5 olika lokaler för blåmussla och 5 lokaler för ostron (båda arterna från vissa lokaler). Från varje lokal samlades 30 individer in, vilket genererade 150 individer av respektive blåmusslor och ostron. Djuren skickades levande till SVA.

### Provuttag

Både musslor och ostron vägdes, mättes och skalens utsida inspekterades okulärt innan djuren öppnades. Efter öppning inspekterades insida av skal samt djurkroppen. Eventuella skalskador undersöktes specifikt för borstmaskar under lupp. Vävnad (ett tvärsnitt inkluderande mage, digestionskörtel, gälar, bindväv, mantel och gonader) **fixerades i Davidson's marine fixative** för histopatologisk undersökning och gälar togs ut för qPCR enligt metodbeskrivning från EU:s referenslaboratorium för blötdjursjukdomar/IFREMER ([Diagnostic manual - EURL for Molluscs Diseases \(eurl-mollusc.eu\)](http://Diagnostic%20manual%20-%20EURL%20for%20Molluscs%20Diseases%20(eurl-mollusc.eu))). Kompletterande prover togs ut parallellt och sparades för eventuell



**Bild HB1. A)** Produktionsområden för blötdjur i Sverige, karta från Livsmedelsverket. Platta ostron och blåmusslor från produktionsområde 108, 118 och 121, platta ostron från produktionsområde 143 och 158 samt blåmusslor från produktionsområde 110 har undersökts. **B)** I tillägg har blåmusslor från Värö i Halland undersökts, kartunderlag från <https://rls/rt90>. Den streckade röda linjen i bildens överkant anger den ungefärliga södra gränsen för produktionsområdet i **A**).

verifierande diagnostik om misstanke om anmälningspliktig sjukdom identifieras vid qPCR eller histopatologisk undersökning. Dessutom togs ett antal prover ut i forskningssyfte inom ramen för ett doktorandprojekt. Dessa prover rapporteras inte vidare här.

### Laboratorieanalyser

För histopatologisk undersökning gjordes rutinmässig preparering med inbäddning i paraffin, snittning och färgning med Hematoxylin & Eosin (HE), se Del 1. Havslevande fisk.

Bonamios hos ostron analyseras primärt med en qPCR (EURL Bonamia SOP, opublicerad). Konfirmering av diagnosen görs med histopatologisk undersökning. Övriga infektioner (martellios,

perkinsos och mikrocytos) diagnosticeras primärt genom histopatologisk undersökning och konfirmeras med qPCR enligt följande: marteilios ([EURL Marteilia SOP, opublicerad](#)), perkinsos ([WOAH Aquatic Manual 2021, Gauthier et al., 2006](#)) och mikrocytos ([EURL Mikrocytos SOP, Polinsky et al., 2015](#))

## RESULTAT

Under juli-november skickades 150 blåmusslor och 150 ostron till SVA. Från produktionsområde 108, 118 och 121 skickades både musslor och ostron. Från produktionsområde 143 och 158 skickades enbart ostron och från produktionsområde 110 samt Värö skickades enbart musslor.

Samtliga 150 ostron var negativa avseende bonamios både på qPCR och vid histopatologisk undersökning. Den histopatologiska undersökningen var också negativ för marteilios, perkinsos och mikrocytos. Samtliga 150 blåmusslor var negativa avseende marteilios vid histopatologisk undersökning (Tabell HB1). Resultaten rapporterades vid EU:s årliga referenslaboratoriemöte, arrangerat av EURL för mollusksjukdomar/IFREMER i maj 2023.

**Tabell HB1. Hälsokontroll av anmälningspliktiga sjukdomar hos havslevande blötdjur 2022.**

Art	Produktionsområde	Antal djur	Analys			
			<i>Bonamia</i> sp. qPCR	<i>Marteilia</i> sp. histologi	<i>Perkinsus</i> sp. histologi	<i>Mikrocytos mackini</i> histologi
Platta ostron	Sydoster / 108	30	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Platta ostron	Havsstensund / 118	30	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Platta ostron	Edsviken / 121	30	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Platta ostron	Saltfjord / 143	30	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Platta ostron	Halsefjorden / 158	30	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Blåmussla	Sydoster/ 108	30	-	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Blåmussla	Havsstensund / 118	30	-	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Blåmussla	Edsviken / 121	30	-	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Blåmussla	Värö/-	30	-	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad
Blåmussla	Tjärnö / 110	30	-	Ej påvisad	Ej påvisad	Ej påvisad

Avvikelser som noterades vid besiktning och histologisk undersökning var främst förändringar av gonadfolliklar eller minskning/avsaknad av gonader. Därutöver har också skaldeformationer och missfärgningar av pärlemor noterats i flera av de undersökta områdena. Könsfördelningen varierade mellan provtagningslokalerna. Fynd som påvisades vid makroskopisk och histopatologisk undersökning och redovisas i Tabell HB2. Till exempel noterades hög prevalens av digena trematoder hos blåmusslor (18 individer/57%) i Havstessund.

Inga borstmaskar påvisades i skal från blåmusslor. Ett fåtal borstmaskar isolerades från enstaka ostronskal (*Ostrea edulis*) på utsidan eller i mantelhålan. Ingen av de undersökta borstmaskarna uppvisade morfologiska karaktärer som indikerade förekomst av *P. websteri*.



**Tabell HB2. Fynd av icke anmälningsskyldiga sjukdomar vid hälsokontroll av blåmusslor och platta ostron 2022.**

Månad	Produktions- område	Art	Antal djur	Könsfördelning <sup>1</sup>				Fynd i inre organ			
				1	2	3	4	Digestionskörtel	Digestionskörtel/ Stödjevävnad	Stödjevävnad	Stödjevävnad/ muskel/gonad
								Ciliat	Haemocytisk neoplasi	Digen trematod, Metacercarie	Digen trematod <i>Bucephalus</i> sp.
Sep	Sydskoster / 108	Platta ostron	30	2	18	5	5	0	0	0	0
Okt	Saltöfjord / 143	Platta ostron	30	7	9	14	0	0	0	0	0
Okt	Halsefjorden / 158	Platta ostron	30	4	6	19	1	0	0	0	0
Nov	Havsstensund / 118	Platta ostron	30	10	7	11	2	0	0	0	0
Nov	Edsviken / 121	Platta ostron	30	4	9	11	4	0	0	1	0
Jul	Tjärnö / 110	Blåmussla	30	14	11	0	5	0	0	1	0
Aug	Värö/-	Blåmussla	30	11	13	3	3	0	0	0	0
Sep	Sydskoster/ 108	Blåmussla	30	10	3	1	16	0	0	1	0
Nov	Havsstensund / 118	Blåmussla	30	13	16	0	1	0	0	17	0
Nov	Edsviken / 121	Blåmussla	30	11	18	1	0	0	0	0	0

<sup>1</sup> 1: hane, 2: hona, 3: hermafrodit, 4: odifferentierad gonad

Ingen anmälningsskyldig infektion påvisades. Detta tyder på fortsatt frihet från samtliga anmälningsskyldiga infektioner. Underlaget för detta är något svagare för marteillios orsakad av *M. pararefringens* då denna tidigare påvisats i landet, dock senast 2015 trots upprepade undersökningar av musslor från de områden där smittan påvisades.

I likhet med undersökningarna 2021 sågs ingen indikation på förekomst av den invasiva borstmaskarten *Polydora websteri* i platta ostron. Detta tyder på att spridning från japanska jätteostron till inhemska platta ostron inte skett. När det gäller blåmusslor sågs sporadisk förekomst av olika skalförändringar i pärlemorskiktet, men ingen av dessa förändringar har kunnat kopplas till borstmaskförekomst.

Ett fall av Haemocytisk neoplasi noterades vid förra årets undersökningar. Inget nytt fall noterades detta år. Sjukdomen försvagar musslorna och ger påverkan liknande leukemi hos däggdjur. Orsaken är okänd. Fortsatt årlig kontroll av histopatologiska snitt i samband med övervakningen av de anmälningsskyldiga sjukdomarna är viktiga för att säkerställa att problemen ej ökar.

Könsfördelningen varierade mellan provtagningslokalerna men eftersom djuren samlats in vid olika tidpunkter från högsommar till tidig vinter kan detta påverka könsfördelningen. I förra årets rapport diskuterades att utvecklingen av könskaraktärer tycks vara lägre hos vissa bottenlevande musselpopulationer (till exempel Havsstensund) jämfört med fritt hängande blåmusselpopulationer (Edsviken/ Grebbestad) insamlade från bryggor. En teori var att en ännu ej beskriven encellig parasit påverkar gonaderna. Försök att odla och artbestämma eventuella sådana parasiter utförs för tillfället i ett separat forskningsprojekt. När musslorna dör skulle denna parasit i så fall ansamlas i stora mängder vid botten medan de övre vattenlagren skulle vara fria från parasiter/ha lägre parasittäthet. Årets resultat talar dock emot detta. Musslorna från Havsstensund hade väl differentierade gonader. En anledning till detta kan vara att musslorna provtogs vid olika tidpunkter. Under 2021 provtogs musslor från Havsstensund under oktober månad medan motsvarande undersökning 2022 gjordes under november. Musslorna från Sydskoster som hade lågt differentierade gonader både 2021 och 2022 provtogs under september båda åren. Merparten

av övriga provtagningar där musslorna hade normalt differentierade gonader gjordes antingen tidigare under sommaren eller senare under höst/vinter. Med tanke på detta skulle beskrivna avvikelser i gonaderna kunna bero huvudsakligen på att musslorna nyligen fortplantat sig, och att gonaderna då befinner sig i en refraktär period med låg celldifferentiering.

Bottenlevande blåmusselpopulationer har enligt uppgifter från ostronfiskare (Bröderna Klemming, *pers. kommentar*) saknats i vissa områden under flera år där de historiskt har förekommit. I en artikel från Göteborgs universitet (Baden et al., 2021) förstärks denna bild av att bottenlevande blåmusselpopulationer tycks vara på tillbakagång eller har försvunnit i vissa områden där de tidigare förekommit.

Provtagning avseende sjukdomar hos musslor och ostron har genomförts regelbundet vid SVA sedan 2009. Detta för att kunna upprätthålla smittskyddet och följa eventuella förändringar av hälsoläget. Arbetet har skett årligen med undantag för 2016 och ända fram till 2020 i samverkan med Jordbruksverket. Från 2021 sker istället denna uppföljning utifrån ett ekosystemperspektiv och som en del av hälsoövervakningen av vildlevande akvatiska djur. Möjlighet till tidig sjukdomsupptäckt är viktig som skydd för den vattenbruksnäring som odlar två marina livsmedel vi idag värderar högt. Musslor och ostron är också viktiga ur ett ekosystemperspektiv för upptag och balansering av näringsnivåer i ett hav med hög näringsbelastning. Västkusten utgör en liten del av Sveriges kust, och är med sin höga salthalt det enda området med förutsättningar att föda en stor population av musslor och ostron, eftersom havet har en rik och diversifierad primärproduktion. Därmed utgör dessa djur en viktig och långsiktigt hållbar resurs både som livsmedel och som nyckelarter ur ett ekosystemperspektiv. Idag utsätts dock detta ekosystem för omfattande stressfaktorer och klimatförändringar och det finns indikationer på långsiktiga förändringar avseende blåmusselbestånden, där multipla faktorer kan samspela för att sätta stopp för denna arts etablering, spridning och nyrekrytering längs den svenska västkusten, vilket försämrar möjligheten till framtida livskraftiga bestånd i många områden.

### Slutsats

Under 2022 har ingen anmälningspliktig infektion påvisats vid undersökning av platta ostron eller blåmusslor. Icke anmälningspliktiga infektioner/förändringar förekom sporadiskt på flera lokaler. Det mest oroande fyndet vid årets provtagning är de förändringar som noterats i gonaderna. Parasitpåverkan kan vara en del i problemet, liksom var i fortplantningscykeln djuren befann sig, i men orsaken måste utredas närmare under kommande år.

### REFERENSER

Baden, S., Hernroth, B., Lindahl, O. (2021). Declining populations of *Mytilus* spp. in North Atlantic coastal waters – A Swedish perspective. *J Shellfish Res* 40(2): 269-296. [https://doi: 10.2983/035.040.0207](https://doi.org/10.2983/035.040.0207).

Gauthier, J.D., Miller, C.R., Wilbur, A.E. (2006). TaqMan® MGB real-time PCR approach to quantification of *Perkinsus marinus* and *Perkinsus* spp. in oysters. *Journal of Shellfish Research* 25: 619–624. doi:10.2983/0730-8000(2006)25[619:TMRPAT]2.O.CO;2

Polinski, M., Lowe, G., Meyer, G., Corbeil, S., Colling, A., Caraguel, C., Abbott, C.L. (2015). Molecular detection of *Mikrocytos mackini* in Pacific oysters using quantitative PCR. *Molecular and Biochemical Parasitology* 200: 19–24. doi:10.1016/j.molbiopara.2015.04.004

SVA (2022). Hälsoövervakning av vildlevande fisk, kräftdjur och blötdjur 2021. Del 6. Blötdjur. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten, oktober 2022

## Del 7.

# Rapportportalen

Rapportportalen har funnits tillgänglig sedan maj 2016 och var från början främst avsedd för rapportering av laxfisk. Förändringar genomförs vid behov för att öka användarvänligheten och fyndlistan övervakas kontinuerligt av SVA för att snabbt fånga upp fall som kan behöva undersökas.

Rapporteringen görs på <https://rapporterafisk.sva.se>. Det finns möjlighet att bifoga bilder och SVA är ytterst tacksamma ifall koordinater (kan plockas upp per automatik av sidan om telefonen tillåter detta) samt kontaktuppgifter anges för att möjliggöra att eventuella frågetecken från rapportören eller SVA rätas ut. Ett återkommande problem är att sälar och tumlare rapporteras som fisk, trots att information med länkar till korrekta rapporteringssidor ligger som introduktionstext ovanför rapporteringsformuläret. Sådana rapporter skapar merarbete och SVA ber därför användarna i stället använda de korrekta länkarna.

Alla rapporter som kommer till SVA och har koordinater angivna kan ses på en karta <https://rapporterafisk.sva.se/Fynd/Map>, som kan filtreras med avseende på år (2018–2023) och fiskgrupp (ex laxfiskar). Under kartan finns data i tabellform, där rapporteringsdatum, fiskgrupp, vattensystem, län, kommun och koordinater anges. Det finns också en statistiksida <https://rapporterafisk.sva.se/Fynd/Statistik> där totala antalet rapporter per månad samt antalet rapporter avseende laxfisk per månad visualiseras för innevarande och föregående år.

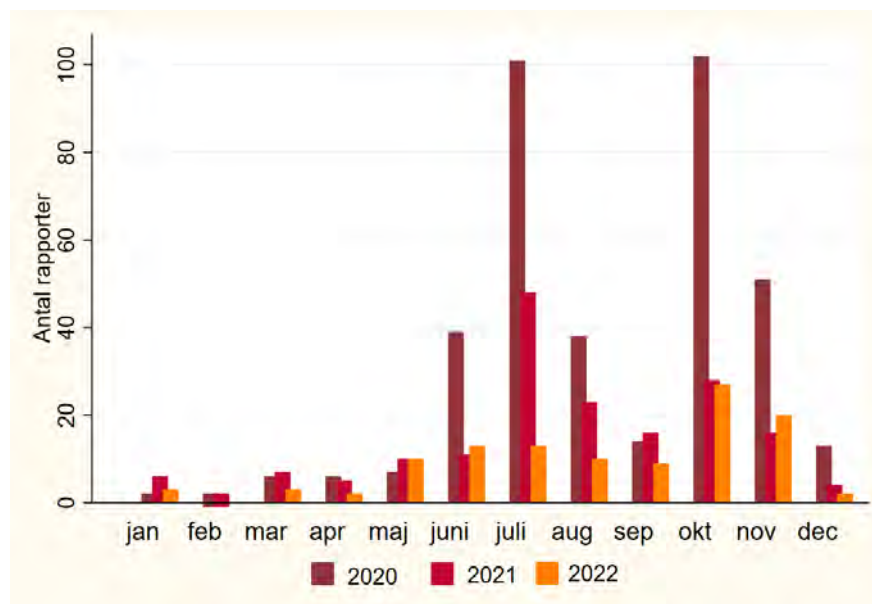
### SUMMERING AV INKOMNA RAPPORTER 2022

#### Tids- och artmässig fördelning av rapporter

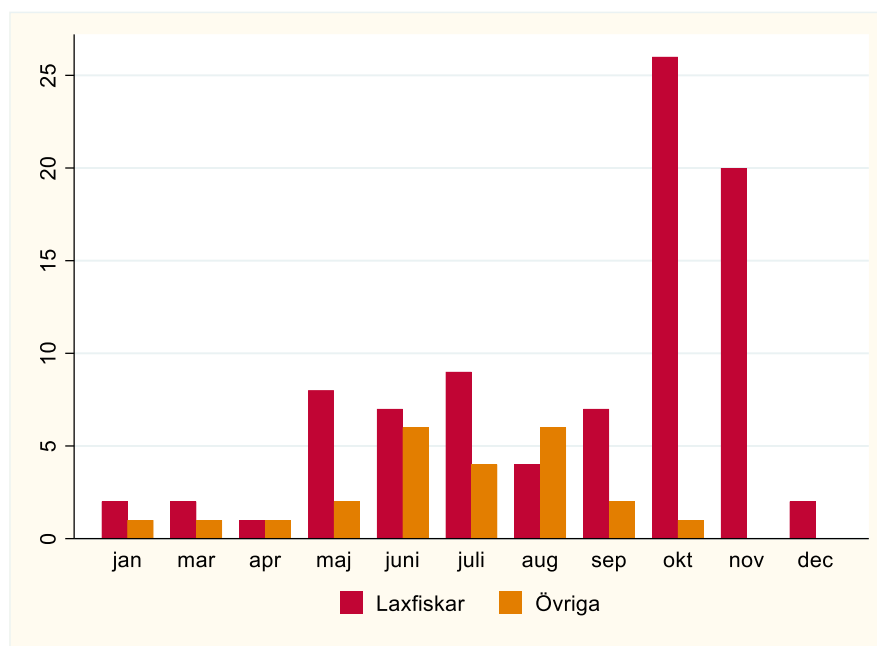
Under 2022 kom totalt 112 rapporter avseende fisk, kräftdjur eller blötdjur in via SVA:s rapportportal. Av dessa fanns en misstänkt dubbelrapport men bilder saknades. De har därför hanterats som enskilda rapporter, men rör sannolikt samma utbrott. Rapportering skedde under alla månader utom februari. Rapporteringen per månad var: januari 3 st, februari 0 st, mars 3 st, april 2 st, maj 10 st, juni 13 st, juli 13 st, augusti 10 st, september 9 st, oktober 27 st, november 20 st och december 4 st. Under 2016–2020 har rapporteringen följt ett bimodalt mönster med en topp under sommaren och en topp under senhösten. Under 2021 var detta något utplanat och trenden var ännu tydligare under 2022, då det för första gången en kraftig övervikt för rapportering under senhösten (oktober-november) jämfört med sommarmånaderna (Figur R1).

Laxfiskar dominerade liksom tidigare år rapporteringen med 87 rapporter, och var också den fiskgrupp som bidrog till den kraftiga toppen på hösten (Figur R2). Övriga fisk- kräft- eller blötdjursarter förekom i 25 rapporter.

**Figur R1.** Månadsvis inrapportering av sjuk, skadad eller död fisk till SVA under 2020–2022



**Figur R2.** Fördelning av rapporter avseende laxfiskar och andra arter än laxfisk under 2022.



I årets rapportering för familjen laxfiskar ingick arterna lax (*Salmo salar*), havsöring och stationär öring (*Salmo trutta*), regnbåge (*Oncorhynchus mykiss*), röding (*Salvelinus alpinus*) och sik (*Coregonus* sp.). I det fall där art (oftast lax eller havsöring) inte kunde säkerställas benämns rapporterna som ”laxfisk annan”. **Lax dominerade antalet rapporter följt av stationär öring.** Tabell R1 visar antalet rapporter per art under 2022 jämfört med 2020–2021. Rapporteringen hade minskat avseende alla arter utom regnbåge och sik, där antalet rapporter hade dubblerats. Dock var antalet rapporter så få, två respektive fyra, att inga slutsatser kan dras avseende ökningen.

**Tabell R1. Fördelning av rapporter inom gruppen laxfiskar under 2022 jämfört med 2020–2021**

Art	Antal 2020	Förändring 20–21	Antal 2021	Förändring 21–22	Antal 2022
Lax	216	-63%	80	-29%	57
Havsöring	41	-66%	14	-64%	5
Laxfisk annan	15	-80%	3	+67%	5
Röding	11	-45%	6	-17%	5
Stationär öring	10	0%	10	-10%	9
Regnbåge	0	-	2	+100%	4
Harr	3	0%	3	-100%	0
Sik	20	-95%	1	+100%	2
<b>Totalt</b>	<b>316</b>	<b>-62%</b>	<b>120</b>	<b>-27.5%</b>	<b>87</b>

För övriga fiskgrupper utom laxfiskar kom totalt 25 rapporter om 12 olika arter (Tabell R2). Flest rapporter rörde gädda och abborrfiskar med fem rapporter vardera. Förutom en rapport om krabbtaskor avsåg samtliga rapporter fisk.

### Typ av observationer

”Fångst-/observationsmetod” (Tabell R3) har registrerats eller i efterhand kunnat bedömas för **106 rapporter. Sex rapporter kategoriseras som ”okänt”. Vanligast var att fisken observerats svag/döende eller död (totalt 71 st). ”Annan” inkluderade fisk som observerats levande (inte döende) eller uppenbart fångats men metod inte angetts.**

Typ av skada/symptom har angetts i 107 rapporter. I 74 rapporter har ett symptom noterats, i 19 rapporter har två symptom noterats och i resterande 14 rapporter har tre till fem symptom noterats. Svamp/vita fläckar var det vanligaste symptomet och förekom i totalt 62 rapporter (Tabell R4), varav 41 rapporter angav svamp/vita fläckar som enda symptom. Svamp/vita fläckar **representerades därmed i 55% (21 av 38) rapporter med multipla symptom.** ”Annan typ av fläckar” representeras också i flertalet fall av svamp, som ibland kan se mer brunaktig ut beroende på vattnets färg och vilken svampart det rör sig om. 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 (till exempel rodnad och blödning) är relaterade till svampangreppet och inte har föregått detta. Sårskador som rapporterades var både av mekaniskt, misstänkt infektiöst eller oklart ursprung (gamla, inflammerade sår). En del rapporterade bit/rivsår hade också möjligen uppkommit på kadavret och inte medan fisken levde.



**Tabell R2. Fördelning av rapporter per fiskgrupp utom laxfiskar under 2020–2022**

<b>Grupp</b>	<b>Art</b>	<b>Antal 2020</b>	<b>Antal 2021</b>	<b>Antal 2022</b>
<b>Abborrfiskar</b>	Abborre	12	4	5
	Abborrfiskar annan	1	0	0
<b>Egentliga malar</b>	Mal	0	1	0
<b>Gäddor</b>	Gädda	20	7	5
<b>Hajar</b>	Pigghaj	0	1	0
<b>Kantnålsfiskar</b>	Kantnålsfiskar annan	1	0	0
<b>Karpfiskar</b>	Björkna, Braxen, Faren	6	2	1
	Löja (benlöja)	2	0	1
	Sutare	1	0	0
	Karp	0	1	0
	Mört, vimma, färna etc.	0	1	1
<b>Klumpfiskar</b>	Klumpfisk	1	0	0
<b>Läppfiskar</b>	Snultra	0	1	0
<b>Makrillfiskar</b>	Makrill	1	1	0
	Tonfisk	1	0	0
<b>Makrillgäddor</b>	Makrillgädda	1	0	0
<b>Nejonögon</b>	Havsnejonöga	1	0	0
<b>Norsfiskar</b>	Nors	0	0	1
<b>Näbbgäddefiskar</b>	Näbbgädda	0	1	0
<b>Plattfiskar</b>	Piggvar	0	1	0
	Rödspätta	0	0	1
	Skrubba	4	1	1
<b>Ringbukar</b>	Ringbuk	0	1	0
<b>Sillfiskar</b>	Sill	0	0	3
<b>Smörbultar</b>	Svartmunnad smörbult	1	0	0
<b>Spiggar</b>	Storspigg	2	14	1
	Spigg annan	2		
<b>Tobisfiskar</b>	Tobis	0	1	0
<b>Torskfiskar</b>	Torsk	2	0	0
	Lake	0	1	
<b>Ålfiskar</b>	Ål	5	8	4
<b>Flera arter</b>		0	3	0
<b>Okänd</b>		0	3	0
<b>Kräftdjur</b>	Signalkräfta	0	2	0
	Krabbtaska	0	0	1
<b>Bläckfiskar</b>	Tioarmad bläckfisk	0	1	0
<b>Totalt</b>		<b>64</b>	<b>56</b>	<b>25</b>

Tabell R3. Fördelning av fångst-/observationsmetoder i rapporter för 2021

"Fångstmetod" Art/fiskgrupp	Totalt	Död	Svag/ döende	Spinn	Fluga	Trolling/ harling	Pimpel	Nät	Håv	Fälla	Annan	Okänt
Lax	57	13	24	4	7	-	-	1	2	-	1	5
Lax el. havsöring	5	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Havsöring	5	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Stationär öring	9	-	6	1	1	-	-	-	-	-	1	-
Regnbåge	4	-	2	-	-	-	-	-	1	-	1	-
Röding	5	-	1	-	-	-	1	-	1	-	2	-
Sik	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nors	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Abborrfiskar	5	-	-	2	-	-	1	-	-	-	2	-
Gädda	5	-	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-
Karpfiskar	3	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Plattfiskar	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ål	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Övriga	6	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Totalt</b>	<b>112</b>	<b>31</b>	<b>40</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>6</b>

Tabell R4. Symptom som rapporterats under 2022 samt jämförande siffror för 2020–2021. Alla enskilda registreringar av symptom finns med i tabellen, vilket innebär att samma rapport (2022) i 38 fall representeras av minst två symptom.

Rapporterat symptom	Antal 2020	Antal 2021	Antal 2022
Ingen synlig skada	22	24	13
Bit-/rivsår	19	7	8
Annat sår	35	10	9
Rodnad	38	18	8
Blödning	39	17	9
Fjällförlust	28	11	5
Svamp/vita fläckar	224	88	62
Utvärtes parasiter	18	13	6
Invärtes parasiter	17	13	6
Trasiga fenor	42	18	12
Annan typ av fläckar	29	12	11
Annat	42	25	11

## DISKUSSION

Rapporteringen minskade kraftigt under 2022. Det skulle kunna bero på en rapporteringströtthet, men det kan också delvis bero på en bättre hälsosituation hos laxen, som varit hårt drabbad av problem sedan 2014. Liksom 2021 upplevs problematiken med lax ha varit relativt låg under 2022 vid kommunikation med andra myndigheter (Länsstyrelser, Finska Livsmedelverket Ruokavirasto) samt folk som rör sig runt vattendragen. Minskningen avseende andra fiskar kan möjligen delvis bero på bättre vattenförhållandena sommartid (temperaturer, algblomningar).

Vi vet att det tidigare förekommit uppenbar underrapportering (i princip ingen rapportering till portalen trots att det går larm till länsstyrelse eller media om hälsoläget), och sådana situationer gör det svårt att följa utvecklingen i dessa älvsystem. SVA fortsätter därför att arbeta för att

sportfiskeorganisationer/fiskevattenägare/FVOF ska informera om rapporteringsfunktionen via sina hemsidor.

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. Det kan självklart vara svårt att uppskatta längd och vikt om man inte är inbiten fiskare, eller om man bara ser fisken på avstånd, men då finns möjlighet att lämna information i ett kommentarsfält. Merparten av rapportörerna är dock väldigt måna om att det ska bli bra och bifogar bilder och/eller förtydligar i kommentarsfältet samt lämnar kontaktuppgifter. Detta gör att vi kunnat komplettera rapporter vid avsaknad av uppgifter, funderingar eller ta in djuret/djuren 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 så länge allmänheten använder den, dvs. att det faktiskt sker rapportering, och vi jobbar kontinuerligt för att förbättra användarvänligheten för både rapportörer och oss själva.