



Svarbrev på bestilling av kunnskapsstøtte vedr. betydning av *Flavobacterium psychrophilum*-sepsis hos regnbueørret i innlandsoppdrett. Mattilsynets ref.nr. 2022/44987.

Bakgrunn

Flavobacterium psychrophilum-sepsis hos regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) er en listeført sykdom (liste 3) i Norge. Mattilsynet ønsker en utredning av forekomst og betydning av sykdommen hos regnbueørret i innlandsoppdrett.

1. Forekomst av *Flavobacterium psychrophilum* i innlandsanlegg.

Mattilsynet ønsker en kartlegging basert på tilgjengelig prøvemateriale og evt. nytt innhentet materiale. Mattilsynet innhenter selv epidemiologisk informasjon som kan være nyttig i smittekartlegging.

Materiale fra helseovervåkingsprogrammet for vill laksefisk

I forbindelse med helseovervåkingsprogrammet for vill laksefisk (OK-villfisk) ble det i 2021 tatt ut vevsprøver (nyre) på RNAlater til undersøkelse for piscine orthoreovirus genotype 3 (PRV-3) i seks anlegg med regnbueørretproduksjon i Innlandet fylke.

Fem av disse er i Valdresområdet og ett i Engerdal. Da prøveuttaket ble gjennomført ble Veterinærinstituttet kjent med at regnbueørret på lokalitet 13881 Ferisfjorden i Valdresområdet hadde et pågående sykdomsutbrudd med systemisk *F. psychrophilum* infeksjon. Fra dette anlegget ble fem fisk obdusert ved Veterinærinstituttet i Bergen. Diagnosen systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* ble verifisert og Mattilsynet varslet. Lokaliteten ble deretter fulgt opp av Mattilsynet.

Mattilsynet innhentet tillatelse fra anleggene til å undersøke prøvene fra OK-villfisk 2021 for *F. psychrophilum* ved hjelp av PCR ved Pharmaq Analytiq A/S. Resultatene er angitt i Tabell 1.

Tabell 1: Resultat fra den PCR-baserte kartleggingen av *F. psychrophilum* hos regnbueørret

Lokalitet	Lokalitet	Kommune	Antall undersøkt	Antall påvist (Ct-verdier)
1	10859 Valdalen	Engerdal	30	0
2	33977 Fasle (settefisk)	Nord-Aurdal	30	0
3	10364 Noraker Gård	Nord-Aurdal	30	0
4	13716 Nedre Hande	Vestre Slidre	29	0
5	12341 Lomen Slidrefjorden	Vestre Slidre	30	0
6	13881 Ferisfjorden	Vestre Slidre	30	21 (20,5 -29,6)
	Totalt undersøkt		179	21

F. psychrophilum ble påvist med PCR på samme lokalitet som Veterinærinstituttet tidligere hadde verifisert diagnosen (lokalitet 13881 Ferisfjorden). Her var 21 prøver positive med Ct-verdier mellom 20,5 og 29,6. Blant de fem fiskene som ble obdusert ved Veterinærinstituttet fanget dyrkingen opp tre positive individer, mens PCR fanget opp to.

Veterinærinstituttets prøvejournalssystem

Lokal veterinær sin journal over prøvesvar indikerer at *Flavobacterium psychrophilum* (tidligere *Flexibacter psychrophilus*) har vært påvist av Statens veterinære laboratorier og Veterinærinstituttet så langt tilbake som i 1994 i anlegg i området.

Veterinærinstituttets nåværende prøvejournalssystem har vært bruk fra 1997. Påvisninger av *F. psychrophilum* hos regnbueørret i innlandsoppdrett på lokalitetsnivå, inklusiv Mattilsynets kartlegging i Valdresregionen i 2022, er gjengitt i Tabell 2. Påvisninger utenom Valdresområdet er ikke med i tabellen, men gjelder kun to lokaliteter, Fjellvann I og II i Selje kommune i tidsrommet 2004 og 2007. Hovedtyngden av påvisningene er gjort i tidsrommet juli-oktober med unntak av 33977 Fasle som er undersøkt i forbindelse med Mattilsynets oppfølging i 2022.

I Valdresregionen er det produksjon av settefisk på to lokaliteter, 13881 Ferisfjorden og 33977 Fasle. Disse leverer settefisk til matfiskanleggene i området. Vedlegg 2 viser kart over lokaliteter i Valdresregionen.

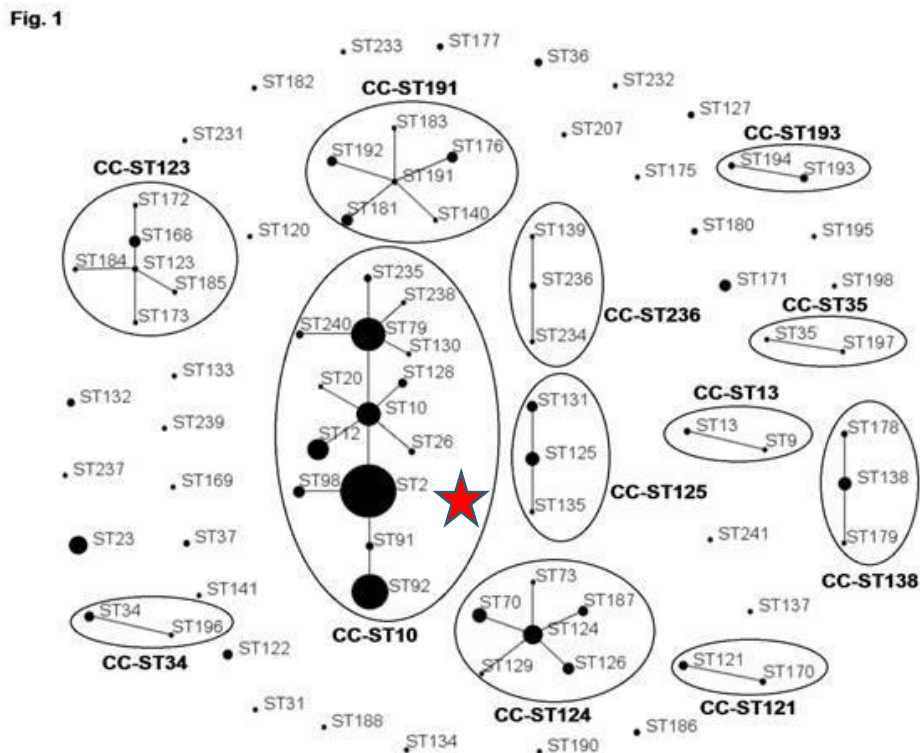
Tabell 2. Oversikt over lokaliteter med påvisning av *F. psychrophilum* i Valdresområdet, inklusiv sekvenstype, år, måned og journalnummer. (Kilde: Veterinærinstituttets prøvejournalssystem)

Måned	År	Lokalitetsnr	Lokalitetsnavn	Eier	Typet til	Saksnr hos Veterinærinstituttet
juli	2004	13881	Ferisfjorden	Røn Gard	ST 2	2004-09-304
Sept.	2009	13881 (?)	Ferisfjorden(?)	Røn Gard	ST 181	2009-09-378
juli	2011	13881	Ferisfjorden	Røn Gard	ST 2	2011-04-13369/ F220
juli	2012	13881	Ferisfjorden	Røn Gard	-	2012-04-13990/F192
juli	2012	12517	Begna	Haadem, Henrik	ST 2	2012-04-13835/ F183
Aug.	2015	13881	Ferisfjorden	Røn Gard	ST 92	2015-04-15772/ F251
Okt.	2018	13881	Ferisfjorden	Røn Gard	ST 168 og ST 92	2018-04-39355/ F206
Sept.	2021	13881	Ferisfjorden	Røn Gard	ST 92	2021-50-532/ F477
Mars	2022	13881	Ferisfjorden	Røn Gard	ST92	2022-50-278
April	2022	33977	Fasle, settefisk	Henrik Haadem	ST 168	2022-50-360
Mai	2022	33977	Fasle, settefisk	Henrik Haadem	ST 168	2022-50-415, 2022-50-417
Mai	2022	33977	Fasle, matfisk	Henrik Haadem	ST 92	2022-50-416, 2022-50-418
Aug	2022	12342	Lofoss Mølle	Lofoss Fisk/ved Endre Røn	ST181	2022-50-606
Aug	2022	12341	Lomen Slidrefjorden	Andris Øygaard	ST 181	2022-50-636

Figur 1 viser nært beslektet sekvenstyper bundet sammen i klonale komplekser (som CC_ST 10, merket med stjerne) og frittliggende sekvenstyper som er antatt å være lokalt geografisk tilpassete stammer.

Sammenholdt med Tabell 2 ser vi at *F. psychrophilum* påvist på lokalitet 13881 Ferisfjorden tilhører det omtalte, virulente klonalkomplekset CC-ST 10. Påvisningene på 33977 Fasle, settefisk tilhører CC-ST123, mens det i matfiskgruppa på samme lokalitet ble påvist *F. psychrophilum* tilhørende CC-ST92. På matfisklokalitetene 12341 Lomen og 12342 Lofoss mølle ble *F. psychrophilum* fra et tredje klonalkompleks påvist CC-ST 191.

Figur 1. Sekvenstyper MLST typing. Øyeblikksbilde av populasjonsstrukturen til *Flavobacterium psychrophilum*.



Vedlegg 3 viser påvisningene i 2021 og 2022 fordelt på settefiskleverandør, mens Vedlegg 4 viser påvisninger fordelt på settefiskleverandør og sekvenstype. Vi har ikke oversikt over årganger og kan ikke utelukke at manglende samsvar mellom settefiskleverandør og sekvenstype skyldes ulikheter mellom årganger. Dette bør undersøkes nærmere. Vedlegg 5 viser kart over lokalitetene samt hvilken sekvenstype påvist på lokaliteten i 2021/2022.

2. Historisk tilbakeblikk på forskrivning av antibiotika

Mattilsynet ønsker et historisk tilbakeblikk på foreskrivning av antibiotika for utfyllende informasjon om betydningen av sykdommen i innlandsoppdrett av regnbueørret.

Forskrivninger og samsvar med verifisering av diagnose

VetReg ble tatt i bruk fra 2011. Antibiotika forskrevet til behandling av regnbueørret med systemisk *F. psychrophilum* infeksjon registreres under diagnosen «Infeksjon med bakterier generelt» i VetReg.

Reseptdata fra VetReg fra perioden 2011-2021 viser at det på lokalitet 13881 Ferisfjorden er igangsatt antibiotikabehandling årene 2011, 2012 og alle årene i perioden 2017-2021. Flere av disse årene er antibiotika forskrevet mer enn en gang (Tabell 3).

Veterinærinstituttet har ikke bekreftet diagnosen systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* fra den aktuelle lokaliteten for årene 2017, 2019 og 2020, og innsendelser til Veterinærinstituttet fra disse årene er heller ikke registrert i Veterinærinstituttets prøvejournal system (se tabellene 2 og 3).

Ettersom systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* hos regnbueørret har vært en listeført sykdom siden 2013 må en forutsette at Mattilsynet ville blitt varslet dersom diagnose er stilt ved et annet laboratorium enn Veterinærinstituttet.

I følge Mattilsynets rådgivere har antibiotikabehandling blitt igangsatt basert på veterinærens gjenkjennelse av det kliniske bildet ved *F. psychrophilum* septikemi. Dette samsvarer med registreringer i Veterinærinstituttets prøvejournalssystem og VetReg. Enkelte år samsvarer tidspunkt for diagnostikk ved Veterinærinstituttet med andre eller tredje gangs forskrivning av florfenikol.

Manglende oppføring i VetReg

I følge journal hos lokal helsetjeneste er det forskrevet florfenikol den 14.07.12 og 10.08.12 hos en oppdretter i Valdresregionen. Beskrivelsen samsvarer med verifisert diagnose *F. psychrophilum* septikemi hos regnbueørret ved Veterinærinstituttet (VIs saksnummer 2012-04-13835), men forskrivningene er ikke registrert i VetReg.

Tabell 3. Viser en oversikt over forskrivelser av antibiotika til lokalitet 13881 Ferisfjorden i perioden 2016-2021 (Kilde VetReg). Alle unntatt en forskriving er utlevert som premiks til medisinfôr.

Utlevert dato	Lokalitet	Levert mengde i kg	Varenavn
08.07.2011	13881 FERISFJORDEN	1.0	Oxolinsyre
22.07.2011	13881 FERISFJORDEN	0.9	Florfenikol
24.07.2012	13881 FERISFJORDEN	1.0	Florfenikol
23.08.2017	13881 FERISFJORDEN	0.6	Florfenikol
24.07.2018	13881 FERISFJORDEN	0.3	Florfenikol
29.08.2018	13881 FERISFJORDEN	0.4	Florfenikol
23.10.2018	13881 FERISFJORDEN	1.3	Floraqpharma vet*
07.08.2019	13881 FERISFJORDEN	0.25	Florfenikol
28.08.2019	13881 FERISFJORDEN	0.6	Florfenikol
11.08.2020	13881 FERISFJORDEN	0.5	Florfenikol
07.09.2020	13881 FERISFJORDEN	0.3	Florfenikol
17.08.2021	13881 FERISFJORDEN	0.3	Florfenikol
16.09.2021	13881 FERISFJORDEN	0.4	Florfenikol

* Medisinpellets

Betydningen av *F. psychrophilum* septikemi i innlandsoppdrett for nasjonalt forbruk av antibiotika til regnbueørret.

Det meste av regnbueørretproduksjonen i Norge foregår i havbruk langs kysten i produksjonsområdene 3–5 og 9. I 2021 ble det produsert 84 000 tonn regnbueørret i norsk havbruksnæring.

Uttrekk fra VetReg viser imidlertid at *F. psychrophilum* septikemi hos settefisk i innlandsoppdrett har dominert som årsak til forskriving av antibiotika til regnbueørret. I fire av de fem siste årene har behandling av i størrelsesorden 100 000 yngel på en lokalitet i innlandsoppdrett stått for det totale forbruket av antibiotika i produksjon av regnbueørret, i havbruk og innlandsoppdrett, i Norge (Tabell 4). Oversikten fra de siste fem år viser at *F. psychrophilum* septikemi er den viktigste årsaken til forskriving av antibiotika til regnbueørret nasjonalt.

Tabell 4. Forbruk av antibiotika (kg aktivt stoff) til regnbueørret i innlandsoppdrett og totalforbruk til regnbueørret i oppdrett nasjonalt, dvs. totalt til settefisk, matfisk og stamfisk i havbruk og innlandsoppdrett (Kilde: VetReg).

	2017	2018	2019	2020	2021
Innlandsoppdrett	0.6	2	0.85	0.8	0.7
Regnbueørret totalt Norge	0.6	2	0.85	1.3	0.7
Andel brukt i innlandsoppdrett %	100	100	100	62	100

3. Smittereservoir og tiltak for økt biosikkerhet

Mattilsynet beskriver at innlandsoppdrettsanleggene benytter Slidrefjorden og Strandefjorden/Strondafjorden (heretter kalt Strondafjorden) som vannkilde og resipient for avløpsvann. Vann tas inn og slippes ut urensset/uten desinfeksjonsledd.

a) Mattilsynet ber Veterinærinstituttet foreslå undersøkelser som kan gjennomføres for å kartlegge «flavo-statusen» i vassdraget?

Bakgrunn: Om bakterien og genetisk typing

I regnbueørretproduksjon er ferskvannsbakterien *Flavobacterium psychrophilum* som forårsaker sykdommen BCWD (bacterial cold water disease), regnet som den største tapsfaktoren verden over. Vaksiner er fortsatt på forskningsstadiet, stikkvaksiner er utviklet for større fisk, men vaksiner har vist seg å ikke være økonomisk forsvarlig. De største tapene forekommer også hos liten fisk og yngel før stikkvaksinering er mulig. Sykdommen kontrolleres derfor med biosikkerhetstiltak og antibiotika.

Mottagelighet for sykdommen varierer hos forskjellige fiskearter. Sykdommen kan gi høy dødelighet hos regnbueørret og sølv laks (Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*) mens bakterien stort sett gir mildere forløp, med sår og finneråte, hos for eksempel laks (*Salmo salar*) og brunørret (*Salmo trutta*). I tillegg finnes det mange varianter (stammer) av *F. psychrophilum* med forskjellige evne til å fremkalle sykdom og en viss grad av vertsspesifisitet.

Nilsen og medarbeidere karakteriserte totalt 560 stammer *F. psychrophilum* fra nordiske land med MLST (multilocus sequence typing) fra perioden 1983-2012 (Nilsen et al. 2014). Arbeidet viste at alvorlig sjukdom hos regnbueørret i Norge, med få unntak, har vært forårsaket av én bakterievariant, som tilhører en gruppe innbyrdes nærmest like bakterier med samme «stamfar», et klonalt kompleks betegnet CC_ST10. Bakterievariantene innenfor dette komplekset er funnet hos syk regnbueørret i oppdrett verden over (Siekoula-Nguedia 2012, Van Vliet 2016, Knupp et al 2019).

Stammer som tilhører dette CC_ST10 komplekset har vist seg å ha større evne til å feste seg til slim fra regnbueørret (Sundell 2015) og har oftere nedsatt følsomhet for kinolon antibiotika (for eksempel oxolinsyre og flumequin) enn varianter utenfor dette komplekset. Det er antatt at disse variantene også har spredd seg med regnbueørret (fisk og rogn) mellom kontinenter (Duchaud et al. 2018).

Den store diversiteten blant stammer utenfor komplekset, og som oftest isoleres fra andre fiskearter enn regnbueørret, kan være forenlig med at dette er mer lokalt geografisk tilpassete stammer (Knupp et al. 2019). I Norge er varianter som er isolert fra laks også funnet i forbindelse med sykdom hos regnbueørret ved et par anledninger (se Figur 1, Vedlegg 4).

Bakgrunn: Om forutsetninger for bakterie forekomst i vannkilde og villfisksamfunn i Sildrefjorden og Strondafjorden

Slidrefjorden og Strondafjorden er en del av det vannkraftregulerte Begnavassdraget (Vedlegg 2 Kart over Slidrefjorden, Ferisfjorden og Strondafjorden med angivelse av lokaliteter). Slidrefjorden strekker seg fra Lomen i nord til Fosheim i sør, og er vel 2 mil lang. Strondafjorden (Strandefjorden) ligger nedstrøms Slidrefjorden og er en smal og dyp innsjø med lengde på 17 km (SNL). Mellom Slidrefjorden og Strondafjorden ligger Ferisfjorden, adskilt med vandringshinder (foss, dam) mot henholdsvis Slidrefjorden i nordvest og Strondafjorden i sørøstenden.

Forutsetning for smitteoverføring

Smitte mellom anlegg via felles resipient og vannkilde krever at bakterier som skilles ut fra fisk i ett anlegg overlever og fraktes med vannmassene inn i neste eller samme anlegg hvor de infiserer mottakelige individer. Det er vist at bakterien kan overleve 300 dager under laboratorieforhold, i et i utgangspunktet sterilt miljø uten andre konkurrerende organismer (Madetoja, et al. 2003). Bakterien er funnet i alger og vann i elver i Japan ved hjelp av PCR (Amita 2000).

Alternativet til overføring mellom anlegg via vann er at bakterien infiserer en annen vert i resipient/vannkilde og oppformerer i denne før den skilles ut og tas opp i neste anlegg hvor mottakelig fisk infiseres.

I vassdraget er det brunørret, sik (*Coregonus lavaretus*), ørekyt (*Phoxinus phoxinus*) og abbor (*Perca fluviatilis* L). Lönnström og medarbeidere (2008) beskriver et utbrudd av *Flavobacterium psychrophilum* infeksjon hos oppdrettet abbor i et resirkuleringsanlegg der bakterieinfeksjonen ble assosiert både med munnrate og systemisk infeksjon.

I perioder har det vært høyt antall regnbueørret i Slidrefjorden som følge av rømminger fra oppdrett. I 1987 var innslaget av regnbueørret i prøvefisket 45,7 %, brunørret 39,5 % og abbor 14,8 % (Brabrand 1988). I fangstregistreringene fra senere år har det ikke vært innslag av regnbueørret, men ordningen har hatt lav oppslutning, dermed er det stor usikkerhet og rom for tilfeldigheter (Statsforvalteren i innlandet 2022).

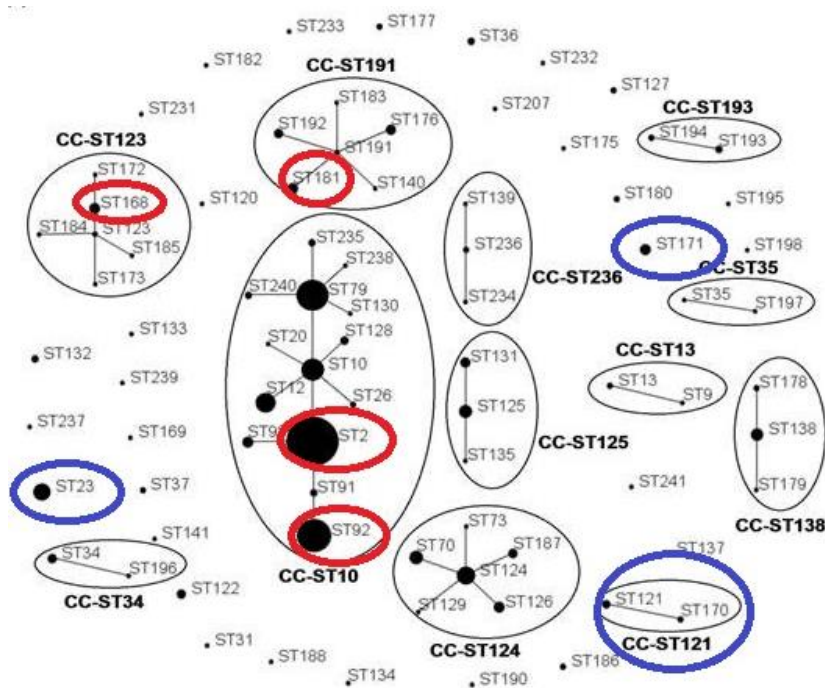
Det drives kompensatorisk kultiveringsarbeid i form av pålegg om årlige utsett av to-somrig brunørret av opprinnelig stamme (to-somrig vil si utsatt to somre etter klekking). Kultivert fisk produseres i dag av Fjellstyrene i Oppland (FOSA) sitt settefiskanlegg i Aust-Torpa. I 2020 ble det for eksempel satt ut 4500 to-somrig ørret (Anon 2021). Det er tidligere satt ut brunørret i Slidrefjorden fra anlegget AL Settefisk på Reinsvoll som ble nedlagt i 2008. Både i anlegget til FOSA i Aust-Torpa og ved AL Settefisk på Reinsvoll er det gjort påvisninger av *Flavobacterium psychrophilum* på brunørret i forbindelse med sykdomsoppklaring. Bakterieisolatene fra brunørret tilhører andre genetiske varianter enn bakterieisolater påvist hos regnbueørret (Nilsen et al 2014) (Tabell 5 og Figur 2).

Oppsummert kan *F. psychrophilum* potensielt overleve relativt lenge i vann, alternativt i biofilm eller i vill og rømt fisk i vannkilde/resipient. Det finnes imidlertid lite konkret kunnskap om dette.

Tabell 5 *Flavobacterium psychrophilum* påvisninger i kultiveringsanlegg med utsett i Slidrefjorden

Art	År	Konsesjonsnummer	Eier	Kommune	Typet til	Saksnr
Brunørret	1998	OPNL0501	FOSA	Nordre Land	ST 23	1998-09-1234
Brunørret	1998	OPVT0501	AL Settefisk	Vestre Toten	ST 171	1998-09-1131
Brunørret	1998 1999	OPVT0501	AL Settefisk	Vestre Toten	ST 121	1998-09-798
Brunørret	1999	OPVT0501	AL Settefisk	Vestre Toten	ST121	1999-09-502,
Brunørret	1999	OPVT0501	AL Settefisk	Vestre Toten		1999-09-1045

Figur 2 viser samme oversikt over sekvenstyper av *Flavobacterium psychrophilum* etter MLST typing som i Figur 1, men med sekvenser påvist hos regnbueørret i Valdresområdet uthevet med røde sirkler og sekvenstyper påvist hos kultivert ørret uthevet med blå sirkler.



Figur 2. *Flavobacterium psychrophilum* i regnbueørret (rød sirkel) og kultivert brunørret (blå sirkel).

Forslag til undersøkelser for å kartlegge «flavo-statusen» i Begna vassdraget

Bakterien *Flavobacterium psychrophilum* kan påvises ved dyrkning, og deler av arvematerialet kan påvises ved hjelp av molekylærgenetiske metoder.

Bakterien vokser i løpet av 3 til 6 dager på spesielle medier (KDM, Anacker, Ordals medium og TYES). Isolering ved dyrkning vil muliggjøre typing ved hjelp av MLST.

Undersøkelse av rømt regnbueørret og villfisk (sik, abbor, ørret, ørekyt) som er fanget/fisket i vassdraget er mulig. Fortrinnsvis bør det tas prøver av eventuelle sår og finneskader, eventuelt fra munnhule. Det er påvist varianter både i og utenfor CC_ST10 i innlandsanlegg i Norge. I dette ligger det en mulighet for at *Flavobacterium psychrophilum* varianter som kan representere en belastning for andre arter enn regnbueørret kan finnes hos villfisk. Både dyrkning og bruk av rtPCR på materiale fra nyre/milt, finne og hud er mulig.

qPCR assay for *Flavobacterium psychrophilum* kan også brukes til påvisning av bakterien fra filtrert vann og/eller svaber fra overflater som stein og grus i vassdraget. Assayet som er implementert ved Veterinærinstituttet skiller ikke mellom forskjellige varianter av *Flavobacterium psychrophilum*, men vil gi informasjon om mengde/tilstedeværelse/ikke tilstedeværelse og kan brukes som en indikator for oppfølgende dyrkningsforsøk.

Hvis bakterien påvises med rtPCR fra fisk eller miljø kan det også være mulig å dyrke bakterien fra miljøprøver som elvegrunn, steiner, grus osv. Dyrkning fra slike miljøprøver kan være utfordrende fordi annen forurensende bakterieflora kan gi rikelig vekst og vanskeliggjøre isolering av bakterien. Nedsatt følsomhet for kinolon antibiotika hos stammer av *Flavobacterium psychrophilum* som tilhører det klonale komplekse CC_ST10 vil imidlertid kunne vokse på medier tilsatt antibiotika.

Slike selektive medier vil hemme vekst av miljøbakterier og til en viss grad tilrettelegge for vekst av *Flavobacterium psychrophilum* fra miljø. Veksten av kinolon sensitive bakterier vil kunne bli hemmet.

MLST-typing kan videre gi informasjon om forekomst av spesielle sjukdomsfremkallende varianter for regnbueørret i miljøet i vassdraget.

Forekomst av sjukdomsfremkallende varianter av *Flavobacterium psychrophilum* i villfisk og miljø er lite undersøkt. For å utelukke at det forekommer et bakgrunnsnivå av sjukdomsfremkallende varianter i miljøet, kan det være nødvendig å inkludere flere vassdrag med og uten nær tilknytning til oppdrett for en vurdering om Begna Vassdraget har en annen status som følge av oppdrett. Negative resultater vil være beheftet med en viss grad av usikkerhet.

- b) Dersom det blir avdekka smitte av flavobakterien i vassdraget, finnes det metode for sikker behandling av inntaksvannet for å sikre at ferskvannskilden ikke fører flavosmitte inn i anleggene?
- c) For å være føre-var kan det være grunn til behandling av inntaksvannet uansett?

Veterinærinstituttets svar (b og c):

Det er viktig å merke seg at ikke bare fisk i oppdrettsanlegg, men også vill og kultivert fisk i vassdraget kan være bærere av smittestoff som kan introduseres til oppdrettsanlegg via inntak av vann. Behandling av inntaksvann til oppdrettsanlegg er derfor et viktig systematisk tiltak som vil ha en generell smittereduserende effekt.

Behandling av inntaksvann og avløpsvann er også viktig for å redusere “spill-back” effekter, det vil si at smittestoff med opprinnelse i vill eller oppdrettet fisk oppformerer i oppdrettspopulasjoner og slippes tilbake til vassdraget.

Rapporter fra helsetjenestene og kultiveringsanlegg viser at kultivert brunørret kan være bærere av en lang rekke parasitter. Både *Tetracapsuloides bryosalmonae* som gir proliferativ nyresyke (PKD) og *Ichthyophthirius multifiliis* som gir hvitprikksyke er påvist i kultiveringsanlegg som har levert ørret til Begnavassdraget (pers med. Åse Helen Garseth, Ketil Skår).

I forbindelse med sykdomsutbrudd hos villfisk (sik) i Strondafjorden i 1990/1991 ble det påvist saprolegniose (*Saprolegnia sp.*) og yersiniose hos syk fisk, hvor *Yersinia ruckeri* serovar O1 og serovar O2 ble isolert fra 9 av 39 undersøkte sik (Taksdal, T. & Håstein, T. 1992, Johnsen & Ugedal, 2001). I følge Johnsen & Ugedal (2001) var det også på dette tidspunktet dårlig vannkvalitet i Strondafjorden med algeoppblomstring med flagellaten *Uroglena americana*.

Mattilsynets overvåkingsprogram for vill laksefisk har ikke gjort undersøkelser i Begnavassdraget, men viser at for eksempel Candidatus *Branchiomonas cysticola*, som er knyttet til gjelleinfeksjoner hos fisk i oppdrett, forekommer hos henholdsvis brunørret og sik i vannforekomster uten oppgang av anadrom fisk (Gåsnes et al 2019, Garseth et al 2021). Det er grunn til å tro at villfisk i dette vassdraget også er bærere av ulike smittestoff som kan overføres med vann til regnbueørret i oppdrett.

UV bestråling

Desinfeksjon av inntaksvann med UV-bestråling er en etablert praksis i akvakulturnæringen. Det er gjort flere studier vedrørende effekt av UV-bestråling på ulike fiskepatogene agens (Liltved et al 1995, Liltved et al 2006, Øye & Rimstad 2001, Yoshimizu et al 1990, Yoshimizu et al 2005). Generelt kan det sies at UV-sensitivitet for ulike genus av fiskepatogene bakterier er relativt lik. Stort sett vil man oppnå reduksjon i bakterieantall på 3-5 log₁₀ (99,9 - 99,999 %), ved UV-doser på 2 - 15 mJ/cm². Det er noe ulik kvalitet på de studier som er gjort vedrørende UV-sensitivitet for fiskepatogene bakterier. Ikke alle studier er gjort ved hjelp av «collimated beam testprotokoll», som er den foretrukne testprotokoll for UV-sensitivitetsstudier. Det er derfor noe usikkerhet knyttet til publiserte UV-sensitivitetsdata. Det er publisert én studie vedrørende UV-sensitivitet for *F. psychrophilum* av Hedrick et. al. 2000. Resultater fra denne studien skiller seg vesentlig ut fra de fleste studier av UV-sensitivitet for bakterier, siden det rapporteres inaktivering av bakterie ved så høy dose som 126 mJ/cm². Det er derfor ønskelig

å gjennomføre «collimated beam»-tester på suspensjoner av *F. psychrophilum* for å se om disse resultatene kan reproduseres, eller om UV-sensitivitet er i samme størrelsesorden som for andre fiskepatogene bakterier.

Uten at man kjenner sensitivitet til *Flavobacterium* mot ulike desinfeksjonsmetoder og midler, er det vanskelig å vurdere om definerte metoder/tiltak har smitteforebyggende effekt. For å svare på dette bør det derfor gjøres dose-responsforsøk.

Andre forhold og observasjoner

I forbindelse med utredningen har Veterinærinstituttet observert andre relevante forhold knyttet spesielt til fiskevelferd og generell fiskehelseberedskap i innlandsoppdrett.

Beredskap fiskehelse

Flavobacterium psychrophilum septikemi er en listeført sykdom som skal varsles til Mattilsynet med påfølgende verifisering av diagnosen ved Veterinærinstituttet (som NRL). Flere av de alvorlige smittsomme sykdommene hos regnbueørret har kliniske tegn og obduksjonsfunn som kan ligne hverandre, og er derfor differensialdiagnoser til *F. psychrophilum* septikemi. I en beredskapssammenheng er det derfor viktig at det er nær kontakt mellom helsetjenester for innlandsoppdrett og kompetansemiljø med adekvate diagnostiske tjenester.

Skjelettdeformiteter og fiskevelferd

Sammenhengen mellom tidligere infeksjon med *F. psychrophilum* og utvikling av skjelettdeformasjoner er kjent fra klinisk fiskehelsepraksis og er beskrevet i litteraturen (Madsen m fl. 2001). I forbindelse med Veterinærinstituttets obduksjon av regnbueørret med *F. psychrophilum* mistanke fra innlandsoppdrett i Valdres i 2021 og 2022 har innslaget av skjelettdeformiteter vært høyt. Også i helseovervåkingsprogrammet for syk villfisk 2021 viste obduksjonsskjema fra enkelte anlegg et høyt innslag av skjelettdeformiteter. Vi kan ikke utelukke at skjelettdeformitetene som er registrert har en sammenheng med flavobacteriosen, og at infeksjonen dermed kan ha en langsiktig effekt på fiskevelferden til overlevende fisk (Figur 3).

Figur 3: Viser to regnbueørret fra innlandsoppdrettsanlegg i Valdres. Begge har deformiteter i ryggstøyle. Foto: Anne Berit Olsen, Veterinærinstituttet



Oppsummering og hovedkonklusjoner

Forekomst

Veterinærinstituttets nåværende prøvejournalssystem ble tatt i bruk fra 1997. Lokal veterinær sin journal indikerer imidlertid at *Flavobacterium psychrophilum* (tidligere *Flexibacter psychrophilus*) har vært påvist av Statens veterinære laboratorier/ Veterinærinstituttet så langt tilbake som i 1994 i anlegg i området.

Gjennomgangen av Veterinærinstituttets nåværende prøvejournalssystem viste at diagnosen *F. psychrophilum* septikemi har blitt påvist en rekke år på en enkelt lokalitet, men at også flere andre lokaliteter i Valdresregionen er berørt. Dette innebærer blant annet at begge settefiskeleverandørene i regionen er berørt. Over år er det påvist ulike sekvenstyper, men for denne utredningen har vi ikke hatt tilstrekkelig informasjon om de aktuelle fiskegruppene for smittesporing.

Den PCR-baserte kartleggingen av materiale fra OK-villfisk 2021 bidro ikke til å avdekke flere smittetilfeller, men støttet resultatet fra Veterinærinstituttets diagnostikk.

Fravær av *F. psychrophilum* ved engangsundersøkelse av et lite antall fisk og miljøprøver er ikke tilstrekkelig til å anse anlegget som fri for bakterien. Det er nødvendig med gjentatte prøveuttak og overvåking over tid.

Skjelettdeformiteter hos regnbueørret undersøkt ved Veterinærinstituttet i forbindelse med denne utredningen, viser at *F. psychrophilum*-infeksjon gjennom deformateter, kan påvirke fiskevelferden hos overlevende fisk.

Antibiotikabruk og utslipp

VetReg ble tatt i bruk fra 2011. Antibiotika forskrevet til behandling av regnbueørret med systemisk *F. psychrophilum* infeksjon registreres under diagnosen «Infeksjon med bakterier generelt» i Vet Reg. Triangulering av tre ulike kilder (lokal veterinærs journal, Veterinærinstituttet og VetReg) tyder på at oversikten over forskrivning av antibiotika i VetReg ikke er komplett.

Under forutsetning av at forskrivningen av florfenicol og oxolinsyre alltid har hatt *F. psychrophilum* septikemi som indikasjon, viser oppføringer i VetReg at det har vært årlige utbrudd i perioden 2017-2021 og i tillegg fra 2012 og 2011. Veterinærinstituttet (som NRL) har ikke bekreftet diagnosen infeksjon med *F. psychrophilum* ved 13881 Ferisfjorden i forbindelse med igangsatt antibiotikabehandling i 2017, 2019 eller 2020, og i flere tilfeller fremstår det som at diagnostikk ved Veterinærinstituttet initieres etter at forskrivning av florfenicol er forsøkt en til to ganger. Dette er uheldig praksis både med hensyn til antibiotikabruk, den nasjonale oversikten over listeførte sykdommer, og ikke minst muligheten til raskt å oppdage andre alvorlige sykdommer hos regnbueørret.

Antibiotika foreskrevet som behandling mot flavobacteriose i innlandsoppdrett står for en betydelig andel av totalt antibiotikaforbruk til regnbueørret i oppdrett i Norge. Til tross for at regnbueørret i havbruk (settefisk, matfisk og stamfisk) er den dominerende produksjonen, viser uttrekk fra VetReg at *F. psychrophilum* septikemi hos settefisk i innlandsoppdrett har

stått for 100% av det totale forbruket av antibiotika i produksjon av regnbueørret i Norge i fire av de fem siste årene (Tabell 4).

Avløpsvannet fra anlegg går urensset ut i Begnavassdraget og potensielt eksponerer villfisk, mikrobiota m.m. for antibiotika og bakterier som kan være resistente mot antibiotika med påfølgende fare for utvikling og spredning av antibiotikaresistens. Villfisk fra Begnavassdraget benyttes også som matfisk, både av fritidsfiskere og kommersielt.

Smitte mellom anlegg og til villfisk

Det er begrenset kunnskap om hvordan spredning av *F. psychrophilum* som skilles ut fra smittede anlegg påvirker villfisk. Over år er det påvist ulike sekvenstyper, men det er ikke tilgjengelig tilstrekkelig informasjon om de aktuelle fiskegruppene for smittesporing og -utredning.

Med vennlig hilsen



Edgar Brun
Avdelingsdirektør
Avd. for fiskehelse og -velferd



Åse Helen Garseth
Fagansvarlig for villfiskhelse
Avd. for fiskehelse og -velferd

Vedlegg:

Vedlegg 1: Referanser

Vedlegg 2: Kart over lokaliteter Valdresregionen

Vedlegg 3: Påvisninger fra 2021 og 2022 organisert etter settefiskleverandør

Vedlegg 4: Samme som vedl.3, fargelegging etter sekvenstype.

Vedlegg 5. Kart over lokaliteter Valdresregionen sekvenstyper 2021/2022

Vedlegg 1. Referanser

Anonymous 2021. Foreningen til Bægnavassdragets Regulering 113. driftsår ÅRSRAPPORT 2020 <http://www.begna.no/dokument/arsrapport2020.pdf>

Amita, K., Hoshino, M., Honma, T., & Wakabayashi, H. (2000). An investigation on the distribution of *Flavobacterium psychrophilum* in the Umikawa River. *Fish Pathology*, 35(4), 193-197.

Brabrand Å. 1988 Fiskebiologiske undersøkelser i Slidrefjorden, Oppland Fylke: Grunnlag for utsettingspålegg. Rapp. Laboratoriet for ferskvannøkologi og innlandsfiske Oslo 101, 40. <https://www.nhm.uio.no/forskning/publikasjoner/lfi-rapporter/101.pdf>

Duchaud, E., Rochat, T., Habib, C., Barbier, P., Loux, V., Guérin, C., & Nicolas, P. (2018). Genomic diversity and evolution of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Frontiers in microbiology*, 9, 138.

Garseth, Åse Helen, Fornes, Gunn Jorid & Sollien, Vegard P. Health monitoring of wild anadromous salmonids in freshwater in Norway 2020. Surveillance program report. Veterinærinstituttet 2021. <https://www.vetinst.no/overvaking/health-monitoring-of-wild-fish>

Gåsnes SK, Garseth ÅH, Thoen E (2019) Health monitoring of wild anadromous salmonids in freshwater in Norway 2018. Norwegian Veterinary Institute 2019. <https://www.vetinst.no/overvaking/health-monitoring-of-wild-fish>

Hedrick R P, McDowell T S, Marty G D, Mukkatira K, Antonio D B, Andress K B, Bukhari Z and Clancy T. 2000. Ultraviolet irradiation inactivates the waterborne infective stages of *Myxobolus cerebralis*: a treatment for hatchery water supplies. *Diseases of Aquatic Organisms*, 42:53-59, 2000.

Hesthagen, T. & Østborg, G. 1999. Kartlegging av naturlige fiskesamfunn i innsjøer på Østlandet. NINA Oppdragsmelding.604: 1-38.

Johnsen, B.O. & Ugedal, O. 2001. Soppinfeksjoner (*Saprolegnia* spp.) på laksefisk i Norge - statusrapport. - NINA Oppdragsmelding 716:1-34.

Knupp, C., Wiens, G. D., Faisal, M., Call, D. R., Cain, K. D., Nicolas, P. & Loch, T. P. (2019). Large-scale analysis of *Flavobacterium psychrophilum* multilocus sequence typing genotypes recovered from North American salmonids indicates that both newly identified and recurrent clonal complexes are associated with disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(6), e02305-18.

Liltved, H., Hektoen, H., Efraimsen, H., 1995. Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonation or UV irradiation in water of different salinity. *Aquacult. Eng.* 14, 107-122.

Liltved H., Vogelsang C., Modahl I. and Dannevig B.H. 2006. High resistance of fish pathogenic viruses to UV irradiation and ozonated seawater. *Aquacultural Eng* 34, 72-82.

Lönström, L-G Hoffrén M L and T Wiklund 2008, *Flavobacterium psychrophilum* associated with mortality of farmed perch, *Perca fluviatilis* L. *Journal of Fish Diseases* 2008,31,793-797doi:10.1111/j.1365-2761.2008.00967.x

Madetoja, J., Dalsgaard I. and Wiklund, T., "Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in fish-farming environments." *Diseases of aquatic organisms* 52.2 (2002): 109-118.

Madetoja, J., Nystedt, S., & Wiklund, T. (2003). Survival and virulence of *Flavobacterium psychrophilum* in water microcosms. *FEMS microbiology ecology*, 43(2), 217-223.

Madsen, L., Arnbjerg, J., & Dalsgaard, I. (2001). Radiological examination of the spinal column in farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): experiments with *Flavobacterium psychrophilum* and oxytetracycline. *Aquaculture Research*, 32(3), 235-241.

Nilsen, H., Sundell, K., Duchaud, E., Nicolas, P., Dalsgaard, I., Madsen, L., & Wiklund, T. (2014). Multilocus sequence typing identifies epidemic clones of *Flavobacterium psychrophilum* in Nordic countries. *Applied and environmental microbiology*, 80(9), 2728-2736.

Siekoula-Nguedia, C., Blanc, G., Duchaud, E., & Calvez, S. (2012). Genetic diversity of *Flavobacterium psychrophilum* isolated from rainbow trout in France: predominance of a clonal complex. *Veterinary microbiology*, 161(1-2), 169-178.

Statsforvalteren i Innlandet 2021 Bedre bruk av fiskeressursene i regulerte vassdrag i Oppland. fangstregistreringer-i-slidrefjorden.pdf (statsforvalteren.no) (Fangstregistreringer fra perioden 1989-2021)

Sundell, K., & Wiklund, T. (2015). Characteristics of epidemic and sporadic *Flavobacterium psychrophilum* sequence types. *Aquaculture*, 441, 51-56.

Taksdal, T. & Håstein, T. 1992. Veterinærundersøkelser av syk fisk fra Begnavassdraget. S. 22-24 i Hegge, O & Østdahl, T. Fiskedød i Begnavassdraget. - Fylkesmannen i Oppland, Miljøvernnavd. Rapport 14: 1-30.

Van Vliet, D., Wiens, G. D., Loch, T. P., Nicolas, P., & Faisal, M. (2016). Genetic diversity of *Flavobacterium psychrophilum* isolates from three *Oncorhynchus* spp. in the United States, as revealed by multilocus sequence typing. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(11), 3246-3255.

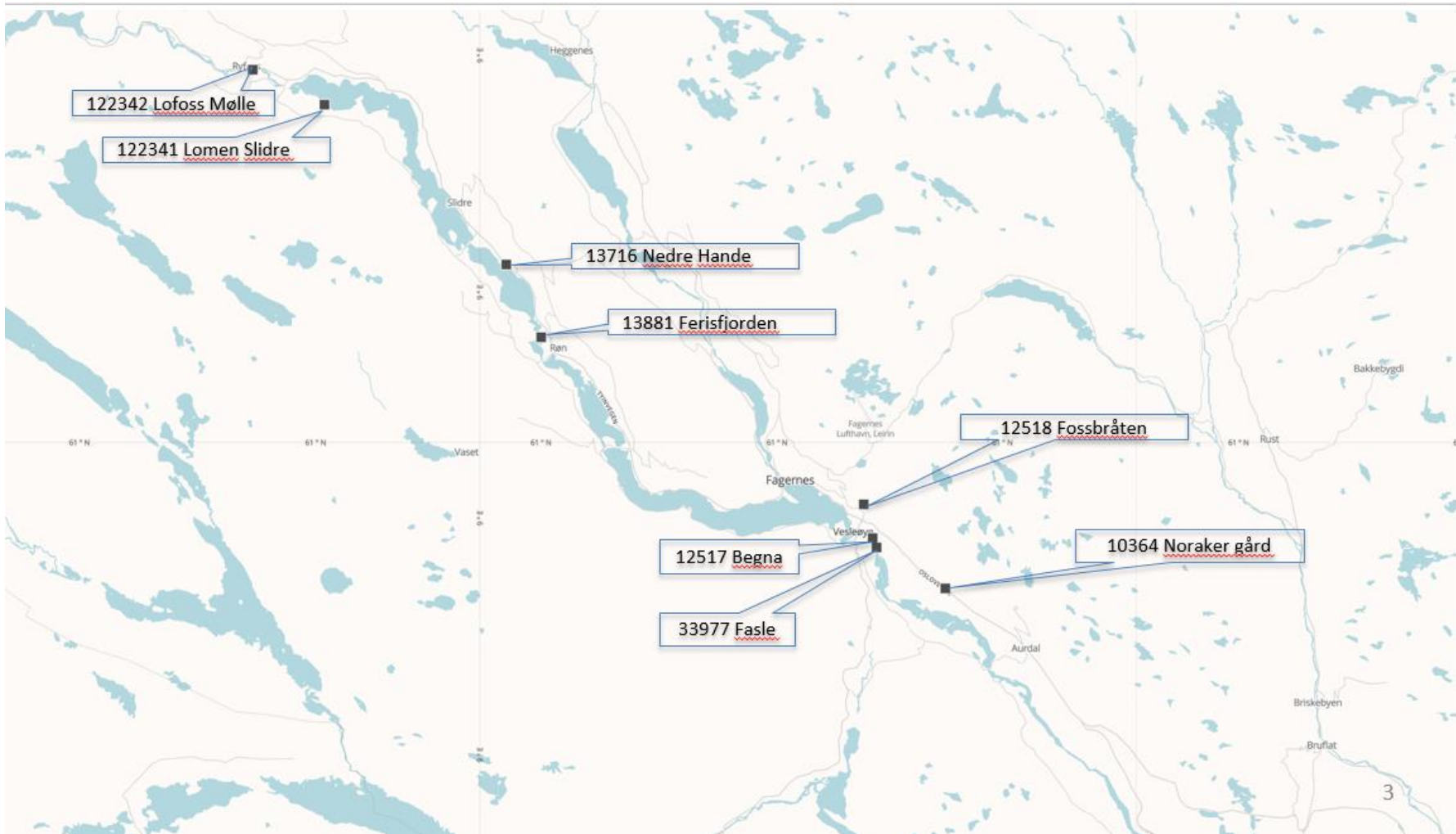
Yoshimizu, M., Takizawa, H., Sami, M., Kataoka, H., Kugo, T., and Kimura, T. 1990 Disinfectant Effects of Ultraviolet Irradiation on Fish Pathogens in Hatchery Water Supply. Second Asian Fisheries Forum. 17-22 April 1989. Tokyo, Japan

Yoshimizu, M., Yoshinaka T., Shuichi H. and Hisae K. 2005. Survivability of Fish Pathogenic Viruses in Environmental Water, and Inactivation of Fish Viruses. Bulletin of Fisheries Research Agency, Supplement No.2, 47-54

Øye, A.K., Rimstad, E., 2001. Inactivation of infectious salmon anaemia virus, viral haemorrhagic septicaemia virus and infectious pancreatic necrosis virus in water using UVC irradiation. *Dis. Aquat. Org.* 48



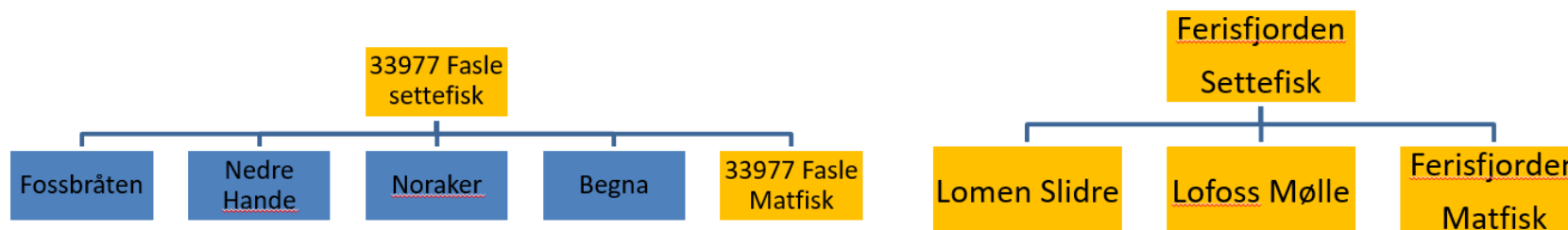
Vedlegg 2: Kart over oppdrettslokaliteter med regnbueørret i Valdresregionen (utdrag fra Barentswatch).





Gruppert etter settefiskleverandør

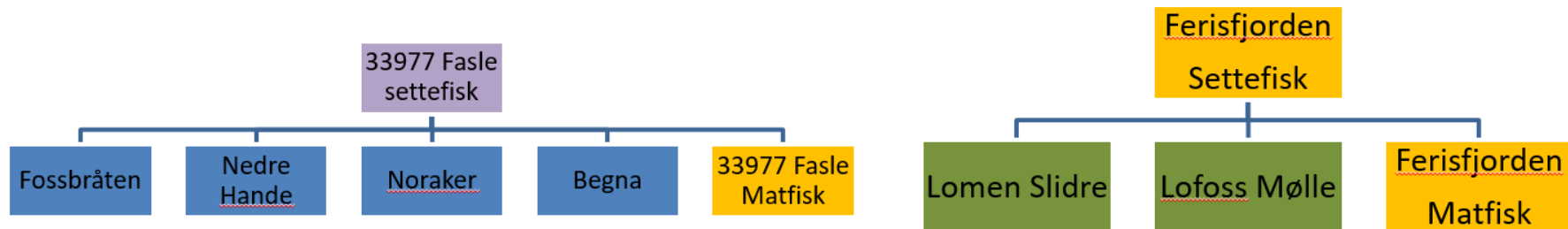
Påvist og ikke-påvist 2021/2022



Vedlegg 4: Påvisninger av anlegg med *Flavobacterium psychrophilum* med fargelegging etter sekvenstype (sees sammen med vedlegg 3)

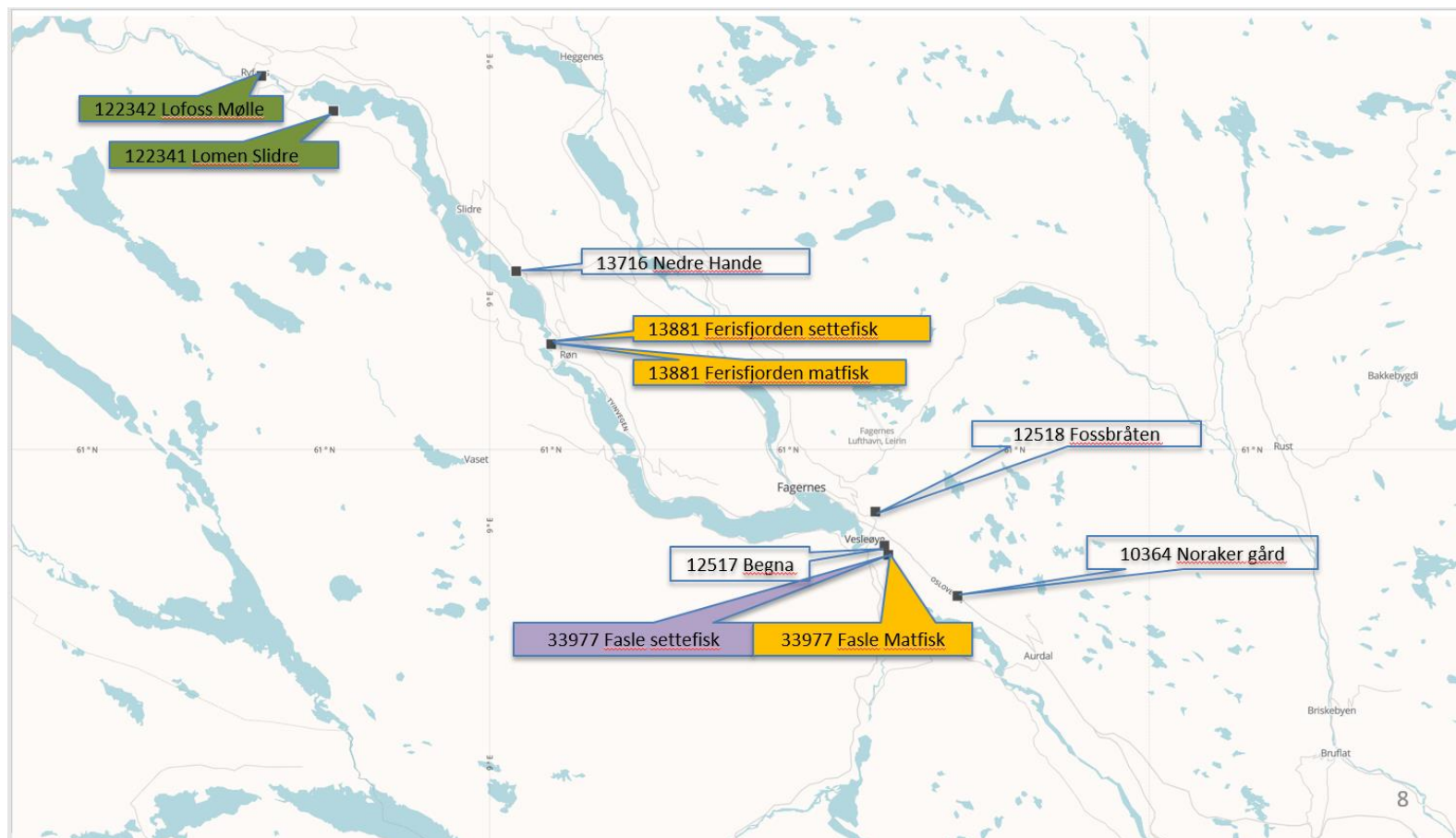
Gruppert etter sekvenstype

ikke-påvist, **ST92**, **ST168** og **ST181**





Vedlegg 5. Kart over oppdrettslokaliteter Valdresregionen basert på sekvenstyper 2021/2022





Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Veterinærinstituttet
Arboretveien 57, 1433 Ås
Postboks 64, 1431 Ås

Besøk: Elizabeth Stephansens vei 1, 1433 Ås

TLF 23 21 60 00
EPOST postmottak@vetinst.no
WEB vetinst.no

ORG. NR 970 955 623 MVA
BANKKONTO 7694 05 12030