

Anna Aspán
Djurhälsa och Antibiotikafrågor

Sofia Brockmark
Havs- och vattenmyndigheten
Box 11 930
404 39 GÖTEBORG
sofia.brockmark@havochvatten.se

RAPPORT AVSEENDE ARBETE UTFÖRT UNDER 2018 INOM RAMEN FÖR ÖVERENSKOMMELSE 2119-18/SVA AVTAL 2018/117 MELLAN HAVS- OCH VATTENMYNDIGHETEN OCH STATENS VETERINÄRMEDICINSKA ANSTALT

UNDERSÖKNINGAR AV VILDA KRÄFTDJUR

Fisksektionen vid Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor, SVA har under 2018 handlagt 13 uppdrag rörande kräftpest på flodkräftor, ett uppdrag rörande enbart porslings sjuka, två uppdrag rörande misstanke om kräftpest hos signalkräftor i anslutning till flodkräftvattnen, samt tre uppdrag för eDNA, under Havs- och Vattenmyndighetens (HaV) beviljade bidrag ur anslag 1:11. Det material som har sänts in har varit färska, frysta eller spritfixerade hela eller delar av kräftor samt filter och har kommit från kommuner, länsstyrelser och fiskevårdsföreningar.

1. SJUKDOMSDIAGNOSTIK AV FLODKRÄFTOR

avseende framförallt kräftpest (*Aphanomyces astaci*) för att klarlägga orsaker till kräftdöd i vildbestånd. Kräftorna ska även undersökas avseende parasiterna *Psorospermium spp.* och *Thelohania spp.* Länsstyrelserna i respektive län ska godkänna varje analys. Uppdraget kan även omfatta diagnostik på enstaka individer av andra vildfångade kräftdjur med misstänkt sjukdom. Havs- och vattenmyndigheten godkänner eventuella analyser. Analys avseende White spot syndrome virus ska utföras vid misstanke eller om övriga ovanstående agens har uteslutits som dödsorsak.

Metodik

Förekomst av svamphyfer från algsvampen *Aphanomyces astacus* har undersökts mikroskopiskt i hud och skaldelar från döda kräftor. Bitar av hud och muskel har undersökts med realtids-PCR för förekomst av *A. astacus*-DNA. Alla PCR-analyser utförs vid Avdelningen för Mikrobiologi, SVA. Dessutom har s.k. eDNA, insamlat med hjälp av vattenfiltrering, analyserats för förekomst av kräftpest och flod- respektive signalkräfta. *Thelohania*/poslinssjuka och *Psorospermium* spp. är två encelliga parasiter som i dagsläget undersöks genom makroskopisk och mikroskopisk undersökning.

Resultat

Resultat har kontinuerligt lämnats till insändare, Havs- och Vattenmyndigheten samt länsstyrelser. Totalt har kräftpest identifierats i sex fall - fyra i Göta älvs vattensystem i Värmland, och två i Ljungans vattensystem. I samtliga fall påvisades smittan på flodkräfta (*Astacus astacus*). Uppföljningsprovtagningar har i flera fall gjorts för att försöka fastställa hur utbrett ett utbrott varit i ett vattensystem.

Nedan beskrivs fallen separat utifrån kräftart och i kronologisk ordning.

SINGALKRÄFTA; misstanke om kräftpest, två uppdrag

U180904-0312, Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad

Signalkräftor från Trehörningsbäcken, i Hedströmmens vattensystem, Fagersta kommun. Där finns sedan tidigare flodkräftor, och nu hade signalkräftor fångats i kräftmjärde i bäcken. Signalkräftor är betraktade som resistent mot kräftpest, men i undantagsfall kan hög dödlighet också förekomma hos dessa. Signalkräftor kan fungera som bärare av algsvampen *Aphanomyces astaci* och därmed hålla smittan kvar i ett område. Spritfixerade signalkräftor från bäcken har undersöktes därför avseende kräftpest med realtids-PCR. Förekomst av kräftpestsvampen kunde ej påvisas med denna teknik.

U180919-0379, Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad

Två signalkräftor, fångade i Vårsjön, Helge å, Skåne, ett skyddsområde för flodkräfta, analyserades med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen kunde ej påvisas med denna teknik.

FLODKRÄFTA, misstanke om kräftpest, 12 uppdrag; misstanke om psorospermium /Thelohania 1 uppdrag

U180423-0232; Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad

Två flodkräftor (i T-röd) inkom från Hensviks Samfällighetsförening, Herräng, Uppland. Kräftorna sumpades under hösten 2017 och har förvarats så under vinter. Vid islossningen (15 april 2018) befanns alla sumpade kräftor döda. Misstanke fanns om död pga syrebrist, men man ville utesluta att kräftorna dött av kräftpest. Kräftorna var i mycket dåligt skick (förruttelse). Båda var honor med mycket rom, de var ca 10 cm långa, och vägde 18 respektive 22 gram. De hade melaniserade fläckar ffa på

stjärtens undersida. Detta är vanligt förekommande hos signalkräfta infekterade med kräftpest; hos flodkräfta hinner oftast inte melaninfläckar utvecklas då infektionsförloppet är så pass snabbt att de hinner dö innan fläckar utvecklas.

Undersökning avseende kräftpest (infektion med algsvampen *Aphanomyces astaci*) utfördes på organmaterial från de insända kräftorna. Materialet undersöktes med realtids-PCR för *A. astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen har inte kunnat påvisats hos de undersökta kräftorna med denna teknik.

U180523-0445, Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad En flodkräfta (i T-röd) har inkommit från Samserydsjöns fiskevårdsförening, Småland. Kräftan hade hittats död i sjön, och misstanke fanns att kräftan dött av kräftpest. Kräftan var i mycket dåligt skick (förruttelse), den var ca 6 cm lång, men då saknades stjärtflikarna, endast skaldelar återstod, och kön gick ej att fastställa.

Undersökning avseende kräftpest (infektion med algsvampen *Aphanomyces astaci*) har utförts på insänt material. Materialet undersöktes med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen kunde ej påvisas i skalresterna med denna teknik, vilket innebär att dödsorsaken ej gått att fastställa.

U180620-0425 Misstanke om kräftpest – kräftpest påvisad

Flodkräftor med misstanke om kräftpest pga dödlighet. Två flodkräftor inskickade i sprit från Billan, i Göta älvs vattensystem, funna döda strax nedom riksgränsen mot Norge. Den minsta kräftan, en hane (vikt 4,7g och 6,3 cm lång) var i mycket dåligt skick, flera gångben och båda klorna saknades. Den större kräftan, en hona, var i bättre skick med alla gångben och båda klorna kvar. (5,3 g, längd 8,5 cm utan klor och 10,5 med klorna inräknade). Materialet undersöktes med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen påvisades hos båda kräftorna med denna teknik. Undersökningen visade därför att kräftpest orsakat kräftornas död.

U180629-0128 Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad

En flodkräfta (i T-röd) inkom från Mörtebäcken, Göta älvs vattensystem, Värmland. Kräftan var i mycket dåligt skick (förruttelse), mestadels skaldelar (ryggsköld, stjärtdelar och en klo) återstod,, och kön gick ej att fastställa. Materialet undersöktes med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen kunde ej påvisas i skalresterna med denna teknik., vilket innebär att dödsorsaken ej gått att fastställa

U180629-0129 Misstanke om kräftpest – kräftpest påvisad

Två rör med flodkräftor inskickade i sprit från Bodälven i Göta älvs vattensystem, Värmland med misstanke om kräftpest på grund av dödlighet..

I rör 1, märkt "Bodälven vid bron, nedströms Älgsjön, 20180626", fanns en kraftigt förruttad kropp samt två klor.

I rör 2, märkt "Bodälven Huset 20180626" fanns också en kraftigt ruttnad kropp, ev delar av mer än en kräfta och två klor, samt en mindre kräfta med klor och gångben i behåll (4 cm utan klor, ca 5 cm med klor).

Material togs ut och undersöktes med med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen har påvisats hos båda kräftorna i rör nummer 2 med denna teknik. Materialet från rör nummer 1 var negativt för kräftpest. Undersökningen visar att kräftpest orsakat kräftornas död.

U180705-0340, Misstanke om kräftpest – kräftpest påvisad

Flodkräftor inskickade från sex platser i Ljungans vattensystem med misstanke om kräftpest pga dödlighet..

- Viskarsbäcken: fem stycken flodkräftor (vikt 2,2 gram, längd 3,5 cm, enbart stjärten - huvud och framkropp saknas; vikt 2,2 gram längd 3,5 cm, enbart stjärten - huvud och framkropp saknas; vikt 10,1 gram, längd 6 centimeter, hane; vikt 11,4 gram, längd 6,5 cm, hona utan rom; vikt 14,3 gram, längd 8,5 cm, hane. Djur ett och två saknar framkropp, klor och gångben, djur tre saknar en klo. Djur 4 och 5 i gott skick. Prov uttaget för kräftpestanalys från djur 4 och 5.
- Ångsjön: två flodkräftor (vikt 38,8 gram, längd 9,4 cm, hane; vikt 54,9 gram, längd 11,5 cm, hane (längdmått utan klor)). Båda djuren i gott skick, med klor och gångben i behåll. Prov uttaget för kräftpestanalys från båda kräftorna.
- Bysjön; tre flodkräftor (vikt 23,5 gram, längd 8,5 cm, hane; vikt 23,5 gram, längd 8,5 cm, hane; vikt 26,9 gram, längd 9 cm, hane (längdmått utan klor)). Alla tre i gott skick, ganska mörka under stjärten. Djur 3 har en liten skalskada under stjärten. Prov för kräftpest analys uttagna från djur 2 och 3.
- Ljungans utlopp: 2 flodkräftor (vikt 15,4 gram, längd 8,0 cm, hane; vikt 25,0 gram, längd 9,5 cm, hane (längdmått utan klor)). Djur nr 1 saknar två gångben, annars i gott skick. Provtagning av från båda kräftorna för kräftpest analys.
- Eda Boda: fem flodkräftor (vikt 13,6 gram, längd 7 cm, hane; vikt 23,7 gram, längd 9 cm, hane; vikt 29,5 gram, längd 9 cm, hane; vikt 40,3 gram, längd 11 cm, hane; vikt 40,5 gram, längd 11,5 cm; hona utan rom (längdmått utan klor)). Alla i gott skick. PCR prov uttagna från djur 4 och 5.
- Ovansjö: 4 individer (vikt 20,3 gram, längd 9,5 cm, hona med några romkorn under stjärten; vikt 32,7 gram, längd 10,3 cm, hona utan rom; vikt 37,6 gram, längd 11,5 cm, hona utan rom; vikt 76,8 gram, längd 13,5 cm, hane (längdmått utan klor)). Alla i gott skick, prov uttagna för PCR analys från djur 3 och 4.

Två individer per provtagningsplats undersöktes med realtids-PCR-teknik avseende *Aphanomyces astasci*. Förekomst av kräftpestsvampen påvisades hos kräftor från alla sex provtagningsplatserna. Undersökningen visar därför att kräftpest orsakat kräftornas död.

U180724-0568 Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad

Spritfixerade kräftdelar inkom ifrån Dyrån och Göransåsbäcken i Ljungans vattensystem för undersökning avseende kräftpest. Flaskan märkt Dyrån innehöll skaldelar från minst två kräftor. Flaskan märkt Göransåsbäcken innehöll en kräfta

och skaldelar från ytterligare kräftor. Materialet var inte färskt vid fixeringen, då inre organ från kräftorna saknades.

Vid den mikroskopiska undersökningen observerades svamphyfer, men realtids-PCR avseende *Aphanomyces astaci* var negativ, det vill säga kräftpest kunde inte påvisas i vare sig Dyrån eller Göransåsbäcken. Provmaterialet var inte helt tillfredställande, då kräftorna redan var stadda i förruttelse vid fixeringen i sprit.. Enligt uppgift förekom både levande och döda flodkräftor vid provinsamlingen, vilket indikerar att kräftpest inte var orsaken till dödlighet. Det är troligt att de observerade svamphyferna, som observerades mikroskopiskt, är naturligt förekommande svampar som växt till efter kräftornas död.

U180730-0185 Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad

Spritfixerade flodkräftor inkom från Skärsjön, Långaryd, Halland, för undersökning avseende kräftpest. Kräftorna inkom i två burkar märkta Flaska A (självdöd) respektive B (avlivad).

Mikroskopi visade på en riklig förekomst av *Psorospermium* spp. i huden under ryggskölden hos kräftan i Flaska A. Sparsam förekomst av *Psorospermium* sp, observerades i huden hos kräftan ifrån Flaska B. Ingen av kräftorna visade tecken på kräftpest.

Realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci* var negativ för båda kräftorna, det vill säga kräftpest kunde inte påvisas.

Psorospermium spp. är vanligt förekommande hos flodkräftor och bedöms inte ha någon större inverkan på kräftans hälsa.

U180817-0323 Misstanke om kräftpest – kräftpest påvisad

Fem spritfixerade flodkräftor från Humsjöbäcken, i Göta älvs vattensystem, Sunne kommun i Värmland på grund av dödlighet..

Individ 1, en hanne, vägde 18,3 gram och var 9,5 cm lång (utan klor). Individen saknade en klo men var annars i gott skick, med alla gångben och pleopoder i behåll. Individ 2, en hona, vägde 7,2 gram och var 7 cm lång (utan klor), hon hade förlorat en klo, och hade de flesta gångben och pleopoder i behåll, däremot fanns melaniserade fläckar på stjärtskölden och mörka partier på huden under stjärten. Individ 3, en hanne som vägde 3,2 gram och var 5,2 cm lång (utan klor) var i gott skick, med klor, gångben och pleopoder i behåll. Individ 4, en hona med en vikt på 2,6 gram och längd om 5,0 cm (utan klor) var också i mycket gott skick. Den sista individen, individ 5, var en hona som vägde 0,9 gram och var 3,8 cm lång. Denna individ var i sämst skick, saknade klor, de flesta gångben och pleopoder och var stadd i viss förruttelse.

Material togs ut och undersöktes med med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen påvisades. Undersökningen visar därför att kräftpest orsakat kräftornas död.

U180823-0371 Misstanke om kräftpest – kräftpest påvisad

Spritfixerade kräftdelar inkom från Vadälven i Göta älvs vattensystem för undersökning avseende kräftpest.

Material togs ut och undersöktes med med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Förekomst av kräftpestsvampen har påvisats i skaldelarna. Undersökningen visar därför att kräftpest orsakat kräftornas död.

U180904-0541 Misstanke om förekomst av *Psorospermium* eller *Thelohania*/porslinssjuka.

Fem flodkräftor skickades in för parasitundersökning från Trehörningsbäcken i Hedströmmens vattensystem, Uppsala län. Man har i denna bäck funnit både flod- och signalkräftor. Om flodkräftorna inte bär på några parasiter planeras att flytta dessa till ett annat vatten där signalkräftor inte förekommer.

Carapax-hud, stjärt-, rygg- och bukmuskel från totalt fem individer undersöktes undersöktes makro- och mikroskopiskt för förekomst av parasiterna *Thelohania* (porslinssjuka) och *Psorospermium*. Inga fynd av *Psorospermium* eller *Thelohania*/porslinssjuka gjordes.

U180917-0038 Misstanke om kräftpest – kräftpest ej påvisad

Spritfixerade skaldelar från en självdöd flodkräfta inkom från Billan, Göta älvs vattensystem i Värmland, för undersökning avseende kräftpest. Materialet undersöktes med med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Kräftpest kunde inte påvisas med denna metodik, vilket visar att den aktuella kräftan inte har dött av kräftpest.

U180920-0352 Smittspårning av kräftpest – kräftpest påvisad

Tre flodkräftor sumpade i Ovansjö, Ljungans vattensystem, för kontroll om kräftpest fortfarande finns aktiv i vattenområdet, hade under sumpning självdött, och skickades in spritfixerade för analys. Materialet undersöktes med med realtids-PCR avseende kräftpestsvampen *Aphanomyces astaci*. Kräftpest påvisades, det vill säga kräftpest har orsakat kräftornas död.

2. UTVECKLING AV DIAGNOSTIK SAMT PROVTAGNINGSMETODIK AV KRÄFTPEST OCH KRÄFTARTER GENOM MILJÖ-DNA HOS VILDA POPULATIONER.

Under 2018 har tre provtagningar (juni, juli samt november) utförts för att följa upp tidigare provtagningar från 2017 i Billans vattensystem. Provtagningarna har genomförts i samverkan mellan SVA och Länsstyrelsen i Värmlands län. SLU Aqua, Sötvattenslaboratoriet Drottningholm ersätts av HaV (HaVsDnr 1269-18) för att bistå SVA i utvecklingen av metodik.

Syftet har varit att försöka fastställa hur långt upp i Vrångsälvens vattensystem (Eda kommun) som kräftpest spridit sig under 2018. Vattenprover har samlats in i samarbete mellan länsstyrelsen i Värmland och Institutionen för akvatiska resurser vid SLU.

ANDe vattenfiltreringsutrustning har inköpts från Smith-Root. Denna utrustning användes under de två första provtagningsomgångarna men sedan gick pumpen sönder och fick skickas till USA för reparation. Den sista provtagningen blev därför fördröjd, den var planerad till september/oktober, men kunde genomföras först i november.

Provtagningen i november utfördes med en så kallad klorofyllpump, se bild nedan. Fördelen med ANDe utrustningen är att den sköter sig själv under själva filtreringen, medan fördelen med klorofyllpumpen är att det inte är så mycket teknik som kan krångla. Ett problem vid analys av filtren från klorofyllpumpen är att filtren är mycket blötare och det är svårt att ta lika stor del av filtren till DNA-analys som från ANDe-utrustningen, där filtren är torrare och lättare att hantera.

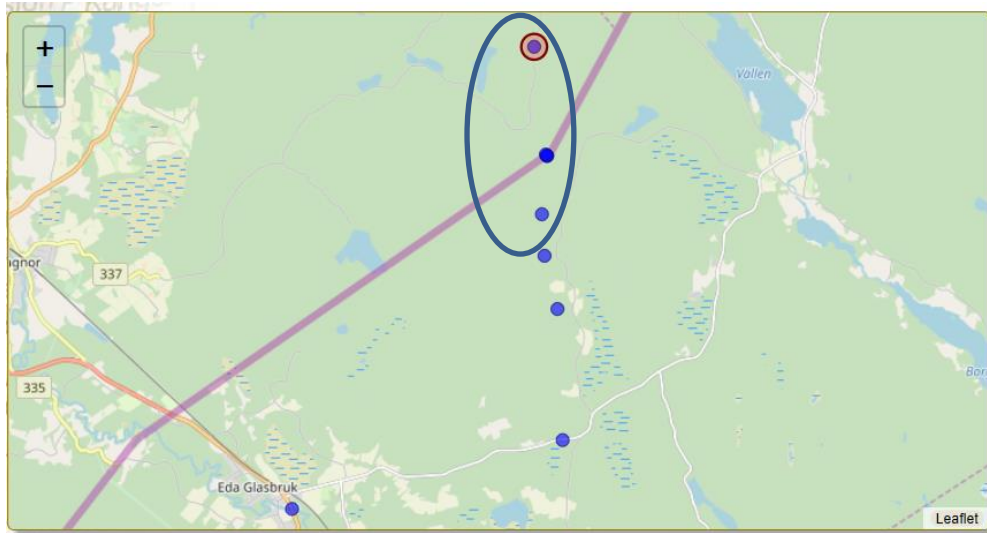


Klorofyllpump.

Resultat

Olika provtagningspunkter i Billans vattensystem, provtogs vid alla tre tillfällen

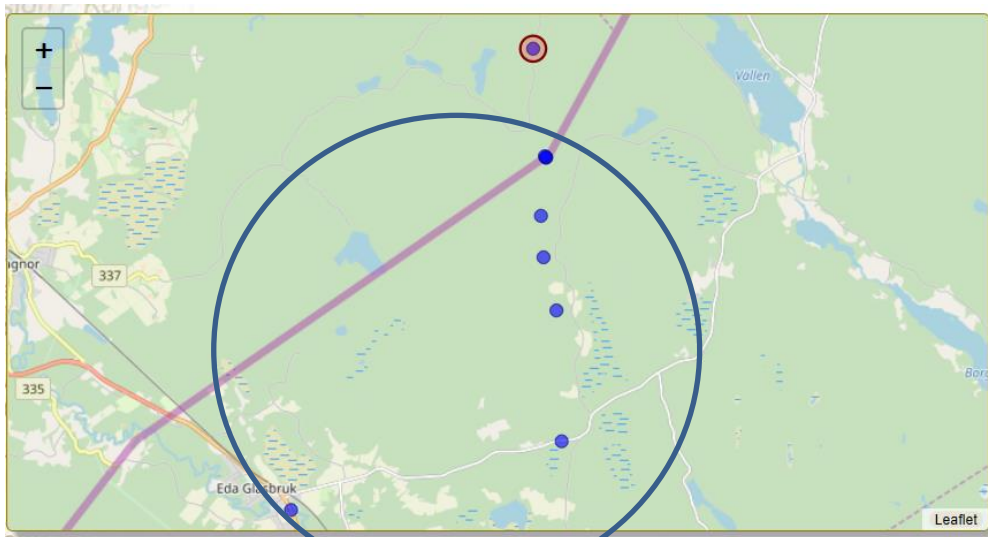
Vid den första provtagningen togs prover från fyra platser, två i direkt anslutning till norska gränsen (samma punkt på kartan nedan) och en på vardera sidan om gränsen. Flera replikat gjordes per provtagningspunkt, och två olika filter med olika porstorlekar testades.



Provtagningspunkter i juni

Resultaten för replikaten och de olika filtren var samstämmiga och flodkraft-DNA kunde detekteras vid alla provtagningspunkter. Kräftpest hittades vid Gubbforsen och provtagningsplatsen nära gränsen på den svenska sidan, dock inte vid provtagningen på norska sidan.

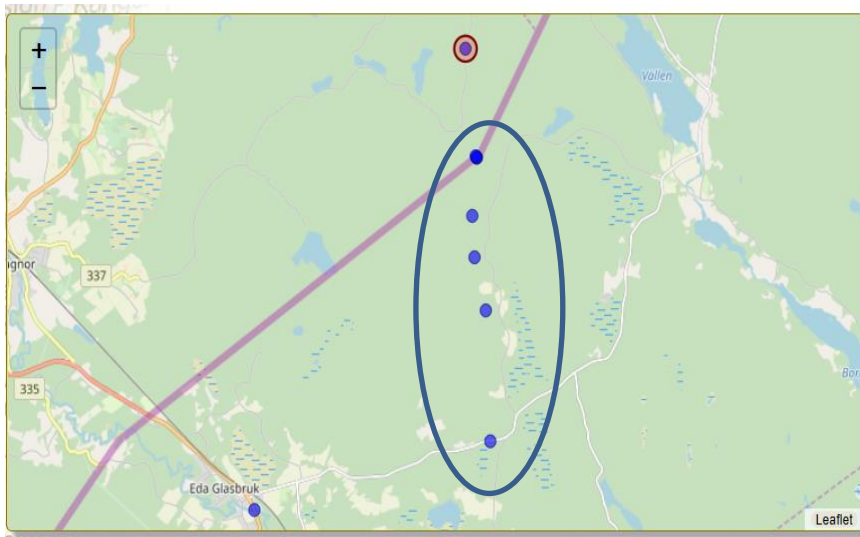
Vid det andra provtagningstillfället, i juli månad, togs flera prover utefter Billans vattensystem. Denna gång fick flera av proverna mycket höga Ct-värden för förekomst av kräftpest. (Ct-värde är ett mått på mängden DNA som finns i ett prov för det agens (mål-DNA) man söker - ju högre Ct-värde desto lägre förekomst av mål-DNA) Vi har haft en diskussion med Veterinärinstitutet i Norge om var man ska lägga gränsen för att ett prov ska räknas som positivt, då de anser att alla prover som får ett Ct-värde räknas som positiva. SVA är mer konservativa i vår bedömning än Veterinärinstitutet, och vill gärna lägga en gräns vid Ct 40 eller högre som tveksamma.



Provtagningspunkter i juli

Vid den nedersta provtagningsplatsen i Vrångsälven, detekterades inte flodkräfta och Ct-värdet för kräftpest var mycket högt. Vi bedömer resultatet som tveksamt. Även vid de två nästföljande provtagningspunkterna, Slussebron och Brattefallet, blev resultatet för kräftpest tveksamt, men ett prov vardera från dessa provtagningsplatser visade förekomst av flodkräft-DNA. Däremot var proverna positiva både för kräftpest och för förekomst av flodkräfta vid övriga tre provtagningspunkter, Billefalla, Gubbforsen och gränsen till Norge.

Vid den tredje provtagningen, som skedde i november i Billans vattensystem, användes klorofyllpumpen. Eftersom ANDe-pumpstrupningen hade gått sönder och provtagningen blivit uppskjuten till sent i november var vi tveksamma till om vi skulle få några resultat för e-DNA analys när vattentemperaturen hunnit gå ned så pass mycket. Kräftpest kunde dock konstateras vid alla fem provtagningsplatserna Slussebron, Brattefallet, Billefalla, Gubbforsen och gränsen till Norge. Endast vid de två översta, Gubbforsen och gränsen till Norge, kunde också flodkräft-DNA påvisas.



Provtagningspunkter i november

Redan vid provtagningen i november 2017 kunde kräftpest-DNA hittas i prover tagna ända upp mot norska gränsen. Årets provtagning kan tyvärr bara bekräfta att kräftpest spridits hela vägen upp till Norge. Eftersom sannolikheten att detektera kräft-DNA är större vid kräftpestutbrott, då döende och nydöda kräftor frigör mycket mer DNA än levande, kan fynd av flodkräft-DNA alltså tyda på att flodkräftorna i systemet håller på att dö.

Det vore mycket intressant att fortsätta att följa hur länge man kan detektera både kräftpest och flodkräfta i vattensystemet med e-DNA teknik. Innan man gör försök till ny inplantering av flodkräfta i området bör alla e-DNA prover avseende kräftpest ha varit negativa under minst en säsong.

Undersökning av andra vattensystem i Värmland

Vid provtagningen i juli undersöktes fyra andra vattensystem i Värmland.

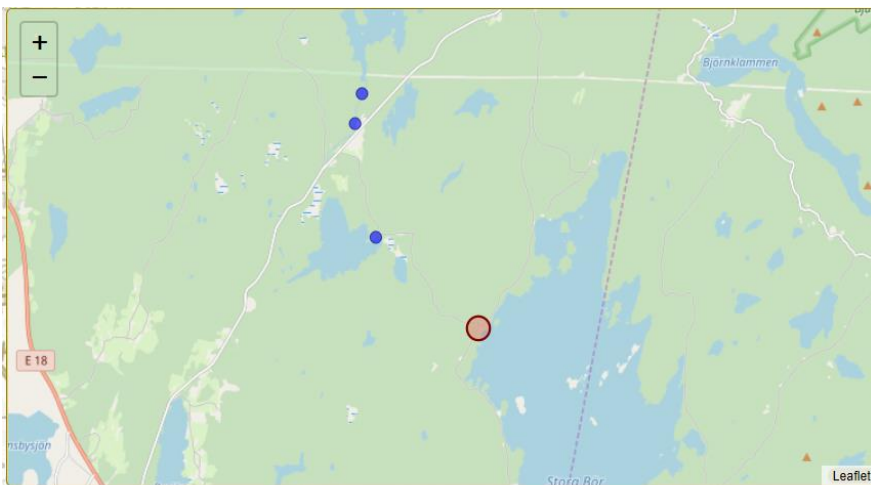
1. Mörtebäcken / Älgjsön
2. Bodälven / Lilla bör
3. Sjönsjö / Kilaälven / Summeln
4. Hjulmakarbäcken / Lankan / Stamparälven / Ormtjärnen



Provtagningspunkter Mörtebäcken, Älgsjön

1. Resultat

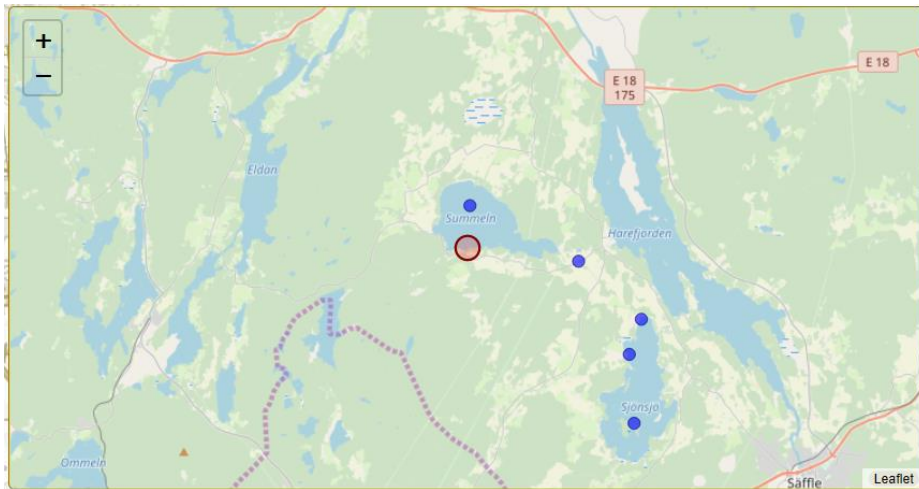
De två västra provtagningspunkterna, uppströms och nedströms vägtrumman vid Mörtebäcken, var båda positiva för kräftpest och för flodkraft-DNA. Proverna från ”dammen” vid Älgsjöns utlopp var negativa, medan det var tveksamma resultat avseende förekomst av kräftpest vid Spiksmédjan i Älgån. Det hittades inget flodkraft-DNA vid den senare platsen.



Provtagningspunkter Bodälven Lilla bör och Bärhusälven

2. Resultat

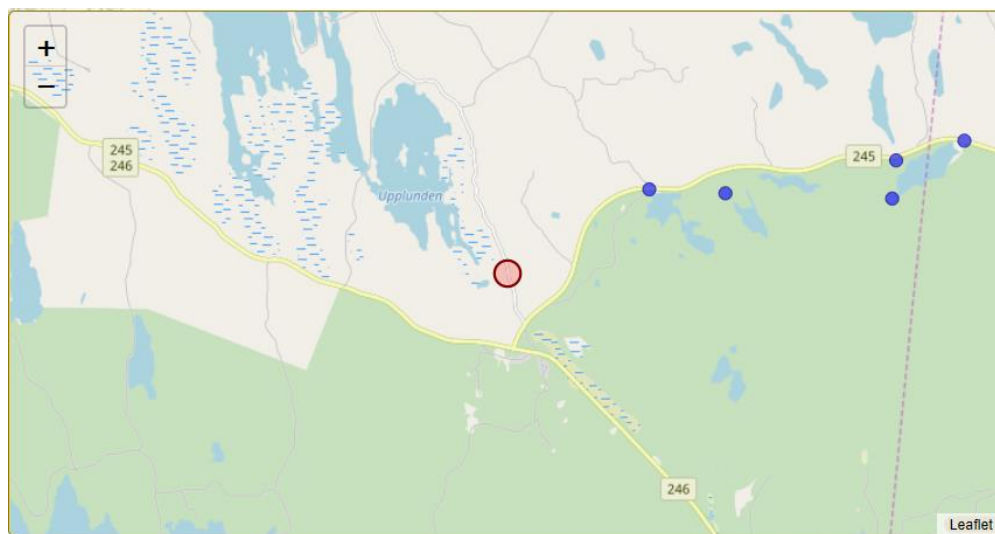
Här provtogs fyra platser, från norr till söder: gångbro vid Bodälven, ”huset” vid Bodälven, Lilla bör samt Bärhusälven. Båda provtagningsplatserna vid Bodälven ligger nära varandra. Vid den norra punkten påträffades flodkraft-DNA men var endast tveksamt positiv för kräftpest. Vid den södra punkten fanns både kräftpest och flodkraft-DNA. Lilla Bör var negativ för både kräftpest och flodkrafta, medan kräftpest hittades i proverna från Bärhusälven.



Provtagningspunkter Sjönsjö / Kilaälven / Summeln

Resultat

Från nordväst till sydost provtogs två plaster i Summeln, en i Kilaälven och tre i Sjönsjö. Alla prover var negativa för kräftpest, flod- och signalkräfta.



Provtagningspunkter Hjulmakarbäcken / Lankan / Stamparbäcken / Ormtjärnen / Hyttjärnen / Klammaälven

Resultat

Från ost till väst

Alla prover var negativa, utom ett prov från den sista (västra) provtagningspunkten, Klammaälven, där både kräftpest och signalkräft-DNA kunde påvisas. Detta är den enda plast i hela årets provtagning där vi fått positivt för signalkräfta med e-DNA teknik.

Tabell med alla prover analyserade från Värmland under 2018, med resultat och erhållna Ct-värden, samt bedömningar för utfallet av kräftpest-analyserna

		Kräftpest	Kräftpest	Flodkräft	Signalkräft
		bedömning	DNA	DNA	DNA
			Ct-värde	Ct-värde	Ct-värde
U180620-0426					
18-FSK001451	Uppströms vägtrumma Norge	neg	neg	33,237	neg
18-FSK001452	Uppströms vägtrumma Norge	neg	neg	31,769	neg
18-FSK001453	Uppströms vägtrumma Norge	neg	neg	30,94	neg
18-FSK001454	Uppströms vägtrumma Norge	neg	neg	32,047	neg
18-FSK001455	Uppströms vägtrumma Norge	neg	neg	34,885	neg
18-FSK001456	Uppströms vägtrumma Norge	neg	neg	neg	neg
18-FSK001457	Gränsen	neg	neg	35,507	neg
18-FSK001458	Gränsen	neg	neg	33,828	neg
18-FSK001459	Gränsen	neg	neg	35,867	neg
18-FSK001460	Gränsen	neg	neg	32,669	neg
18-FSK001461	Gränsen	neg	neg	31,069	neg
18-FSK001462	50 m nedströms vandringsled	pos	32,62	32,727	neg
18-FSK001463	50 m nedströms vandringsled	pos	30,71	32,205	neg
18-FSK001464	Gubbforsen	pos	33,54	35,215	neg
18-FSK001465	Gubbforsen	pos	33,36	34,941	neg
U180706-0223					
18-FSK001758	Billan	tveksamt	38,38	30,61	neg
18-FSK001759	Billan	pos	36,5	30,45	neg
18-FSK001760	Billan	pos	33,85	32,87	neg
18-FSK001761	Billan	pos	33,15	33,85	neg
18-FSK001762	Billan	tveksamt	41,49	neg	neg
18-FSK001763	Billan	tveksamt	40,92	35,45	neg
18-FSK001764	Billan	tveksamt	41,98	neg	neg
18-FSK001765	Billan	tveksamt	44	36,89	neg
18-FSK001766	Billan	pos	33,72	34,85	neg
18-FSK001767	Billan	pos	33,82	34,76	neg
18-FSK001768	Vrängsälven	Neg	neg	neg	neg
18-FSK001769	Vrängsälven	tveksamt	44,4	neg	neg
18-FSK001770	Bodälven	Neg	neg	35,56	neg
18-FSK001771	Bodälven	tveksamt	42,76	neg	neg
18-FSK001772	Bodälven	pos	33,46	35,86	neg
18-FSK001773	Bodälven	pos	33	35,05	neg
18-FSK001774	Lilla Bör	Neg	neg	neg	neg
18-FSK001775	Lilla Bör	Neg	neg	neg	neg
18-FSK001776	Bärhusälven	Neg	38,7	neg	neg
18-FSK001777	Bärhusälven	Neg	38,24	neg	neg
18-FSK001778	Hjulmakarbäcken	Neg	neg	neg	neg
18-FSK001779	Hjulmakarbäcken	Neg	neg	neg	neg
18-FSK001780	Bäck från Lankan	Neg	neg	neg	neg
18-FSK001781	Bäck från Lankan	Neg	neg	neg	neg
18-FSK001782	Stamparälven	Neg	neg	neg	neg

18-FSK001783	Stamparälven	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001784	Ormtjärnen	tveksamt	43,39		neg	neg
18-FSK001785	Ormtjärnen	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001786	Hyttjärnen	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001787	Hyttjärnen	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001788	Klammaälven	tveksamt	41,32		neg	neg
18-FSK001789	Klammaälven	pos	39,7		neg	37,41
18-FSK001790	Sjönsjö	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001791	Sjönsjö	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001792	Sjönsjö	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001793	Sjönsjö	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001794	Sjönsjö	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001795	Sjönsjö	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001796	Kilaälven	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001797	Kilaälven	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001798	Summeln	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001799	Summeln	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001800	Summeln	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001801	Summeln	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001802	Mörtebäcken	pos	38,82		35,67	neg
18-FSK001803	Mörtebäcken	pos	38,88		neg	neg
18-FSK001804	Mörtebäcken	pos	39,42		37,21	neg
18-FSK001805	Mörtebäcken	tveksamt	40,98		36,73	neg
18-FSK001806	Älgsjön	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001807	Älgsjön	Neg	neg		neg	neg
18-FSK001812	Älgån	tveksamt	40,23		neg	neg
18-FSK001813	Älgån	tveksamt	40,55		neg	neg
U181128-0705						
18-FSK005715	Gränsen	pos	32,28		35,28	neg
18-FSK005716	Gränsen	pos	33,11		36,48	neg
18-FSK005713	Gubbforsen	pos	32,99		neg	neg
18-FSK005714	Gubbforsen	pos	32,83		36,48	neg
18-FSK005709	Billefalla	pos	33,03		neg	neg
18-FSK005710	Billefalla	pos	33,04		neg	neg
18-FSK005711	Brattfallet	pos	32,41		neg	neg
18-FSK005712	Brattfallet	pos	33,15		neg	neg
18-FSK005707	Slussebron	pos	33,69		neg	neg
18-FSK005708	Slussebron	pos	33,12		neg	neg

Slutligen redovisas här också en provtagning gjord av Tomas Jansson, Dalsland, som ej har belastat HaVs anslag. Här vill vi visa att alla prover föll ut negativt för alla analyser.

Prov- nummer	datum för provtagning	Provtagnings- plats	Märkning	prov no	volym	resultat eDNA kräftpest	Flod- kräfta	Signal- kräfta
1	20181027	Askesjö	Inloppet	1	5 L	negativ	negativ	negativ
2	20181027	Askesjö	Inloppet	2	5 L	negativ	negativ	negativ
3	20181027	Askesjö	Utloppet	1	3,7 L	negativ	negativ	negativ
4	20181027	Askesjö	Utloppet	2	3,7 L	negativ	negativ	negativ
5	20181027	Hetvattnet	Utloppet	1	5 L	negativ	negativ	negativ
6	20181027	Hetvattnet	Utloppet	2	5 L	negativ	negativ	negativ
7	20181027	Lilla Le	campingen	1	5 L	negativ	negativ	negativ
8	20181027	Lilla Le	campingen	2	5 L	negativ	negativ	negativ
9	20181027	Lilla Le	Badplats, botttenprov	1	5 L	negativ	negativ	negativ
10	20181027	Lilla Le	Badplats, botttenprov	2	5 L	negativ	negativ	negativ
11	20181027	Lilla Le	Västra sidan	1	5 L	negativ	negativ	negativ
12	20181027	Lilla Le	Västra sidan	2	5 L	negativ	negativ	negativ
13	20181028	Lilla Le	Badplats	1	3,2 L	negativ	negativ	negativ
14	20181028	Lilla Le	Badplats	2	5 L	negativ	negativ	negativ

Slutsats

Sammanfattningsvis har eDNA-analys visat sig vara en känslig och reproducerbar teknik för att undersöka förekomst av kräftpest och flodkräfta. Att flodkräfts-DNA varit vanligt förekommande vid flera provtagningsstillfällen tror vi kan ha samband med sjukdomsutbrott av kräftpest, som påvisats vid samma provtagningar. Signalkräft-DNA har vi bara lyckats påvisa vid en enda provtagning - i Klammaåvlen i juli 2018. Samma prov var även positiv för kräftpest, vilket kan tyda på att signalkräftan var bärare av *Aphanomyces astaci*.

Vi har påvisat flodkräft-DNA utan att påvisa kräftpest vid gränsen till, samt vid en provtagningspunkt inne i, Norge i juni 2018. Tyvärr har vi senare även påvisat kräftpest vid gränsen till Norge, så att vi kunna hitta flodkräft-DNA där kan även i detta fall bero på ökad dödlighet pga sjukdom.

Vi tror att eDNA även kan vara värdefullt för att visa hur länge förekomsten av kräftpest finns kvar efter ett utbrott hos flodkräfta och för att fastställa när förekomsten har avklingat i ett vattensystem, innan beslut om återplantering tas.

Vi tror att metoden är så pålitlig att man kan använda den för att kräftpestförklara ett vattenområde och att eDNA-analys kan ligga till grund för K4-anmälan om kräftpest.

3. SJUKDOMSDIAGNOSTIK AV VILDFÅNGAD AMERIKANSK HUMMER (HOMARUS AMERICANUS).

Sedan 2008 har 37 amerikanska humrar fiskats upp på den svenska västkusten. SLU Aqua, Havsfiskelaboratoriet Lysekil ersätts av Havs- och vattenmyndigheten (Havs- och vattenmyndighetens Dnr 1255-18) för att omhänderta och administrera av ersättning för humrar, verifiering genom genetiska analyser samt för att distribuera individerna till SVA.

Resultat

Inga prover från amerikansk hummer har inkommit till SVA från SLU Aqua under 2018

4. SJUKDOMSDIAGNOSTIK AV ÅLAR (ANGUILLA ANGUILLA)

Sjukdomsdiagnostik har genomförts på ål, dels fångade i fällor nedströms första vandringshinder i västkustmynnande vattendrag, dels fångade vid kust under SLU:s provfisken. Målet var att provta ål från cirka åtta olika provtagningspunkter, och 3 - 4 provtagningar per provtagningspunkt, med följande analys av 10 ålar per provtagning. Analyserna omfattar virusodling, förekomst av hudsår med påföljande odling och artbestämning av bakterier från såren, observation av förekomst av *Anguillicoloides crassus* i simblåsa, samt qPCR analys för förekomst av ålherpesvirus (anguillid herpesvirus 1; AngHV-1)

Resultat

Sammanlagt inkom ålar från totalt tio olika provtagningsstillfällena och fem provtagningspunkter. Två provtagningar vardera gjordes i Lagan, Rönneå, Lilla Edet och Viskan. Två provtagningar gjordes i samverkan med SLU:s provfisken, en i Barsebäck och en i Fiskebäckskil.

Kommentarer till varje undersökning redovisas som appendix till denna text.

Ålar från båda provtagningsstillfällena i Lagan och vid ett tillfälle i Viskan uppvisade infektion med *Ichthyophthirius multifiliis*, också kallad Ich eller vita prick, en gäl- och hudparasiterande ciliat. Vita prick är inte artspecifik för ål, men kan orsaka skador på ålens gälar, hud och fenor.

Fyra provtagningar gjordes under juni månad, och då ålen bedömdes som för liten för utplockning av individuella organ finns inga resultat avseende *Anguillicoloides spp* för den gruppen. Under sensommar höst testades trots allt provuttag av enskilda organ på liten gulål för att undersöka tidsaspekt och provkvalitet. Av de sex provtagningar som gjordes under hösten återfanns parasiten hos de flesta undersökta bestånden:

- Riklig förekomst i simblåsa – Lilla Edet, 5 av tio ålar var infekterade
- Måttlig förekomst i simblåsa – Lilla Edet, 2 av tio ålar var infekterade
- Måttlig förekomst i simblåsa – Barsebäck, 4 av tio ålar var infekterade
- Sparsam förekomst i simblåsa – Viskan, 1 av tio ålar var infekterade

- Måttlig förekomst i simblåsa – Lagan, 1 av tre undersökta ålar var infekterad
- Ingen förekomst – Fiskebäckskil, endast två ålar fångades vid detta tillfälle

I endast ett fall, en ål från provtagningen i Barsebäck, uppvisade en ål ett hudsår som var relevant att odla bakterier ifrån. Odlingen resulterade i riklig blandflora, och inga specifika sjukdomsframkallande bakterier kunde påvisas.

Alla virusodlingar var negativa. De viruscellinjer som används kan påvisa förekomst av IPNV, IHNV, VHSV och SVCV.

För att kunna påvisa förekomst av ålherpesvirus, AngHV-1 (*Anguillid herpesvirus 1*, tidigare kallad HVA) har SVA i samarbete med Olga Haenen, Wageningen Bioveterinary Research i Nederländerna, satt upp en realtids-PCR för detta virus. Dr Haenen har varit behjälplig med rådgivning och bistått med viruspositivt material vid uppsättning av metoden (Van Beurden, et al., 2015). Valideringen av denna PCR är ännu inte helt färdig.

Ålar från sex av de tio provtagningarna uppvisade en eller två positiva pooler (Lagan, båda provtagningarna, Rönneån, Viskan, Barsebäck, Lilla Edet och Fiskebäckskil en provtagning vardera). Alla pooler visade låg till måttlig förekomst av AngHV-1. Att AngHV-1 påvisas hos ålar fångade runt Sveriges kuster är inte förvånande, då de studier som gjorts runt om i Europa av vildfångad ål, tex i England, Tyskland och Polen (Armitage et al., 2014; Bandin et al., 2014; Haenen et al., 2010; Jakob et al., 2009; Van Beurden et al., 2012; Van Ginneken et al., 2004. Haenen et al., 2009) har visat på låggradig förekomst av AngHV-1 i till synes friska populationer av vildfångad ål. Författarna varnar för att sprida viruset vid förflyttning av ål i syfte att förstärka ålbestånd, då ålherpesvirus anses som en av orsakerna till att vildålbestånden i Europa minskar (Haenen et al., 2012).

Under augusti i år fick sektionen in döda vildålar från två olika platser, från Bolmen och från Hjälmarén. De kliniska symptom som ålarna uppvisade stämmer väl överens med vad som finns beskrivet för ålherpesvirus. Viruset kunde också påvisas i hög grad med realtids-PCR i alla provmaterial som undersökts. *Kommentarer till dessa undersökningar redovisas som appendix till denna text.*

Slutsats

Ålherpesvirus förekommer sannolikt regelmässigt i ålpopulationer runt Sveriges kuster. Till synes friska ålar kan vara bärare av viruset och sprida det vid vandring och vid förflyttning i syfte att stärka ålbestånd. Viruset kan orsaka utbrott av massdöd vid stress, som vid låg syrehalt och höga vattentemperaturer. Dessa förhållanden förelåg i somras och misstänks ha bidragit till de två utbrotten på två geografiskt helt skilda lokaler under augusti månad. Vi kan förvänta oss att liknande förhållanden kommer att bli vanligare i framtiden. Ålherpes bör därför vara en faktor som tas med i beräkningen vid flytt av ål för att stärka populationer, och hälsokontroll bör genomföras för att undvika spridning av viruset.

Referens:

- Armitage, J., Hewlett, N. R., Twigg, M., Lewin, N. C., Reading, A. J., Williams, C. F., . . . Peeler, E. J. (2014). Detection of Herpesvirus anguillae during two mortality investigations

- of wild European eel in England: Implications for fishery management. *Fisheries Management and Ecology*, 21, 1–12.
- Bandin, I., Souto, S., Cutrin, J. M., Lopez-Vazquez, C., Oliveira, J. G., Esteve, C., . . . Dopazo, C. P. (2014). Presence of viruses in wild eels *Anguilla anguilla* L. from the Albufera Lake (Spain). *Journal of Fish Diseases*, 37, 597–607.
 - Bergmann S.M., Riechardt M., Fichtner D., Lee P. & Kempter J. (2010). Investigation on the diagnostic sensitivity of molecular tools used for detection of koi herpesvirus. *Journal of Virological Methods* 163, 229–233.
 - van Beurden, S. J., Voorbergen-Laarman, M. A., Roozenburg, I., van Tellingen, J., Haenen, O. L. M., & Engelsma, M. Y. (2016). Development and validation of a real-time PCR assay for the detection of anguillid herpesvirus 1. *Journal of Fish Diseases*, 39, 95–104.
 - Olga Haenen, Vincent van Ginneken, Marc Y Engelsma and Guido Van den Thillart. Impact of Eel Viruses on Recruitment of European Eel Book chapter from “Spawning Migration of the European Eel. Reproduction index, a useful tool for conservation management” (pp.387-400) January 2009
 - Haenen, O. L. M., Lehmann, J., Engelsma, M. Y., Sturenberg, F. J., Roozenburg, I., Kerkhoff, S., & Klein Breteler, J. (2010). The health status of European silver eels, *Anguilla anguilla*, in the Dutch River Rhine Watershed and Lake IJsselmeer. *Aquaculture*, 309, 15–24.
 - Jakob, E., Neuhaus, H., Steinhagen, D., Luckhardt, B., & Hanel, R. (2009). Monitoring of Herpesvirus anguillae (HVA) infections in European eel, *Anguilla anguilla* (L.), in northern Germany. *Journal of Fish Diseases*, 32, 557–561.
 - 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.
 - Van Beurden, S J, M A Voorbergen-Laarman, I Roozenburg, J van Tellingen, O L M Haenen and M Y Engelsma, Development and validation of a real-time PCR assay for the detection of anguillid herpesvirus 1, *Journal of Fish Diseases* 2015
 - Van Ginneken, V., Haenen, O., Coldenhoff, K., Willemze, R., Antonissen, E., Van Tulden, P., . . . Van Thillart Den, G. (2004). Presence of eel viruses in eel species from various geographic regions. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24, 268–272.

Appendix till ål-undersökningarna; utlåtande för varje uppdrag

Uppdrag 1. U180613-0469

13 små gulålar inkom från Lagan för hälsokontroll i samband med flytt till inlandszon. Snittvikt 0,3 g. Sex st har dött under transporten, övriga sju är i mycket dålig kondition. Flertalet ålar har vita prickar på kroppen. Kontroll i mikroskop verifierar infektion med *Ichthyophthirius multifiliis* = Ich/vita prick, vilket sannolikt är orsaken till fiskens dåliga kondition.

- Förekomst av Anguillicola kan inte kontrolleras på så små ålar, men är inte relevant då de precis börjat äta och exponera sig för parasiten.
- Odling för virus gjordes på pool från 10 ålar, virus har inte påvisats.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR-analys och en av de tre poolerna var positiv för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 2. U180614-0381

23 små gulålar inkom från Rönneå för hälsokontroll i samband med flytt till inlandszon. Snittvikt 1 g, längd 7-11 cm. Fiskarna var mycket livliga, inga tecken på sjukdom kunde ses.

- Förekomst av Anguillicola kan inte kontrolleras på så små ålar, men är inte relevant då de precis börjat äta och exponera sig för parasiten.
- Odling för virus gjordes på pool från 10 ålar, virus har inte påvisats.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR-analys och en av de tre poolerna var positiv för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 3. U180618-0138

10 små gulålar inkom från Viskan för hälsokontroll i samband med flytt till inlandszon. Snittvikt 0,5 g, längd 7-9 cm. Fiskarna var mycket livliga, inga tecken på sjukdom kunde ses.

- Förekomst av Anguillicola kan inte kontrolleras på så små ålar, men är inte relevant då de precis börjat äta och exponera sig för parasiten.
- Odling för virus gjordes på pool från alla 10 ålar, virus har inte påvisats.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR analys och en av de tre poolerna var positiv för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 4. U180620-0439

17 små gulålar inkom från Rönneå för hälsokontroll i samband med flytt till inlandszon. Snittvikt 0,6 g, längd 8,2-10,5 cm. Fiskarna var mycket livliga, inga tecken på sjukdom kunde ses.

- Förekomst av Anguillicola kan inte kontrolleras på så små ålar, men är inte relevant då de precis börjat äta och exponera sig för parasiten.
- Odling för virus gjordes på pool från 10 ålar, virus har inte påvisats.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR-analys och alla pooler var negativa för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 5. U180801-0355

Levande ål (15st) från ålyngelledare vid Lilla Edet, Göta älvs vattensystem, inkom för undersökning inför flytt till inlandszon.

Ålarna var livliga och visade inga yttre tecken på sjukdom.

Ålarna hade en vikt av 1-4 gram och en längd av 11-16 cm. Inre organ (hjärta, mjälte och njure) togs ut för virusundersökning genom odling på cellinjer (ål nr 1-10): pool 1.

Vävnadsmaterial från inre organ och ifrån gälar har även tagits ut för undersökning avseende herpesvirus (i pooler om 3 ålar vardera).

- Tre levande nematoder av *Anguillicola* sp. observerades i simblåsan och i bukhålan i två av ålarna från en pool
- Virus har inte påvisats vid cellodling.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR-analys och alla pooler var negativa för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 6. U180804-0001

Provtagning av blankål i SLU:s provfiskeområde utanför Barsebäck

Ål 1: längd 54 cm, vikt 235 g. Infekterad med *Anguillicola crassus* (3 st)

Ål 2: längd 56 cm, viktuppgift saknas. Infekterad med *Anguillicola crassus* (2 st)

Ål 3: längd 45,8 cm, vikt 125 g. Inga onormala fynd

Ål 4: längd 43 cm, vikt 99 g. Inga onormala fynd

Ål 5: längd 36,9 cm, vikt 69 g. Inga onormala fynd

Ål 6: längd 61 cm, vikt 326 g. Inga onormala fynd

Ål 7: längd 53,5 cm, vikt 253 g. Infekterad med *Anguillicola crassus* (2 st)

Ål 8: längd 44,7 cm, vikt 137 g. Inga onormala fynd

Ål 9: längd 43,5 cm, vikt 122 g. Blödning vid fenbas höger bröstfena.

Ål 10: längd 51,7 cm, vikt 112 g. Diffus rodnad runt mun och på buk. Infekterad med *Anguillicola crassus* (10 st)

Ål 11: längd 51 cm, vikt 210 g. Cirkelformat sår, ca 1 cm i diameter, på ryggsidan. Såret är inte färskt, det finns inflammatoriska förändringar i sårytan samt en diffus svullnad i området kring såret. Ålen har ej öppnats utan är enbart provtagen för bakteriell odling. Generellt fina ålar, hudblödningen (ål 9) och rodnaden kring munnen (ål 10) kan mycket väl ha orsakats av hantering vid/efter fångst. Från såret på ål 11 isolerades riklig blandflora. Detta är inget konstigt i ett sår av kronisk typ, då ett flertal olika bakterier haft tid på sig att fästa och växa till i sårytan.

- Förekomst av *Anguillicola crassus* sågs hos 40% av de öppnade ålarna.
- Inget virus påvisat vid odling.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR-analys och två av de tre poolerna var positiv för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 7. U180816-0341

11 st små gulålar inkom för hälsokontroll. Ålarna var fångade i ålyngelledare vid Lilla Edet, Göta älvs vattensystem. Alla var pigga vid ankomst, men en hade en oregelbunden svullnad över bukens bakre del och omfattande blödningar i huden i samma region. Avlivning med MS-222.

Snittvikt 4.4 g/ål, längd 11.5-16 cm. Efter avlivning noterades att flera av ålarna hade enstaka nålsticksblödningar i stjärtfenan.

På dessa ålar gjordes provuttag av enskilda organ istället för hackning (vilket är rutin på liten fisk).

- *Anguillicola crassus* noterades hos fem individer. Parasiterna var av varierande mängd (1-6 st) och storlek - någon hade 1-3 riktigt små, den med hudblödningar hade en

fullvuxen och en liten parasit. Simblåsan var proppfull av parasiter hos tre av de fem infekterade individerna.

- Inget virus har påvisats genom odling på cellkultur
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) Vi valde här att undersöka gälar respektive inre organ poolade var för sig, sex pooler undersöktes, 3 med gälar från vardera tre individer och 3 med inre organ från vardera tre individer. Undersökningen har utförts med hjälp av PCR-analys och både poolen av gälar och av inre organ från en av poolerna var positiva för AngHV-1, medan resterande fyra pooler var negativa för förekomst av viruset.

Uppdrag 8. U180830-0297

10 små gulålar från Viskan inkom för hälsokontroll inför flytt till inlandszon.

Snittvikt 0,8 g, 8-10 cm långa. Trötta, en ligger uppochnar, rör sig enbart vid provokation. En har kraftig förekomst av vita prick, en har blomkålssjuka.

- Inspektion av simblåsor - en har en liten *Anguillicola*, övriga nio ingen påvisad simblåsemask
- Inget virus har påvisats genom cellodling
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR-analys och alla pooler var negativa för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 9. U180913-0109

Tretton små gulålar från Lagan inkom för hälsokontroll avseende flytt till inlandszon.

Vikt 1-3 gram (snittvikt 2,4 g), längd 7.5-15 cm. Alla tretton var infekterade med vita prick i olika grad, från enstaka prickar till kraftig förekomst av prickar. De nio minsta ålarna hackades för viruskontroll genom cellodling. Poolning för ålherpes gjordes från sex av dessa. Hos de tre största ålarna kontrollerades förekomst av *Anguillicola crassus* samt individuella organ plockades ut för ålherpeskontroll.

- En fisk av tre kontrollerade var infekterad med *Anguillicola crassus*.
- Inget virus har påvisats genom odling på cellkultur.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) (9 st ålar, poolade 3 och 3) har utförts med hjälp av PCR-analys och två av de tre poolerna var positiv för förekomst av AngHV-1.

Uppdrag 10. U181022-0262

Provtagning av blankål i SLU:s provfiskeområde utanför Fiskebäckskil

Ål 1: längd 60,5 cm, vikt 380 g. Inga onormala fynd.

Ål 2: längd 52 cm, vikt 250 g. Inga onormala fynd.

Båda ålarna var vid god vigör och utan sjukliga förändringar.

- Inga *Anguillicola crassus* funna i simblåsan.
- Inget virus har påvisats genom odling på cellkultur.
- Undersökning för ålherpesvirus (Herpesvirus Anguillae; AngHV-1) har utförts med hjälp av PCR-analys. Då endast två ålar fångades vid detta tillfälle poolades gälprover och inre organ från dessa två individer. Poolen var positiv för förekomst av AngHV-1.

Sjuka ålar, *Appendix till ål-undersökningarna; utlåtande för ålar fångade i Bolmen respektive i Hjälmmaren*

Sjön Bolmen

Fem ålar från sjön Bolmen, varav fyra levande (på is) enligt remiss (alla döda vid ankomst) samt en fryst, insända på grund av dödlighet. Obduktion har genomförts på de fyra färska ålarna. På den halvfrusna ålen noterades liknande symptom som de som beskrivs nedan, varför denna ål stoppades i frysen som back up-material.

Obduktion

De fyra ålarna var 59-62 cm och vägde 425-491 gram, alla var vid normalt hull och förruttelse hade inte påbörjats. Hos samtliga observerades huderosioner/ljusa fläckar i olika omfattning och grad. Hos två fiskar fanns i några av erosionerna vävnadsdöd i hud och ner i muskulatur. Två individer hade också nålsticksformade blödningar i huden. Hos två ålar var gälarna något bleka med måttlig förekomst av blödningar i gälfilamenten och hos en av dem fanns ett litet område med vävnadsdöd. Hos en ål var gälarna tydligt bleka med omfattande blödningar samt vävnadsdöd. Den fjärde ålen hade normalfärgade gälar med enstaka blödningar. Magtarmkanalen hade hos samtliga individer mycket sparsamt med matrester och inga parasiter kunde observeras, ej heller simblåsemask (*Anguillicola*). Hos ål nr 3 (den med tydligt bleka gälar) var hjärta och njure bleka. Njuren var även något tunn. Mjältarna hade normal form men var något bleka och tydligt kärletecknade samt fläckvis pigmenterade.

Mikrobiologisk undersökning

Prov har tagits ut för virusodling. Inget virus som kan odlas på celler har påvisats. Prov har tagits ut för ålherpes/Herpesvirus Anguillae (AngHV). Då ålherpes inte varit föremål för regelbundna undersökningar i Sverige har SVA tidigare inte haft metoden uppsatt, men vi har nu fått igång diagnostiken. Analysen är molekylärbiologisk, och innebär att man uppförökar eventuellt virus-DNA (eller RNA beroende på virus) genom så kallad PCR-metodik. Först körde vi poolade prover från ål 1-3 (dels svabb från gäle, dels inre organ). Båda dessa poolade prover var positiva för DNA från ålherpesvirus. Eftersom ålarna var kliniskt sjuka plockades extra prover ut (dessa debiteras inte utan ingår i vår metodutveckling), både svabbar från de individuella fiskarna (dvs ingen pooling) och organbitar (gälar, inre organ). Alla dessa prover var positiva. Prov har tagits ut för bakterieodling från hudsår och njure (ål 2) samt gäle och njure (ål 3). Sparsam växt av *Flavobacterium columnare* påvisades i njure hos en ål samt på gälar hos en ål.

Kommentar

Undersökning för yttre, encelliga parasiter har inte gjorts då dessa försvinner från/dör strax efter fiskens död, och en säker diagnos oftast kräver att man observerar rörliga parasiter.

Bedömning

Den observerade symptombilden tyder på att en infektion orsakat dödligheten. Huderosioner, hudblödningar samt blödningar och vävnadsdöd på gälar stämmer med

ålherpes, som också påvisats i poolade prover från fisk 1-3. Eftersom vi tagit ut individuella prover för alla fyra provtagna fiskar kunde vi dessutom konstatera att alla fiskarna var infekterade, det var inte en fisk som bidrog till resultatet på poolerna. Resultaten visar också på virusförekomst i sådan grad att klinisk herpesinfektion bör ha förelegat och bidragit till dödligheten. Ålherpes kan ligga latent i ålen och sjukdom och virusutsöndring med spridning till andra individer triggas av stress, vilket bland annat kan orsakas av höga vattentemperaturer och låg syrehalt i vattnet. Ålherpes kan leda till utbrott med hög dödlighet i täta ålpopulationer. Den bakterie (*F. columnare*) som påvisats är också associerad med hudförändringar samt vävnadsdöd på gälarna, ofta under sommaren då vattentemperaturen är över 15 grader. Dock har bakterien påvisats i sparsam mängd, och den är sannolikt bara en sekundär infektion till följd av att ålen redan hade skador på gälarna och var nedsatt av herpesinfektionen.

Hjälmare

Sex ålar insända på grund av dödlighet i fångstredskapi Hjälmare. Dödligheten förekommer runt hela sjön och det är enbart ål som dött. Två ålar har packats levande, fyra var självdöda. Alla var döda vid ankomst till SVA. Ålarna var packade tillsammans och i stort sett utan kadaverösa förändringar varför det inte säkert gick att avgöra vilka som packats levande respektive döda.

Obduktion

Alla ålarna vad vid gott hull. Obduktion utfördes på fyra ålar. På två ålar noterades yttre förändringar samt gälstatus, och därefter frystes de som back-up (se nedan).

På tre ålar (1-3) noterades omfattande hudblödningar (stora fläckar) längs buksidan eller hela kroppen och riklig ansamling av tjockt slem. Två av dem hade även blödningar på bröstfenorna. Gälarna var på två av dem mörka med ett något stasat utseende. På den tredje fanns dessutom lite blödningar samt mycket rikligt med slem på gälarna. En av dessa ålar (nr 2) placerades i frys. Ål 1 hade gul, något flammig och lite kärleteknad lever medan ål 3 hade en blek lever med tydlig kärletekning. Även mjälten var blek hos ål 3. Hos ål 1 noterades ett område med mindre blödningar i hinnor och yttre tarmvägg i sista delen av tarmen, samt kalkinlagrade plaque på hjärtat.

På resterande tre ålar noterades varierande yttre förändringar:

Ål 4: Enstaka ytliga erosioner ungefär mitt på kroppen, och som bildar två "band" över ryggen - mekaniska. Enstaka erosioner med lite hudblödningar runt om dessa samt på stjärten och i bröstfenor. Mindre hudblödningar ses också vid gälspringa/bröstfenbas samt fisken har rodnad/hudblödning runt munnen. Gälarna är bleka. Mjälten är mörk, svullen och fläckvis stasad eller med inre blödningar (svarta områden). Levern är kraftigt kärleteknad, likaså bukhinnan runt bakre delen av tarmen.

Ål 5: Rodnad huvudregionen, framför allt på underkäken, samt på bröstfenor. Enstaka mekaniska ytliga hudskrap. Gälarna är något stasade. Fisken har stoppats i frys.

Ål 6: Rodnad runt munnen samt ett blekt, något svullet "band" över huvudet strax bakom ögonen (någon form av mekaniskt orsakad förändring). Enstaka, små hudblödningar ses också i huvudregionen. Några små, ytliga erosioner ses nära stjärtspetsen. Gälarna är

mycket bleka, har eventuellt varit död något längre än övriga ålar. Mjälten är något blek och kärletecknad. Levern är kraftigt kärlsprängd. Simblåseväggen är lite förtjockad och inuti ses ett område med diffus blödning samt en simblåsemask - *Anguillicola crassus*.

Ingen av de öppnade ålarna hade föda i magsäcken och det var mycket sparsamt med matrester i tarmen.

Mikroskopisk undersökning

Direktmikroskopi av hudskrap och gäle från ål nr 3 för att leta efter alger. Inga fynd av alger har gjorts.

Histologisk undersökning av vävnader från tre ålar (hjärta, gälar, lever, mjälte (2 st)).

Förruttnelseprocessen hade påbörjats och var längst framskriden i gälarna.

Gälar: Bedömning av akuta förändringar utöver en cirkulationsrubbnings kunde inte göras. Inga tecken på långvarig påverkan kunde ses.

Lever, och hjärta: Vävnaderna var i relativt gott skick utifrån förruttnelseprocessen. Akut cirkulationsrubbnings kunde ses i båda organen, därutöver fanns inga tecken på vare sig akut eller mer långvarig påverkan.

Mjälte: Den ena mjälten var kraftigt blodfylld (cirkulationsrubbnings) medan den andra mjälten var blodfattig. Den blodbildande vävnaden hade kraftigt förändrat utseende med olikstora celler samt celldöd och i ena mjälten även tecken på ödem. I vissa områden hade vävnaden normalt utseende, vilket indikerar att förändringarna åtminstone delvis är orsakade av en sjukdomsframkallande process och inte enbart förruttnelseförändringar.

Mikrobiologisk undersökning

Bakterieodling sattes från hudblödning och njure på ål 1, samt från mjälte och njure på ål 4. Ingen specifik bakterieinfektion har påvisats.

Virusodling från de fyra obducerade fiskarna har även den utfallit med negativt resultat.

Molekylärbiologisk undersökning med PCR för att identifiera DNA från ålherpes/Herpesvirus anguillae (AngHV-1) kördes på pool från gäle samt pool från inre organ. Båda poolerna var positiva för ålherpes, och gäle var starkare positivt än inre organ.

Bedömning

Den histopatologiska bedömningen talar för att den direkta dödsorsaken var akut cirkulationssvikt. Höga nivåer av ålherpesvirus har identifierats genom PCR, och detta indikerar att ålarna var drabbade av klinisk sjukdom orsakad av virusinfektionen. Sannolikt har vattenförhållandena under sommaren 2018, med höga temperaturer och låga syrehalter, triggat igång latent infektion i en eller flera individer så att sjukdom och spridning har uppstått. Ålherpes angriper bland annat gälarna, varför ålarna får problem med syresättningen. I redan rådande stressande förhållanden med i princip inget syre i vattnet går då förloppet snabbt från första symptom till död.

Ålherpes

Ålherpes har tidigare påvisats vid ett tillfälle i Sverige. Den gången på vildål fångad/upphittad vid Stallarholmen i Mälaren (2006). Ålherpes angriper gälar, hud och även lever. Virus kan infektera tidigt under livet och sedan ligga latent i ålen. Vid stress som extrema temperaturer, syrebrist och när ålen ska övergå från gulål till silverål kan sjukdom bryta ut. En tysk studie pekar på hög förekomst av ålherpes i en fjord där

kompensationsutsättningar sker (Kullman mfl J Fish Diseases 2017). Introduktionen av virus i fjorden misstänks ha samband med kompensationsutsättningarna. Artikeln är bifogad svaret Det är möjligt att ålherpes är allmänt spritt i svenska vatten med tanke på det utsättningsprogram som finns och att ål vandrar naturligt och assisterat upp i vattendrag från kustzonen. Kontinuerliga undersökningar av liten gulål som fångas för att flyttas uppströms kommer förhoppningsvis ge en indikation på detta.

5. INHÄMTNING OCH VIDAREFÖRMEDLING AV KUNSKAP OM DEN HÖGA DÖDLIGHETEN PÅ VISSA FLODPÄRLMUSSELBESTÅND, BLAND ANNAT GENOM DELTAGANDE PÅ "FRESHWATER MOLLUSK HEALTH AND DISEASE WORKSHOP" I USA, MARS 2018 SAMT SAMMANSTÄLLNING AV SKRIFTLIG RAPPORT

Resultat

Skriftlig rapport har inlämnats separat till HaV av Anders Alfjorden

6. KOMPLETTERA ARTDATABANKENS RISKKLASSIFICERINGAR AV INVASIVA FRÄMMANDE ARTER

Resultat

Skriftlig rapport (excell-fil) har inlämnats separat till HaV av Charlotte Axen

Med vänlig hälsning

Anna Aspán
Forskare, handläggare