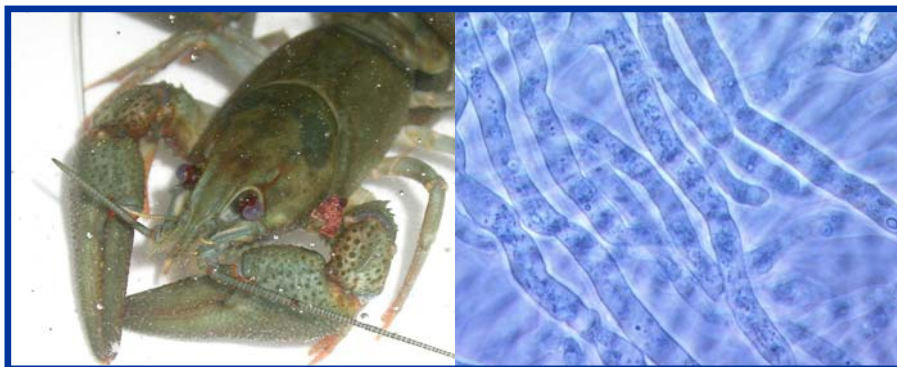


Rapport

Krepsepest - smitteforhold i norske vassdrag og forebyggende tiltak mot videre spredning



Trude Vrålstad
Tore Håstein
Trond Taugbøl
Atle Lillehaug

ISSN 0809-9197 (trykt utg.)
ISSN 1890-3290 (online)



Innhold

1.	Sammendrag.....	3
2.	Bakgrunn	3
3.	Ansvarlige for rapporten	3
4.	Krepsepest - generell bakgrunn	4
4.1.	<i>Aphanomyces astaci</i> - evolusjon, økologi og livssyklus	4
4.2.	Overlevelse av <i>A. astaci</i> i naturen	6
4.3.	Alternative forklaringsmodeller for hvorfor krepsepest ved gjentatte anledninger rammer de samme lokalitetene i Norge	7
5.	Oppsummering av situasjonen i 2005	7
5.1.	Glomma	9
5.2.	Haldenvassdraget	9
6.	Svar på spørsmål fra Mattilsynet	10
6.1.	Smittespredning og smitteoverføring	10
6.1.1.	Smittestoff og infeksjons stadium	10
6.1.2.	Hvem kan smittes?	10
6.1.3.	Smittespredning	10
6.2.	Spredningsmåtene for krepsepest etter faktisk betydning	12
6.3.	Risiko for oppstrøms smitte via båter	15
6.4.	Brakkleggingsperiode - anbefalt varighet	15
6.5.	Brakkleggingsperiode - kan den forkortes?	16
6.6.	Aktiv nedsmitting av vassdrag	17
6.7.	Friskmelding av vassdrag	17
6.8.	Diagnose og smittesporing	18
6.8.1.	Sikrere diagnose	18
6.8.2.	Sporing av smitte.....	18
6.9.	Desinfeksjon under feltforhold	19
6.9.1.	Varmebehandling og fullstendig uttørking	19
6.9.2.	Koking	19
6.9.3.	Damp	19
6.9.4.	Frysing	19
6.9.5.	Kjemisk desinfeksjon	19
6.9.6.	Oppsummerende kommentarer til desinfeksjon	21
6.10.	Ørje sluser	21
6.11.	Desinfeksjon av båter	22
6.12.	Burforsøk.....	22
6.13.	Påvisning av smittestoff i vannprøver	23
7.	Oppsummering	23
8.	Referanser	25

Vedlegg 1: Re: Desinfeksjon av båter med henblikk på krepsepest

Forsideillustrasjon: T.v. Edelkreps (*Astacus astacus*). T.h. Hyfer av krepsepest agens (*Aphanomyces astaci*). Foto: Trude Vrålstad

Rapport oversendt Mattilsynet fra Veterinærinstituttet 03.04.2006.

Sammendrag

Veterinærinstituttet har i denne utredningen besvart 13 konkrete spørsmål fra Mattilsynet. Det er lagt vekt på smitteforhold i norske vassdrag og forebyggende tiltak mot videre spredning av krepsepest. Innledningsvis er det gitt en generell bakgrunn om biologien til *Aphanomyces astaci* (krepsepest agens), inkludert livssyklus og overlevelse av i naturen. Det er en allmenn oppfatning at *A. astaci* raskt vil dø i fravær av levende kreps, men dette stemmer ikke alltid godt overens med feltobservasjoner bl.a. i Norge. Tvert imot har krepsepest ved flere anledningen blomstret opp igjen etter en lengre brakkleggingsperiode. Dette kan skyldes gjenintroduksjon av smitte fra Sverige, men vi foreslår også flere andre potensielle forklaringsmodeller for hvorfor krepsepest ved gjentatte anledninger bryter ut på mange av de samme lokalitetene i norske vassdrag. Disse alternativene inkluderer overlevelse av *A. astaci* 1) på motstandsdyktig (uppdaget) signalkreps, 2) på motstandsdyktig eller lite smittebelastet edelkreps, 3) i form av hvilesporer, 4) på alternative næringssubstrater, 5) på alternative mellomverter, eller 6) som følge av spredningsdynamikk i store, kompliserte vassdragssystemer.

Spørsmålene fra Mattilsynet er besvart i den rekkefølgen de ble stillt. Noen spørsmål er tildels overlappende, og disse besvarelsene kan derfor inneholde noen repetisjoner og henvisninger til andre besvareelser. Vi kan desverre ikke gi entydige anbefalinger og konklusjoner for alle spørsmål. Per i dag knytter seg stor usikkerhet til hvor lenge smitte av *A. astaci* forblir aktiv, men det er sannsynlig at *A. astaci* overlever i norske vassdrag i betydelig lengre perioder enn (tidligere) antatt. Hvor lenge vet vi ikke. Videre undersøkelser og kartlegging av dette er av fundamental betydning både i forhold til tiltak mot videre spredning av krepsepest og for hvordan man konkret bør håndtere pestrammede vann/vassdrag, ikke bare umiddelbart etter pestutbrudd, men også på lengre sikt.

Ved Veterinærinstituttet ønsker vi å se på muligheten for alternativ smittesporing og overvåking ved hjelp av molekylære analyser av vann- og miljøprøver, samt prøver fra potensielle mellomverter/vektorer. Det foreslås at Veterinærinstituttet og Mattilsynet diskuterer et mulig FoU samarbeid, som bl.a. kan inkludere smittesporing i vann-, miljø- og vektorprøver fra Glomma og Haldenvassdraget på lokaliteter hvor krepsepest ble påvist i 2005.

1. Bakgrunn

Den 4. januar 2006 mottok Veterinærinstituttet en bestilling fra Mattilsynet ved seksjonsleder Nina K. Aas og seniorrådgiver Ivar Hellesnes på en utredning med hensyn til forebyggende tiltak mot videre spredning av krepsepest. Oppdraget er et resultat av at Veterinærinstituttet i løpet av sommeren 2005 ved gjentatte anledninger påviste krepsepest i Glomma og Haldenvassdraget. Bestillingen inkluderer en liste på 13 konkrete spørsmål som Mattilsynet ønsker svar på innen båtsesongen i Haldenvassdraget tar til. Det er et mål at utredningen vil kunne gi et tilfredsstillende faglig grunnlag for å fatte vedtak med sikte på å hindre videre smittespredning.

2. Ansvarlige for rapporten

Rapporten er utarbeidet av: Trude Vrålstad¹, Tore Håstein², Trond Taugbøl³ & Atle Lillehaug⁴

¹ Seniorforsker ved Seksjon for fôr- og næringsmiddelmikrobiologi, Veterinærinstituttet

² Seniorrådgiver, Veterinærinstituttet

³ Tidligere forskningssjef ved Norsk Institutt for Naturforskning (NINA) og nylig tilsatt som seniorrådgiver i Glommens og Laagens Brukseierforening (GLB).

⁴ Seksjonsleder ved Seksjon for fiskehelse, Veterinærinstituttet

3. Krepsepest - generell bakgrunn

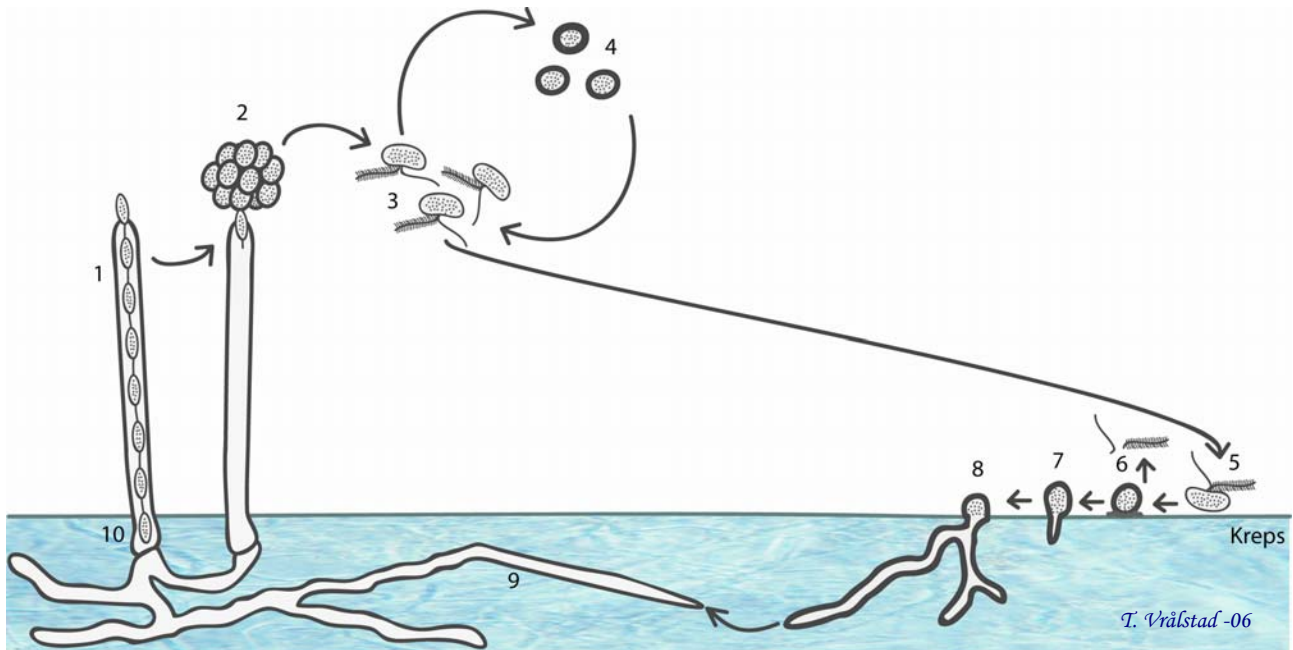
Krepsepest forårsakes av eggsporesoppen *Aphanomyces astaci* (Saprolegniaceae, Oomycetes) og er definert som en gruppe A sykdom i Norge. Sykdommen er dødelig for ferskvannskreps som ikke er av nordamerikansk opprinnelse. Nordamerikansk kreps lever i et balansert vert-parasitt forhold med *A. astaci* og kan følgelig være smittebærere. Krepsepest kom til Europa (Italia) første gang rundt 1860. Krepsepest har trolig blitt innført ved mer enn en anledning, og det er mange alternative måter dette kan ha skjedd på. Den kan ha blitt innført og spredt med ballastvann fra båter, eller via kontaminerte krepseteiner eller fiskeutstyr. Det er også spekulert i om *A. astaci* kan ha blitt innført med nordamerikansk regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) innført for akvakulturformål første gang i 1887 (Alderman, 2002). Det er vist eksperimentelt at denne arten kan være vektor for krepsepestsmitte (Alderman, Polglase & Frayling, 1987; Häll & Unestam, 1980). Krepsepest kan også ha kommet via handel med nordamerikansk kreps. Den nordamerikanske signalkrepsen (*Pasifastacus leniusculus*) utgjør hovedproblemet i forhold til smittespredning i Europa i dag. Denne ble imidlertid introdusert først på midten av 1900 tallet som et resultat av at mange edelkrepspopulasjoner allerede var eliminert av krepsepest (Alderman, 2002). Utsettingen av nordamerikansk signalkreps skulle derfor erstatte disse populasjonene, men førte i stedet til akselerert smittespredning av krepsepest og ytterligere press på europeisk edelkreps (*Astacus astacus*). Norge representerer ett av de få land i Europa hvor signalkreps ikke er introdusert eller tillatt satt ut. I Norge fins det fremdeles mange gode edelkrepsbestander i de sørøstlige delene av landet, samt noen få bestander på Vestlandet og i Trøndelag.

3.1. *Aphanomyces astaci* - evolusjon, økologi og livssyklus

Aphanomyces astaci plasseres i den evolusjonære linjen med straminopile organismer (Straminopila), et eget organismerike som i tillegg til eggsporesopp og andre sopplignende organismer også inkluderer brunalger, gulbrunalger og kiselalger. Eggsporesoppene ble tidligere plassert i soppriket og deler viktige fellestrekk med ekte sopp (Eumycota), for eksempel vegetativ vekst i form av hyfer og mycel, manglende klorofyll, og absorpsjon av næring ved hjelp av ytre enzymatisk aktivitet. Dette er imidlertid egenskaper som har utviklet seg parallelt hos ekte sopp og eggsporesopp. Molekylære, strukturelle og cellebiologiske data grupperer eggsporesoppene i den straminopile evolusjonslinjen, hvor noen viktige felles karakteristika, i tillegg til genetisk slektskap, inkluderer cellevegger av cellulose og flagellerte, mobile zoosporer tilpasset livssyklus i vann. Ekte sopp har cellevegger av kitin og mangler flagellerte sporestadier. Fra et funksjonelt perspektiv er eggsporesoppene mer lik sopp enn alger, de studeres i regelen av mykologer, og refereres ofte til som sopp. Forskjellen er imidlertid viktig å være klar over både for den generelle biologiske forståelsen av *A. astaci*, og for å kunne velge riktige og virksomme midler og metoder i forhold til desinfeksjon og bekjempelse.

Aphanomyces astaci parasitterer ferskvannskreps (Unestam, 1972). Nordamerikansk ferskvannskreps er naturlige verter for *A. astaci*, og er i de fleste tilfeller kronisk bærer av smitte. Når *A. astaci* infiserer en nordamerikansk kreps medfører det for friske individer ikke annet enn en harmløs infeksjon i avgrensede områder av skallet. Derimot forårsaker *A. astaci* akutt dødelighet hos ferskvannskreps fra andre kontinenter. Dette skyldes et ubalansert vert-parasitt forhold hvor disse krepseartene i et evolusjonært perspektiv ikke har vært eksponert for smitteagens tidligere og derfor ikke har utviklet et naturlig forsvar mot parasitten.

Aphanomyces astaci formerer seg klonalt ved ukjønnnet formering og har ingen kjente kjønnete livsstadier (Söderhäll & Cerenius, 1999). Figur 1 beskriver skjematisk livssyklus for *A. astaci* for de livsstadier man per i dag kjenner til.



Figur 1. *Aphanomyces astaci* - skjematisk livssyklus (figur modifisert etter Bangyeekhun, 2002).

- 1) *A. astaci* produserer ukjønnet sporer i slanke, filamentøse sporangier.
- 2) Sporer frigjøres gjennom en pore i toppen av sporangiet, encystrer umiddelbart (dvs. danner en tykk cellevegg) og ansamles i en sporeball.
- 3) Sporene forblir encystert i minst 8-12 timer hvorefter de gir opphav til én zoospore hver. Zoosporene representerer det infeksøse stadiet av *A. astaci*. Disse svømmer aktivt i de frie vannmassene ved hjelp av flageller og orienterer seg ved hjelp av kjemotaksis (bevegelse mot kjemiske stoffer/signaler). Optimumstemperatur for frigjøring av zoosporer for *A. astaci* er 20 °C. Frigjøring av zoosporer ved temperaturer over 24 °C eller under 2 °C er ikke observert *in vitro*.
- 4) Ved optimale temperaturer (16-20 °C) kan zoosporer svømme i minst 48 timer. Om zoosporen innen den tid ikke har lokalisert en kreps, vil den danne en cyste (flagellene faller av, det dannes en tykk cellevegg og en klebrig substans som fester cysten til substratet). Cystene går inn en kortere eller lengre hvilefase, hvorpå de hver kan gi opphav til én zoospore. Det er uavklart hvor mange ganger dette kan gjentas under naturlige forhold, men syklus fra cyste til zoospore kan repeteres minst tre ganger *in vitro* (Söderhäll & Cerenius, 1999).
- 5) En zoospore kan ved hjelp av kjemotaksis lokalisere kreps.
- 6) På overflaten av krepsen mister zoosporen flagellene, og det dannes en tykkvegget cyste som fester seg til krepsen ved hjelp av en klebrig substans.
- 7) Fra cysten vokser det ut en infeksjonspigg, som ved hjelp av turgortrykk og kraftig enzymaktivitet borer seg inn i tynnhudete partier av krepsens ytre skjelett, for eksempel gjennom tynn hud under buken og ved beina, eller via øynene.
- 8) *A. astaci* vokser med lange forgrenede usepterte hyfertråder.
- 9) Hyfene vokser infiltrativt i tynnhudete partier, og videre inn i krepsens kroppshule og nervesystem. På dette stadiet får krepsen såkalt stolprete gange, forandrer adferd (kan bli dagaktiv og til og med vandre på opp på land), mister lett balansen, og vil raskt falle på ryggen og dø.
- 10) Hyfer av *A. astaci* vokser ut gjennom krepseskallet, danner sporangier for ny produksjon av primære sporer, sporeballer og nye infeksøse zoosporer.

3.2. Overlevelse av *A. astaci* i naturen

Den er allment akseptert og hyppig sitert i litteraturen at *A. astaci* ikke er i stand til å overleve lenge uten vertskreps, og det finnes flere studier som grundig dokumenterer at *A. astaci* har typiske og spesifikke parasittiske karakteristika, både biologisk og fysiologisk (Söderhäll & Cerenius, 1999; Unestam, 1972). Ifølge Söderhäll & Cerenius (1999) vil cyster av *A. astaci* kun spire når de treffer den riktige verten (kreps). Cyster som i naturen lander på andre substrater vil danne nye zoosporer som får en ny sjanse til å lokalisere kreps. *Aphanomyces astaci* har minst tre forsøk på å finne kreps (syklus fra cyste til zoospore kan repeteres minst tre ganger, se Fig.1), hvilket er en tilpassning til en parasittisk livsstrategi (Söderhäll & Cerenius, 1999). Imidlertid er det ikke gitt at *A. astaci* faller innenfor kategorien obligat parasitt¹, dvs en parasitt som per definisjon ikke kan ernære seg av annet enn vertens levende vev eller vevsvæsker, i motsetning til en fakultativ parasitt, som er i stand til å leve både av/i og utenfor en vert i en kortere eller lengre periode. Obligate parasitter kan per definisjon ikke vokse i kultur på kunstige vekstmedier, men *A. astaci* vokser villig i kultur. Det er også dokumentert eksperimentelt at cyster av *A. astaci* kunne spire på ferske, usteriliserte skjell av lakseyngel og gjennomførte alle stadier av sin livssyklus på disse *in vitro*; fra cyster spirte vegetative hyfer, som videre utviklet sporangier og i neste trinn primære sporer og sporeballer, som i sin tur utviklet zoosporer (Häll & Unestam, 1980). Dette indikerer at *A. astaci* potensielt kan spire, ernære seg, og danne infeksiose zoosporer på annet næringssubstrat enn kreps. Videre produserer *A. astaci* kitinaser og proteinaser, enzymer som er viktige når arten penetrerer inn i krepsens ytre skall (Söderhäll & Cerenius, 1999). Disse kan imidlertid også tenkes å ha andre roller, for eksempel i forbindelse med nedbrytning av kitinholdige og proteinholdige organiske komponenter som kan fungere som alternativ næring i kortere eller lengre perioder. Det er ikke undersøkt om *A. astaci* kan ernære seg på organiske komponenter i bunnsjiktet av en innsjø/et vassdrag, men funnene gjort av Häll & Unestam (1980) indikerer at cyster av *A. astaci* kan spire på annet substrat enn levende kreps. De samme funnene peker også på muligheten av at fisk vil kunne fungere som vektor/mellomvert for *A. astaci*. Ved forsøk hvor flere fiskearter ble eksponert for sporer av *A. astaci*, ble det ikke funnet belegg for at sporene kunne etablere seg i/på utsiden av fiskehuden (Oidtmann *et al.* 2002). Flere eksperimenter og undersøkelser bør imidlertid utføres for å teste hypotesen om fisk som potensiell mellomvert for *A. astaci*.

Det finnes eksempler på vellykket reetablering av kreps mindre enn ett år etter pestutbrudd, bl.a. i innsjøen Immeln, hvor all kreps døde ut på grunn av krepsepest i løpet av fire uker i 1981. I løpet av det neste året reetablerte kreps seg, sannsynligvis via immigrasjon fra uberørte sideelver (Söderhäll & Cerenius, 1999). Burforsøk med levende kreps skal her ha vist at smitte forsvant bare få uker etter pestutbruddet, noe som i følge Söderhäll & Cerenius (1999) sterkt indikerer at *A. astaci* bare kan klare seg en meget kort periode uten kreps. I Norge har krepsepest i noen tilfeller dukket opp på samme lokalitet ved gjentatte anledninger. Etter pestutbrudd i Vrangselva i 1971 ble området sikret med to elektriske sperringer for å hindre oppstrøms smitte (Håstein & Gladhaug, 1973; Håstein & Unestam, 1972). Levende kreps ble observert oppstrøms sperringene ett år etter utbruddet, og viste at sperringene hadde virket det første året. For å se om det ville være mulig å gjenintrodusere kreps nedstrøms sperringene ble det i 1973 satt ut nett med frisk kreps på samme lokalitet hvor utbruddet fant sted i 1971. Innen tre måneder var alle kreps døde. Videre forsøk med utsetting av frisk kreps i nett i elven 4 km oppstrøms sperringene viste også at pesten hadde kommet forbi sperringene, og fortsatte oppover i vassdraget (Håstein & Gladhaug, upublisert). I Glomma har også krepsepest ved flere anledninger utryddet kreps på enkelte lokaliteter hvor det har gått ett til flere år mellom hvert burforsøk (eller forsøk på reintroduksjon, jfr. 5.1). Dette kan være et resultat av gjenintroduksjon via menneskelig aktivitet eller ulike vektorer (jfr. punkt 6.1.3.2, s.12), men det kan også finnes andre forklaringsmodeller. Under lister vi noen alternativer som belyser noen av de mange usikre variable og ukjente parametere som knytter seg til spørsmål om hvor lenge smitte av *A. astaci* forblir aktiv.

¹ Obligate parasite

A parasite which is obliged to live in or on its host, as distinct from a facultative parasite, which has the ability to live on or in the host or away from it
(http://www.pestmanagement.co.uk/lib/glossary/glossary_o.shtml)

3.3. Alternative forklaringsmodeller for hvorfor krepsepest ved gjentatte anledninger rammer de samme lokalitetene i Norge

A. Gjenintroduksjon av *A. astaci*.

Smitte av *A. astaci* kan ved repeterte anledninger være innført fra Sverige via menneskelig aktivitet, mekaniske vektorer eller biologiske vektorer (jfr. 6.1).

B. Overlevelse av *A. astaci* på motstandsdyktig signalkreps.

Krepsepest kan overleve i vassdragene ved at uoppdagede individer av ulovlig utsatt signalkreps som er motstandsdyktige mot *A. astaci* utgjør et svært lite, men sikkert reservoar for smitte. Det kan ta svært mange år før noen få individer av signalkreps har bygget opp en populasjon av en størrelse som vil kunne oppdages ved krepsefangst eller dykkerundersøkelser.

C. Overlevelse av *A. astaci* på motstandsdyktig eller lite smittebelastet edelkreps.

Det er spesielt at en infeksjon gir 100 % mortalitet slik krepsepest antas å gjøre med edelkreps. Det kan tenkes at forholdene f.eks. ved lave vanntemperaturer (vinteren) er av en slik art at edelkreps kan være smittet uten å utvikle sykdom. Det er også mulighet at stammen(e) av *A. astaci* som er til stede i Glomma og Haldenvassdraget har lavere virulens enn vanlig. Det kan heller ikke utelukkes at naturlig seleksjon før eller senere leder til motstandsdyktighet hos edelkreps, selv om dette ennå ikke er observert. Hvis individer av edelkreps overlever på grunn av lav smittebelastning eller begynnende motstandsdyktighet, kan disse på samme måte som signalkreps utgjøre et svært lite men sikkert reservoar for smitte, og også bruke mange år på å reetablere seg til en synlig bestand.

D. Overlevelse av *A. astaci* i form av hvilesporer.

Cyster av *A. astaci* kan tenkes å overleve inaktivt over en lengre periode, for eksempel i vinterhalvåret. Frigjøring av nye zoosporer fra cyster avhenger i stor grad av temperatur og andre fysiske og kjemiske forhold i vannet.

E. Overlevelse av *A. astaci* på alternative næringssubstrater.

Som nevnt under punkt 4.2. kan det ikke utelukkes at *A. astaci* overlever i fravær av kreps i form av vegetativ vekst på dødt organisk bunnmateriale. Arten har et enzymapparat som teoretisk gjør den i stand til å ernære seg saprotroft på en rekke kitinholdige og proteinholdige organiske komponenter, men dette har ikke, etter hva vi kjenner til, blitt undersøkt.

F. Overlevelse av *A. astaci* på alternative mellomverter.

Som også redegjort for under punkt 4.2. er det vist eksperimentelt at cyster av *A. astaci* kan spire, vokse og ernære seg vegetativt, samt produsere infeksjose zoosporer, på ferske fiskeskjell av lakseyngel hvor det antas at fiskeslimet utgjorde en viktig næringskilde. Det kan derfor ikke utelukkes at f.eks. fisk vil kunne fungere som mellomvert for arten selv om dette ikke til nå har latt seg demonstrere *in vitro*.

G. Overlevelse av *A. astaci* som følge av spredningsdynamikk i store vassdragssystemer.

Både Glommavassdraget og Haldenvassdraget er store, kompliserte vassdragssystemer med rike forekomster av sidevassdrag og innsjøer. Vannføringen varierer til dels sterkt gjennom året, og temperaturvariasjonene er store. I slike systemer kan det forventes at smitten spres svært sakte motstrøms i deler av vassdraget. Det kan da oppstå øyeblikkssituasjoner med områder der pesten har utryddet krepsen, områder med friske kreps, og områder der det foregår en lavgradig, aktiv infeksjon med liten spredningstendens (for eksempel lav krepsetetthet, betydelig strøm). Med lav spredningshastighet oppstrøms vil det ta mange år å smitte ned et stort vassdrag. Betydningen av en slik spredningsdynamikk kompliseres ytterligere hvis en eller flere av de potensielle faktorene nevnt under C-F har betydning.

4. Oppsummering av situasjonen i 2005

Veterinærinstituttet mottok 22 innsendelser av syk eller død kreps i 2005, primært fra burforsøk i Glomma og Haldenvassdraget, men også fra frittlevende kreps fra Haldenvassdraget og andre lokaliteter i regionen. Tabell 1 lister alle innsendelser inkludert mottaksdato, lokalitet og diagnose.

Tabell 1. Innsendelser av kreps undersøkt ved Veterinærinstituttet i 2005.

Journal nr/ mottatt dato	Lokalitet	Antall kreps & tilstand	Kommentarer	Diagnose
05-09-160/ 12.05.05	Glommavassdraget. Bur 18. Glomma ved Vingersnoret	3 døde, 2 levende	Burforsøk med 10 kreps etablert i juni 2004.	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning
05-09-185/ 23.06.05	Glommavassdraget. bur nr.20, Svartfossen	1 død	Burforsøk	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Dyrkning ikke utført på frossent materiale
05-09-228/ 23.06.05	Raudsjøbekken mellom Raudsjø og Børtevang i Enebakk kommune.	19 levende, 2 døde. Undersøkt 7	Naturlig bestand. Raudsjø- bekken drenerer til Glomma, div. vandringshinder imellom.	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk
05-09-229/ 23.06.05	Glomma (002.Z), bur midt mellom Blaker og Sørumsand stasjon	1 død (frossen)	Burforsøk (utløpet fra Fossåa). Resten av kreps i buret lever.	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Dyrkning ikke utført på frossent materiale
05-09-257/ 04.07.05	Haldenvassdraget, vestsiden av Aremarksjøen.	8 døde (5 frosne, 3 ferske)	Burforsøk. 200 m nedstrøms av Strømsfoss sluse	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning
05-09-261/ 05.07.05	Glommavassdraget; åa Hasla (002.H1Z), på grensen mellom Åsnes og Våler	1 død kreps	Burforsøk. 1 av 12 døde. 11 levende igjen i buret	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk *
05-09-267/ 07.07.05	Glomma (002.Z), mellom Blaker og Sørumsand stasjon - utløpet fra Fossåa	11 døde (frosne)	Burforsøk. Alle kreps i buret døde over en 14 dagers periode. Samme bur som sak 05-09-229.	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Dyrkning ikke utført på frossent materiale
05-09-280/ 18.07.05	Drammensvassdraget (012.Z); Urvannet (skogsvatn i Modum kommune)	14 kreps (2 døde og 12 levende)	Naturlig bestand. Mye dødelighet.	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning
05-09-281/ 19.07.05	Glommavassdraget, bur i Oppstadåa (002.EZ) ca. 2 km oppe ved Stumoen Gård	Rester av 3 døde kreps	14. juli var det 10 levende kreps i buret. 16. juli kun funnet en død + rester av to	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk
05-09-285/ 20.07.05	Nessjøen 5 km øst fra Skotterud og 5 km nord fra Magnor	1 død	Fredag 15. juli ble det funnet en død kreps i Nessjøen.	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk. *
05-09-286/ 20.07.05	Glommavassdraget (002.Z); nedanfor Svartfossen, kraftverket.	4 døde	Burforsøk. 12. juli: 9 levende kreps i buret, 18. juli var 4 levende, en borte og 4 døde.	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk
05-09-289/ 20.07.05	Haldenvassdraget (001.Z); bur (forsøk) oppstrøms Strømsfoss	2 døde	Burforsøk. 2 døde, resten av kreps i buret i fin form	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk * Dyrkning ikke utført på frossent materiale
05-09-292/ 20.07.05	Glommavassdraget (002.Z); nedanfor Svartfossen, kraftverket.	1 død edelkreps	Burforsøk. Tidligere mottatt: 05- 09-185 og 05-09-286.	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning. Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk
05-09-293/ 27.07.05	Haldenvassdraget, Øymarksjøens, ca. 2,5 km sør for Ørje	2 døde	Flere døde kreps funnet på 1 m dybde v/ Sjøvabben, vest i Øymarksjøen	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning.
05-09-299/ 22.07.05	Haldenvassdraget (001.Z); Ørjeelva	1 død	Burforsøk nedstrøms Ørje sluser	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning. Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk.
05-09-312/ 01.08.05	Haldenvassdraget, Øymarksjøens østside	1 død	Fanget i live ved dykking i regi av MT 29/7, døde 31/7. Tidligere sak: 05-09-293.	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning. Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk
05-09-316/ 02.08.05	Svartfossen, Glommavassdraget	3 døde	Krepsepest er tidligere påvist hos kreps fra samme lokalitet (05-09-286 og 05-09-292).	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning.
05-09-325/ 17.08.05	Glommavassdraget (002.Z); Søråsjøen (Våler kommune)	Tomt krepse skall	Etter skallbytte, burde ikke vært analysert	Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk
05-09-342/ 01.09.05	Lysern i Enebakk	1 død (frossen)		Ikke påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> sp Ikke påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk
05-09-373a/ 21.09.05	Haldenvassdraget (001.Z); Øymarksjøen v/Øymark kirke ca. 6 km sør for Ørje	3 kadaver	Burforsøk: Kreps funnet døde 31/8. Ingen igjen.	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning
05-09-373b/ 21.09.05	Haldenvassdraget, Ørjeelva	4 kadaver	Burforsøk: Kreps funnet døde 15/9	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning
05-09-431/ 24.10.05	Glomma v/Skarnes	6 kreps	Innsendt mest som forskningsmateriale. Tidligere påvist krepsepest i området.	Påvist hyfer forenlige med <i>Aphanomyces</i> Påvist <i>A. astaci</i> molekylærbiologisk Ikke påvist <i>A. astaci</i> ved dyrkning

Alle prøver er analysert om igjen ved hjelp av ny og mer sensitiv taxon-spesifikk real-time PCR metode som er utviklet ved Veterinærinstituttet. Alle saker hvor *A. astaci* ble påvist molekylærbiologisk ble også verifisert av denne metoden. I tillegg ble det påvist spormengder av *A. astaci* i sakene merket *.

4.1. Glomma

Glommavassdraget fikk diagnosen krepsepest i juli 1987, både i selve Glomma ved Kongsvinger og i Storsjøen i Nord-Odal. Undersøkelser viste at kreps i Glomma var utryddet fra Kirkenær i Solør og videre nedstrøms. Også i Vingersjøen tilknyttet Glomma ved Kongsvinger og Storsjøen/Oppstadåa tilknyttet Glomma ved Skarnes døde krepsen ut (Taugbøl, 2002; Taugbøl, Skurdal & Håstein, 1993). I 1989 startet miljøforvaltningen og grunneierne arbeidet med å reetablere ferskvannskrepsen i Glomma etter utbruddet i 1987. Burforsøk viste lovende resultater med overlevelse alle steder unntatt ved Skarnes. Her var det total dødelighet i buret både i 1991 og 1995. Undersøkelser ved Veterinærinstituttet og Universitetet i Uppsala kunne den gang ikke påvise krepsepest, og man antok at det måtte være andre årsaker til dødeligheten. Reetablering ved utsettinger av ny kreps var lovende med god bestandsetablering i alle utsettingsområder fram til 2002 (Taugbøl 2004), men da krepsefiske igjen skulle åpne i Glomma i august 2003 ble det ikke observert eller fanget en eneste kreps. Bur med levende kreps ble satt ut for å forsøke å finne årsaken til krepsedøden (se <http://www.dirnat.no/wbch3.exe?ce=21833>). I begynnelsen av september 2004 ble syke og døende kreps fra burforsøkene sendt Veterinærinstituttet for analyse, og det ble antatt at krepsepest var årsaken, basert på dødelighet og funn av hyfer forenelig med *Aphanomyces*. I 2005 mottok Veterinærinstituttet flere innsendelser av syk eller død kreps fra burforsøk i Glomma (se tabell 1), og ved hjelp av nye molekylære teknikker ble *A. astaci* påvist med sikkerhet for første gang i Norge (se http://www.vetinst.no/inet_no/index.asp?strUrl=1001955i&topExpand=&subExpand=). Veterinærinstituttets nye molekylære metoder har ikke bare verifisert at krepsedøden i Glomma i 2005 faktisk skyldtes krepsepest, men har også ved undersøkelse av fiksert materiale fra tidligere år vist at flere tidligere krepsepestdiagnoser i Norge medfører riktighet (upubliserede data). Det er ikke bevist at det var krepsepest som utryddet den reetablerte bestanden i 2003, men det er høyst sannsynlig, siden prøver fra 2004 analysert i ettertid er positive for *A. astaci*. Det er uvisst hvor smitten som rammet i 2003 kom fra. Det er imidlertid sannsynlig at smitte fra 2003 overlevde i vassdraget til 2004 (jfr. punkt 4.3, forklaringsmodeller B-G) og rammet kreps i burforsøk. Videre kan den samme smitten ha overvintret fra 2004 til 2005 og forårsaket krepsepest hos utplassert burkreps i 2005.

4.2. Haldenvassdraget

Det ble diagnostisert krepsepest i Haldenvassdraget (Øymarksjøen, Ottenvika) første gang høsten 1989 (Taugbøl *et al.* 1993). Smitten var trolig kommet via menneskelig aktivitet eller vektorer fra innsjøen Store Le som også ble rammet av krepsepest i 1989. Burforsøk ble utført i årene etterpå og ingen dødelighet ble observert. I 1995 ble reetablering av krepsebestanden igangsatt på en rekke lokaliteter i Haldenvassdraget (Taugbøl, 2004). Dykkerundersøkelser i perioden 1996-2001 viste at de fleste bestandene i Haldenvassdraget utviklet seg brukbart, om enn i variabel hastighet (Taugbøl, 2004). I 2005 rammet krepsepesten både burkreps og viltlevende kreps i Haldenvassdraget (se tabell 1). Krepsepest ble første gang påvist hos burkreps i Aremarksjøen nedstrøms Strømfoss sluser 8. juli (se tabell 1, sak 05-09-257), hvorpå Strømfoss sluser ble stengt av Mattilsynet. Fra dette materialet ble også *A. astaci* isolert i renkultur for første, og foreløpig eneste, gang i Norge (se http://www.vetinst.no/inet_no/index.asp?strUrl=1002067i&topExpand=&subExpand=).

Det er også verdt å merke seg at en ny real-time PCR metode i ettertid har påvist spormengder av *A. astaci* i sak 05-09-289 som gjaldt burkreps oppstrøms Strømfoss sluse. Noe senere ble krepsepest påvist både hos burkreps og viltlevende kreps i Øymarksjøen og i Ørjeelva rett nedstrøms Ørje sluser (se tabell 1, sakene 05-09-293/312/373).

Mattilsynet erklærte Haldenvassdraget opp til Ørje som bekjempelsessone for krepsepest 28.07.05, og Strømfoss sluse ble derfor gjenåpnet. Ørje sluse er fremdeles stengt. Den frittlevende krepsebestanden i Rødnessjøen er per i dag ikke rammet av krepsepest, men er svært utsatt for smitte. Det antas med stor sikkerhet at den frittlevende krepsebestanden nedstrøms Ørje sluser døde av krepsepest i løpet av 2005 da sykdommen rammet burforsøket samme sted. Dette er imidlertid ikke verifisert med dykkerundersøkelser. Det er uavklart hvor smitten i 2005 kom fra, men det er rimelig å anta at den ble gjenintrodusert utenfra da vassdraget ikke har hatt rapporterte tilfeller av mistenkt krepsepest siden 1989. Det kan heller ikke utelukkes at smitten har vært tilstede på et minimumsnivå i vassdraget siden

1989, overlevde på hittil ukjente måter og blomstret opp når den reetablerte krepsebestanden nådde en viss størrelse. Det at krepsepesten på nytt rammer akkurat de samme to vassdragene som hadde pest i 1987-1989, gjør at en kan mistenke en slik mulighet (jfr. pkt 4.3B-G).

5. Svar på spørsmål fra Mattilsynet

5.1. Smittespredning og smitteoverføring

Spørsmål 1: Hvordan spres/overføres smitte? Må det være kreps som overfører smitten, eller kan smitten overføres via andre dyr. Hvis andre dyr overfører smitte, blir de syke/dør de? Kan smitte overføres med mekaniske vektorer? Hva med vann?

5.1.1. Smittestoff og infeksjons stadium

Smittestoff av krepsepest kan være alle kjente livsstadier av *A. astaci* (se Figur 1), både mobile zoosporer, cyster og vitale hyfer av soppen som til enhver tid måtte befinne seg i de frie vannmassene, på bunnmateriale, i syk eller død kreps eller tilfeldig festet til vektorer (mekaniske eller biologiske, se under). Det infeksjons stadiumet av *A. astaci* er zoosporer, se figur 1.

5.1.2. Hvem kan smittes?

Alle arter ferskvannskreps (Decapoda: Astacidae, Cambaridae) som ikke er av nordamerikansk avstamning er svært mottakelige for infeksjon av *A. astaci*, og vil i regelen dø av infeksjonen. Det gjelder f.eks alle de europeiske artene edelkreps (*Astacus astacus*), hvitklokrep (s) (*Austropotamobius pallipes*), steinkrep (s) (*Austropotamobius torrentium*) og smalklokrep (s) (*Astacus leptodactylus*), samt australske arter. Laboratorieforsøk har også vist at kinesisk krabbe (*Eriocheir sinensis*) dør av *A. astaci* infeksjon i laboratorieforsøk, men det fins ingen observasjoner av dette under naturlige forhold (Alderman, 2002). Ferskvannskreps av nordamerikansk opprinnelse (for eksempel signalkrep (s), *Pasifastacus leniusculus*) er naturlige verter for *A. astaci* og med få unntak bærere av smitten. De er motstandsdyktige, og en infeksjon av *A. astaci* for nordamerikansk kreps er i regelen en harmløs infeksjon i avgrensede områder av skallet som kan sees som svarte flekker (Söderhäll & Cerenius, 1999). Når signalkrep (s) gjennomgår skallbytte eller dør av ulike årsaker, initieres zoosporeproduksjon hos *A. astaci* og smitte kan på denne måten overføres til mottakelig kreps. Det er også kjent at individer av signalkrep (s) som utsettes for stress eller har et nedsatt immunforsvar kan dø av *A. astaci* infeksjon (Söderhäll & Cerenius, 1999). Ingen andre dyr (andre typer krepsdyr, vannlevende insekter, fisk, fugl, pattedyr eller mennesker) er rapportert å kunne bli infisert eller syke av *A. astaci*, men kan fungere som tilfeldige vektorer for smitte (se under). Det er gjort noen begrensede forsøk for å se om *A. astaci* parasitterer mindre plankton krepsdyr (Unestam, 1972). Ingen av de åtte testede artene ble affisert av *A. astaci*, og ingen påviselig infeksjon ble observert. Utover dette er det imidlertid bare gjort begrensede undersøkelser av om andre krepsdyrarter kan være bærere av smitte. Som redegjort for i punkt 4.3. er det dokumentert eksperimentelt at cyster av *A. astaci* kan spire på ferske, steriliserte skjell av lakseyngel og gjennomføre alle stadier av sin livssyklus på disse (Häll & Unestam, 1980), men testforsøk har ikke kunnet verifisere at *A. astaci* vil etablere seg i huden på levende fisk som har blitt eksponert for zoosporer (Oidtmann *et al.* 2002).

5.1.3. Smittespredning

Smittespredning eller overføring av smitte kan skje via det vi kan kalle **primære og sekundære smitekilder**. Primære smitekilder er i seg selv medium for livsstadier av *A. astaci* og gjelder i første rekke smittet kreps, men også vann som inneholde cyster og infeksjons zoosporer. Bunnmateriale/organisk materiale i innsjøer/vassdrag kan også potensielt utgjøre et medium for cyster og vegetative hyfer av *A. astaci*, og det kan heller ikke utelukkes at overflaten av fisk/fiskeslim kan utgjøre et vekstmedium for *A. astaci* (jfr. Häll & Unestam, 1980). Sekundære smitekilder er vektorer (biologiske eller mekaniske) for de primære smitekilder ved bevisst eller ubevisst forflytning av kreps, vann, bunnmateriale eller fisk som inneholder/er bærere av smitte.

5.1.3.1. Spredning via primære smittekilder

- **Edelkreps** infisert av *A. astaci* er en primær smittekilde. Forflytning av infisert kreps er trolig den sikreste formen for smittespredning. Ved korte avstander mellom krepsebestandene vil kreps fra en infisert bestand lett kunne smitte den neste på grunn av egen forflytning, kombinert med zoosporenes evne til å aktivt svømme mot kreps ved hjelp av kjemotaksis. Ved lange avstander mellom krepsebestandene vil infisert edelkreps sannsynligvis dø såpass raskt at deres egen forflytning representerer en forholdsvis liten risiko for smittespredning. Dette gjelder imidlertid kun hvis krepsepest forårsaker 100 % dødelighet. Om en liten prosentandel overlever (jfr. Punkt 4.4C) kan infisert edelkreps sannsynligvis transportere smitte over forholdsvis lange avstander.
- **Signalkreps** er per i dag ikke påvist i Norge, men det er kun et spørsmål om tid før bestanden av signalkreps i Store Le vandrer over/påvises på norsk side. I Buåavassdraget i grensekommunen Eidskog er det påvist signalkreps bare ca. 2 km inne på svensk side, og det er ingen vandringshindre inn mot Norge. Immigrasjon eller ulovlig utsetting av smittebærende signalkreps er en sikker og ugjenkallelig kilde til smittespredning.
Når infisert edelkreps eller signalkreps dør, enten som et resultat av infeksjonen eller av andre årsaker, vil *A. astaci* reprodusere ved hjelp av ukjønnede sporer (figur 1). Døde kreps er på denne måten grunnlag for primærproduksjon av nytt smittestoff.
- **Vann** kan betraktes som en primær smittekilde, da *A. astaci* er avhengig av vann for gjennomføring av livssyklus og har aktivt svømmende zoosporer i vann. Smittespredning vil skje i vann primært via nedstrømmende vannmasser som fører med seg cyster og zoosporer. Zoosporenes egenbevegelse har forholdsvis liten betydning for oppstrøms smittespredning, da de har begrenset mobilitet.
- **Bunnmateriale** (sedimenter, mudder, organisk materiale) kan huse stadier av *A. astaci* (cyster og hyfer) selv om dette er lite undersøkt. Dette kan derfor representere en primær smittekilde. Cyster av *A. astaci* kan tenkes å overleve inaktivt over en lengre periode, særlig i vinterhalvåret (jfr. punkt 4.3.D), og det kan også tenkes at *A. astaci* vokser vegetativt på dødt organisk bunnmateriale (jfr. 4.3.E). Om og hvor lenge *A. astaci* kan overleve på denne måten gjenstår å undersøke, men tilgang på egnet næringssubstrat i bunnsjiktet vil i tilfelle være avgjørende. I stillestående og langsomt strømmende vann vil smitte knyttet til bunnsjiktet trolig holdes forholdsvis i ro, men temperaturvariasjoner gjennom året som leder til vannsirkulasjon vil kunne innvirke på dette. Kraftige vannstrømmer, flom o.l. vil kunne transportere smitte knyttet til bunnsjiktet nedstrøms.
- **Fisk** er mer sannsynlig en sekundær smittekilde (biologiske vektor) enn en primær smittekilde da det per i dag ikke finnes bevis for at *A. astaci* kan etablere seg på huden av levende fisk (Oidtmann *et al.* 2002). Men siden fiskeslim/fiskeskjell kan utgjøre et vekstmedium for *A. astaci* (jfr. Punkt 4.2.) hvor arten *in vitro* gjennomfører hele livssyklus, bør det undersøkes nærmere om fisk kan fungere som mellomvert for/bærer av *A. astaci* i kortere eller lengre perioder. Hvis *A. astaci* kan ernære seg vegetativt på fiskeslim, samt produsere infeksiose zoosporer på overflaten av fisk, kan fisk representere en betydelig underestimert risiko for smittespredning både med hensyn på smittekilde og smittepotensiale.

5.1.3.2. Spredning via sekundære smittekilder

I mange tilfeller transporteres primærsmittekildene i, på eller av vektorer (sekundære smittekilder):

- **Mekaniske vektorer** kan spre smitte ved at vann med zoosporer og/eller cyster tilfeldig følger med vektoren fra en infisert til en uinfisert lokalitet. Slike mekaniske vektorer kan være små og store båter (overflatekontaminerte og/eller med kontaminert kjølevann og/eller ballastvann), krepseteiner, fiskeutstyr, garn, klær, gummistøvler, vadeutstyr o.l. brukt i infisert vann. Hvor høy risiko det vil være for smittespredning via mekaniske vektorer avhenger av tettheten med smittestoff i vannet og/eller i bunnmaterialet vektoren har vært i kontakt med. Smitteoverføring vil kunne skje dersom ikke vektorene er fullstendig tørket eller på annen måte behandlet/desinfisert før de kommer i kontakt med uinfisert vann. Smitte via mekaniske vektorer er i de aller fleste tilfeller et resultat av menneskelig

aktivitet.

- **Menneskelig aktivitet** i andre former representerer også en viktig sekundær smittekilde, for eksempel aktiv (som regel bevisst eller uforvarende) og ulovlig forflytning eller utsetting av infisert kreps, aktiv forflytning av fisk fra et infisert til et ikke-infisert vann, eller aktiv forflytning av infisert vann eller bunnmateriale i seg selv. Det har i flere tilfeller vært grunn til å mistenke at tjuvfiske og ulovlig kreps har ført til spredning av krepspest.
- **Biologiske vektorer** kan på samme måte som mekaniske vektorer spre smitte ved at vann som inneholder zoosporer og/eller cyster ved tilfeldighet fester til vektoren.
 - **Fisk som vektor.** Fisk er en klar biologisk vektor/sekundær smittekilde som kan føre med seg smitte av krepspest, enten via zoosporer eller cyster tilfeldig assosiert med fiskens overflate, eller via avføring etter å ha spist infisert kreps. Det er vist eksperimentelt at smitte av *A. astaci* fortsatt er infeksøs i avføring hos fisk som har blitt tvangsføret med infisert krepskutikula (Oidtmann *et al.* 2002). I England fins det sterke indier på at smitte ble spredt fra River Blackwater til River Way via forflytning av fisk (Alderman, 2002), og eksperimenter har vist at fisk i tønner med vann infisert med zoosporer av *A. astaci* overførte smitte da de ble overført til mottakelig kreps i tønner med uinfisert vann (Alderman *et al.* 1987). Fisk kan derfor utgjøre en viktig vektor for spredning av krepspest medstrøms og motstrøms. Risiko for spredning via fisk er størst når det er en høy andel zoosporer tilgjengelig i vannmassene (Alderman *et al.* 1987).
 - **Fugl som vektor.** Det finnes ikke forskningsbelegg for at fugler kan overføre smitte. Det er imidlertid tenkelig at fugl som oppholder seg i vann, dykker, er i kontakt med eller spiser av bunnavvegetasjonen, spiser av syk eller død edelkreps (eller av frisk signalkreps der denne finnes, for eksempel på svensk side av Store Le og Buåvassdraget), kan overføre smitte innen og mellom vassdrag og innsjøer om sporer eller cyster av *A. astaci* fester seg til føtter, nebb, fjær eller dun. Det fordrer imidlertid at perioden mellom kontakt med infisert og uinfisert vann/materiale er så kort at fullstendig uttørring ikke har funnet sted. I følge Alderman (2002) er det lite trolig at *A. astaci* overlever passasje gjennom mage/tarm på fugl, bl.a. på grunn av høy kroppstemperatur. Derfor antas det at smitte ikke kan overføres via avføring når fugl har spist infisert kreps, men dette er ikke verifisert eksperimentelt. Fugl vil kunne ta med seg hele, døde kreps eller rester av kreps til ikke infiserte vassdrag/deler av vassdrag, og det er heller ikke utenkelig at de kan gulpe opp igjen rester av skallet etter inntak av infisert kreps.
 - **Pattedyr som vektor.** Pattedyr med stor vannaktivitet (bever, oter, mink) kan med stor sannsynlighet føre med seg smitte medstrøms og motstrøms i et vassdrag, eller mellom vassdrag og innsjøer om distansen er så kort at pelsen ikke tørker fullstendig ut. Minken spiser kreps og er svært flink til å fange kreps (Taugbøl, 2002). Mink er derfor en potensielt viktig vektor for smittespredning, da den aktivt vil oppsøke krepsbestander på ulike lokaliteter. Det antas at *A. astaci* ikke overlever passasje gjennom mage/tarm på pattedyr (Alderman, 2002), men dette er ikke verifisert eksperimentelt. Mink og andre predatorer og åtseletere vil også kunne dra med seg hele kreps eller rester av kadaver fra infiserte til ikke infiserte vassdrag/deler av vassdrag. Mindre vannaktive pattedyr (elg, hund osv.) kan også ved tilfeldighet komme til å overføre smitte mellom vann om det ikke foregår en fullstendig uttørring av føtter, pels/hud mellom besøk i infisert og ikke-infisert vann, men dette er mindre sannsynlig enn overføring og spredning via f.eks. mink.

5.2. Spredningsmåtene for krepspest etter faktisk betydning

Spørsmål 2: På basis av eksisterende forskning - hva er de aktuelle spredningsmåtene for krepspest prioritert etter faktisk betydning?

Det er vanskelig å rangere spredningsmåter etter faktisk betydning i Norge ettersom man sjelden har hatt sikkert forskningsbelegg for faktisk spredningsårsak / smittevei. I de mange tilfeller har man kun måttet spekulere i hvordan smittespredning kan ha foregått. Imidlertid fins det mange godt dokumenterte

eksempler fra andre land på hvordan krepsepest er introdusert og spreddt, spesielt i Sverige (Edsman, 2004). I Sverige har det hovedsakelig dreid seg om import (ofte illegal) og salg av levende kreps og illegal utsetting av signalkreps. I Norge er ikke dette mistenkt årsak til utbrudd av krepsepest.

Framfor å rangere spredningsmåter etter faktisk betydning har vi i stedet forsøkt å utarbeide en risikomatrikse (tabell 2) som forsøker å si noe om graden av risiko for smittespredning/smitteoverføring fra ulike typer lokaliteter med ulike typer primære og sekundære smittekilder.

I tillegg knyttes det følgende kommentarer til spørsmålet:

Man er usikker på hvordan krepsepest kom til Europa første gang (jfr. punkt 4, side 4), men både nordamerikansk kreps, nordamerikansk fisk og mekaniske vektorer (båter, krepse- og fiskeutstyr) er mulige alternativer, alle et resultat av menneskelig aktivitet. Krepsepest ble spreddt til mange land i Europa før utsetting av nordamerikansk kreps ble vanlig. Krepsepest kom til Sverige (Stockholm) i august 1907 via import av levende kreps fra Finland (Edsman, 2004). Da krepsen ankom var den i dårlig forfatning (fordi den var smittet av krepsepest) og lasten ble dumpet i en innsjø like i nærheten av fiskemarkedet. Svenske myndigheter var allerede den gang klar over problemet med krepsepest og import av levende kreps, og bare en måned senere ble det innført forbud mot import av levende kreps. Forbudet kom imidlertid akkurat for sent til å unngå introduksjon av krepsepest til Sverige (Edsman, 2004). I 1960-årene bestemte man seg i Sverige for å sette ut nordamerikansk signalkreps som tålte krepsepest bedre enn naturlig forekommende kreps. Ved utsetting var man ikke tilstrekkelig klar over at signalkreps var bærer av smitte. Utsetting av signalkreps akselererte derfor spredningen av krepsepest, både i Sverige og i mange andre land i Europa hvor signalkreps også ble satt ut. I de siste 30 år har signalkreps representert den viktigste kilden til smittespredning i et europeisk perspektiv. I Sverige er ulovlig utsetting av signalkreps per i dag den desidert største årsaken til utbrudd og spredning av krepsepest (se http://www.fiskeriverket.se/index3.htm?http://www.fiskeriverket.se/publikationer/ovr_publ/flodkrafta_n.htm). Det er estimert at ca. 95 % av alle Sveriges naturlige krepsepopulasjoner har gått tapt, i stor grad på grunn av krepsepest introdusert med signalkreps (Edsman, 2004).

Så langt vi kjenner til har ikke ulovlig utsetting av signalkreps forekommet i Norge, og vi går også ut ifra at signalkreps ikke har vandret inn på norsk side fra Sverige. Imidlertid befinner bestandene av signalkreps i Store Le og Buåvassdraget seg på eller få kilometre fra på norsk grensen, og det finnes ingen vandringshindre inn mot Norge (jfr. punkt 6.1.3.1). Ulovlig utsetting av signalkreps i norske vassdrag (sabotasje) representerer den største faren for ugjenkallelig smitteintroduksjon. Et vassdrag med signalkreps vil alltid være et reservoar for aktiv smitte, og vil representerer en stor fare for videre spredning via en rekke vektorer (jfr. punkt 6.1.3). Egenvandring eller aktiv forflytning av smittet signalkreps eller edelkreps vil føre til sikker smittespredning og overføring (100 % risiko, se tabell 2, side 14).

Spredning via fisk (på overflate, i slim eller via avføring) kan også utgjøre en svært høy og betydelig underestimert risiko for kort- og langdistanse spredning og overføring av krepsepest. Både Glomma og Haldenvassdraget har et stort antall fiskearter. Videre kan spredning via båter med åpne kjølevannsystemer utgjøre en betydelig risiko. For båter med lukkede systemer antas det at vannet vil varmes opp til temperaturer som eliminerer *A. astaci* (for mer om båter, se 6.3). Menneskelige aktiviteter (f.eks. ulovlig eller uforvarende forflytning av edelkreps, forflytning av fisk, vann eller ikke-desinfisert utstyr/båter) utgjør en høy risiko for smittespredning. Dette kan imidlertid i noen grad kontrolleres ved riktige instruksjoner, riktig og tilstrekkelig informasjon, samt påbud om desinfeksjon av båter og utstyr. Spredning via egenvandring av fisk og kreps kan også kontrolleres ved hjelp av vandringshindre, f.eks. elektriske eller fysiske sperringer. I så måte er risiko for spredning via andre biologiske vektorer (vannaktive fugl og pattedyr) det man per i dag har minst mulighet for å kontrollere selv om de i litteraturen ofte oppgis å være de minst sannsynlige smitteveiene.

Tabell 2. Foreslått risikomatrix for smittespredning/smitteoverføring av krepsepest fra ulike typer lokaliteter med ulike typer primære og sekundære smitekilder.

Smitte spredt \ Smittespredning fra	Lokalitet under krepsepest utbrudd	Lokalitet med positiv krepsepest diagnose etter pestutbrudd	Fra tidligere pestrammet lokalitet
med nordamerikansk krepes (ulovlig utsatt eller immigrert)	SIKKER	SIKKER	SIKKER
med aktivt forflyttet edelkrepes (levende eller død) med mennesker eller andre vektorer	SIKKER	SIKKER	USIKKER ¹
med kraftig nedstrømmende vann	SIKKER	HØY	USIKKER ³
med edelkrepes (egenvandring)	SIKKER	USIKKER ¹	USIKKER ¹
med fisk (på overflaten, i fiskeslim eller via avføring etter inntak av infisert krepes)	HØY	MODERAT	USIKKER ²
med aktiv forflytting av infisert vann	HØY	MODERAT	USIKKER ³
med ubehandlet kjølevann / ballastvann fra båter	HØY	MODERAT	USIKKER ³
med rolig nedstrømmende vann	HØY	MODERAT til LAV	USIKKER ³
på eller i mekaniske vektorer - båter, fiskeutstyr, krepseteiner, vadeutstyr, støvler osv.	HØY til MODERAT	MODERAT til LAV	USIKKER ³
med fugl eller vannaktive pattedyr hvor avstand mellom infisert og ikke-infisert lokalitet er kort	HØY til MODERAT	MODERAT til LAV	USIKKER ³
med behandlet kjølevann / ballastvann fra båter (varme eller kjemikaliebehandlet)	LAV til MINIMAL	MINIMAL	MINIMAL
på overflaten av eller i mekaniske vektorer etter behandling (varmebehandling / desinfeksjon)	LAV til MINIMAL	MINIMAL	MINIMAL

- **SIKKER:** Smittespredning uunngåelig, sannsynlighet for smitteoverføring 100%.
- **HØY:** Risiko for smittespredning høy, smitteoverføring meget sannsynlig
- **MODERAT:** Risiko for smittespredning moderat, smitteoverføring er sannsynlig
- **USIKKER¹:** Smitteoverføring usikker i den forstand at man ikke forventer levende edelkrepes på slike lokaliteter. De kan imidlertid finnes der enten fordi de er gjenintrodusert, fordi de har gjeninnvandret eller fordi de overlevde forrige pestutbrudd. Om edelkrepes lever (og overlever) på en slik lokalitet må en i utgangspunktet forvente at krepsepest ikke lenger er et problem på lokaliteten. Om edelkrepes har overlevd tidligere pestutbrudd, kan det ikke utelukkes at enkeltindivider kan ha utviklet motstandsdyktighet mot krepsepest, jfr. punkt 4.3C. De vil i så tilfelle representere en høy risiko for smittespredning til ikke-motstandsdyktige bestander, men også utgjøre et naturlig selektert reservoar av motstandsdyktig edelkrepes som potensielt kan benyttes i krepseoppdrett og gjenintroduksjon på pestrammede lokaliteter.
- **USIKKER²:** Det er ikke tilstrekkelig undersøkt om fisk kan representere en mellomvert for *A. astaci* (jfr. 4.2 og 4.3F). Hvis det er slik kan også fisk fra tidligere krepsepestrammede lokaliteter potensielt være bærere av smitte.
- **LAV:** Risiko for smitteoverføring lav, smitteoverføring er lite sannsynlig
- **USIKKER³:** Smitteoverføring er usikker i den forstand at det ikke kan utelukkes at smitte av *A. astaci* kan være aktiv lenge etter forrige pestutbrudd, jfr. punkt 4.2 og 4.3). I så tilfelle kan et tidligere pestrammet vann/vassdrag/område utgjøre et potensielt reservoar for smitte for en kortere eller lengre periode. Mekaniske eller biologiske vektorer som kommer i kontakt med for eksempel bunnmateriale kan i så tilfelle representere en viss risiko for smittespredning.
- **MINIMAL:** Risiko for smittespredning minimal, smitteoverføring ikke sannsynlig men kan ikke utelukkes fullstendig.

5.3. Risiko for oppstrøms smitte via båter

Spørsmål 3: Hvor stor er risikoen for at båter som går gjennom smittet sone kan føre med seg smitte oppover i vassdraget?

Det vil alltid være en risiko for at båter fører med seg smitte oppover i et vassdrag, men det finnes ikke forskning eller undersøkelser som gjør oss i stand til å gi et nøyaktig estimat på hvor stor denne risikoen kan være. Risikoen vil trolig være større for båter med åpent kjølevannsystem hvor en kan risikere at infisert vann pumpes inn, medbringes oppover i vassdraget og slippes ubehandlet ut igjen. På samme måte vil små og store båter som aktivt tar inn/passivt lekker inn vann i infisert sone kunne spre smitte om dette vannet pumpes/øses ut lenger opp i vassdraget. For større båter med lukkede kjølevannsystemer vil bedre kontroll med kjølevannet være mulig, og det antas i tillegg at vannet utsettes for oppvarming over 60 °C. Slik oppvarming kan være tilstrekkelig for å eliminere aktiv smitte av *A. astaci* (se punkt 6.9 og 6.11).

Zoosporer av *A. astaci* kan oppsøke uspesifikke næringssubstrater ved hjelp av kjemotaksis (Söderhäll & Cerenius, 1999). Overflater med mye organisk belegg kan derfor utgjøre et bedre egnet substrat for zoosporer enn glatte, rene flater. Zoosporer kan potensielt encystreres på organisk belegg og feste seg til underlaget ved hjelp av et klebrig festemateriale (Söderhäll & Cerenius, 1999). Vi antar derfor at båter med slitte, furete overflater med organisk belegg (biofilm, algebelegg, mudder, skitt) på utsiden utgjør en større risiko for smittespredning enn båter med glatte rengjorte flater hvor sporer og cyster ikke så lett vil kunne feste seg. Motstrømmende vannmasser og båtens hastighet gjennom vannet vil bidra til å skylle vekk tilfeldige zoosporer som ikke er godt festet, men vil sannsynligvis i mindre grad kunne skylle vekk cyster som kan ha funnet feste i organiske belegg. Med rengjøring og desinfeksjon av båtoverflate ved grense mellom smittet og usmittet sone, samt skikkelig håndtering av kjølevann/ballastvann, vil vi anta at smitterisiko via båter oppover i vassdraget vil kunne reduseres betydelig.

5.4. Brakkleggingsperiode - anbefalt varighet

Spørsmål 4: Hvor lang brakkleggingsperiode er nødvendig før vi kan friskmelde hele/deler av et vassdrag?

Brakkleggingsperiode kan her tolkes på to måter:

- 1) Hvor lang tid det bør gå før restriksjoner på fiske, ferdsel og båttrafikk oppheves
- 2) Hvor lang tid det bør gå før det igjen kan vurderes å reetablere krepsebestanden

Det er vanskelig å angi en periode av spesifikk varighet for nødvendig brakklegging, både med hensyn til oppheving av restriksjoner og med hensyn til reetablering av kreps. Så lenge det er uavklart hvor lenge smitte av *A. astaci* forblir aktiv (jfr. 4.2-4.3, s. 5-7) er det også usikkert hvor lang brakkleggingsperioden må være. Veterinærinstituttet kan derfor ikke gi entydige anbefalinger her, men vi knytter følgende kommentarer og resonnementer til spørsmålet:

- I Glomma er det lite som tyder på at 1-2 år er tilstrekkelig for å eliminere smitte av *A. astaci*. I Glomma var det kreps sommeren 2002, men disse døde ut før sommeren 2003. Burforsøk ble etablert i juni 2004, og høsten 2004 døde de første krepsene, mer enn ett år etter at all krepsen tilsynelatende var forsvunnet.
- Vi har ikke direkte sammenlignbare data for Haldenvassdraget, men erfaringene fra Glomma og Halden er like i den forstand at krepsepest har dukket opp igjen når den reetablerte krepsebestanden har nådd en viss størrelse, begge steder flere år etter det første utbruddet. De samme erfaringene hadde man også i Sverige, hvilket førte til at signalkreps til slutt ble tatt inn.
- I begge tilfeller er det et åpent spørsmål om pesten ligger latent/holdes i live på et lavnivå, eller om den bringes inn på nytt. Årsaken til situasjonen i Glomma og Haldenvassdraget kan forklares med en eller flere av modellene listet i punkt 4.3.

- Vi antar at Norge er fri for signalkreps, men gitt at dette er feil (jfr. 4.3.B), vil ikke brakklegging hjelpe. Det kan ta lang tid før en populasjon av signalkreps blir stor nok til å oppdages, ved for eksempel dykkerundersøkelser. I Store Le ble signalkreps trolig utsatt i 1989, men oppdaget først i 2002. Vassdrag med signalkreps vil alltid være et reservoar for aktiv smitte. Her vil restriksjoner måtte fastholdes og vassdraget vil aldri kunne benyttes som habitat for edelkreps, med mindre motstandsdyktige stammer av edelkreps kan avles frem eller utvikles/selekteres naturlig. Det finnes eksempler på innsjøer, f.eks Skillötsjön og Vristulven, samt 5-6 andre innsjøer i Sverige (Lennart Edsman, pers. med.) hvor signalkreps og edelkreps har sameksistert i årevis. Ingen har imidlertid undersøkt om edelkrepsens motstandsdyktighet mot pesten er bedre i disse lokalitetene, og man vet heller ikke om *A. astaci* fins i disse sjøene.
- Går vi ut fra at det ikke fins signalkreps i Norge er det fortsatt et åpent spørsmål hvor lang brakkleggingsperioden bør være. Etter utbrudd bør det ikke tas for gitt at all edelkreps er død (jfr. 4.3C og G) før det er foretatt undersøkelser i det aktuelle vassdraget ved hjelp av f.eks. dykking og teinefiske. Dette kan i hvert fall fastslå om bestanden er slått ut/kollapset, men det er viktig å være klar over at null observasjoner/fangst av kreps ikke fullstendig eliminerer muligheten for fortsatt forekomst av enkeltindivider med overlevende kreps. Videre bør det prioriteres å sette i gang undersøkelser av fisk og bunnmateriale på lokaliteter som tidligere er rammet av krepsepest både med tanke på potensiell overlevelse av *A. astaci* i krepsetomme vassdrag (jfr. 4.3D-F), og med tanke på utvikling av verktøy for molekylær smittesporing i vann og miljøprøver (jfr. punkt 6.8 og 6.13).

I påvente av videre undersøkelser anbefaler vi inntil videre fortsatte restriksjoner i forhold til fiske og ferdseil (opptil flere år). Det er imidlertid tvilsomt om vannmassene i et vassdrag der krepsen er borte i seg selv inneholder zoosporer i mengder som utgjør en risiko for smittespredning via kontrollert båttrafikk (se 6.3). Derimot kan forflytning av fisk og aktiviteter som involverer kontakt/forflytning av bunnmateriale utgjøre en noe større risiko.

Burforsøk medfører økt risiko for gjenoppblomstring av smitte (jfr. 6.12). Imidlertid fins det per i dag ikke noe godt alternativ til burforsøk for å vurdere smittefaren f.eks nedstrøms Ørje Sluser. Dersom burkrepsen overlever, kan smitterisikoen anses som svært liten. Det betyr ikke at vassdraget er trygt for gjenintroduksjon av kreps, men sier noe om at smittepotensialet (inkludert risiko for smittespredning) er lavt. Inntil arbeid med smittesporing forhåpentligvis kan ha gitt noen flere avklaringer, vil det være hensiktsmessig å vente flere år før en eventuell gjenintroduksjon av kreps vurderes.

5.5. Brakkleggingsperiode - kan den forkortes?

Spørsmål 5: Er det noen som kan gjøres for å korte ned brakkleggingstiden?

Veterinærinstituttet har ikke kjennskap til metoder som kan anbefales for å redusere brakkleggingsperioden. Bruk av desinfeksjonsmidler som i teorien vil kunne redusere eller eliminere *A. astaci* fra en innsjø eller vassdrag er totalt uakseptabelt i forhold til vassdragets økologiske balanse. Imidlertid kan det tenkes at aktiv bruk av burforsøk med levende kreps i tidligere pestrammede områder kan bidra til aktiv opprettholdelse av smitte i vassdraget (om enn på et lavbluss), og dermed forlenge brakkleggingsperioden. Samtidig er bruk av burforsøk den eneste metoden vi har per i dag for å overvåke smittesituasjonen. Generelt bør burforsøk planlegges nøye, begrenses, og kontrolleres hyppig (jfr. 6.12).

Det er (teoretisk) mulig å hindre zoosporeproduksjon hos *A. astaci* ved tilsetning av Mg^{2+} i vannet til en konsentrasjon tilsvarende 20 mM $MgCl_2$ (Rantamaki, Cerenius & Söderhall, 1992). I dette arbeidet ble det bl.a. vist at infisert kreps under slike vannforhold ikke overførte smitte til frisk kreps på grunn av hemmet zoosporeproduksjon, men vegetative stadier av *A. astaci* ble imidlertid ikke hemmet. Bruk av denne metoden kan gi midlertidig kontroll av og redusert risiko for smitteoverføring med infeksiose zoosporer innen og mellom lokaliteter, men vil ikke eliminere *A. astaci*. Et slikt tiltak er derfor begrenset hensiktsmessig, og vil dessuten være tilnærmet umulig å gjennomføre i store vassdrag.

Både Glomma og Haldenvassdraget har en høy diversitet av ulike fiskearter. Fiskevandring kan utgjøre en potensielt høy risiko for oppstrøms smittespredning. Elektriske barrierer har vært forsøkt med varierende

resultat i andre land, og kan vurderes som et mulig tiltak for å hindre spredning via fisk (og infiserte kreps). Elektriske barrierer har kun vært prøvd en gang i Norge i Vrangselva (jfr. 4.2). Barrieren virket det første året, men etter dette ble smitte overført oppstrøms barrieren, trolig på grunn av biologiske vektorer som f.eks. mink eller på grunn av menneskelig aktivitet.

5.6. Aktiv nedsmutting av vassdrag

Spørsmål 6: Er det et alternativ ved smitte i et vassdrag å aktivt sørge for nedsmutting av vassdraget opp til neste vandringshinder?

Aktiv nedsmutting er et alternativ som i visse situasjoner kan være hensiktsmessig i deler av vassdrag som er ukompliserte uten mange sidebekker e.l., og hvor det forventes at kreps vil smittes uansett. Tiltaket har ved flere anledninger blitt gjennomført i Sverige. Her har krepsebestander blitt smittet ned for å lage krepsetomme områder. Deretter har det blitt satt opp elektriske spenninger som hinder for oppstrøms smitte med fisk, kreps og zoosporer.

Det bør imidlertid være en høy terskel før man tar i bruk virkemidler som aktiv nedsmutting i form av å utplassere smittet kreps blant friske krepsepopulasjoner, bl.a. ut fra etiske vurderinger. Hensiktsmessighet må også vurderes nøye fra sak til sak. Nedsmutting vil gå av seg selv nedstrøms i vassdrag. Oppstrøms har enkelte undersøkelser indikert at krepsepest sprer seg med en hastighet på ca 4 km per år (Aldermann, 2002), men dette kan imidlertid gå betydelig raskere, for eksempel via mekaniske eller biologiske vektorer som beveger seg innen smittesonen (fram til neste vandringshinder). I Norge ble det vist ved utsetting av kuper med kreps at smitten spredte seg oppstrøms med ca. 800 m i uken (Håstein & Unestam, 1972). Fravær av restriksjoner innen en smittesone kan også fungere som en form for aktiv nedsmutting.

5.7. Friskmelding av vassdrag

Spørsmål 7: Hvor lenge må et friskt vassdrag være friskt før vi kan fjerne restriksjoner, jfr. at det nå ikke finnes spor av krepsepest i burforsøkene i Aremarksjøen (nedenfor Strømsfoss sluse)?

Det er svært vanskelig å fastslå når et vassdrag kan friskmeldes. Så lenge det er uavklart hvor lenge smitte av *A. astaci* forblir aktiv (jfr. 4.2-4.3, s. 5-7) er det umulig å angi hvor lang tid det tar før vassdraget er fritt for smitte. At det ikke finnes spor av krepsepest i et burforsøk er ikke ensbetydende med et usmittet vassdrag, men indikerer i hvert fall et lavt smittepotensial. Når store bestander kreps rammes av krepsepest vil det masseproduseres zoosporer i de frie vannmasser som raskt spres nedstrøms. Disse kan også lett kontaminere biologiske og mekaniske vektorer. I en slik situasjon vil utplassert burkreps raskt rammes. I Glomma og Haldenvassdraget sommeren 2005 var situasjonene imidlertid noe annerledes. I Glomma var det kun burkreps som ble rammet, da vassdraget forøvrig var tilsynelatende krepsetomt nedstrøms Kirkenær i Solør. I Haldenvassdraget var det burkreps og noen få spredte villlevende krepsepopulasjoner som ble rammet. Ved burforsøk vil mange burkreps bli tatt ut før *A. astaci* rekker å igangsette sporeproduksjon, og i de tilfellene hvor sporeproduksjon initieres vil denne være begrenset da det er få kreps per bur. Smitte i Glomma og Haldenvassdraget har derfor trolig holdt seg på et lavbluss hele sesongen 2005, noe som gjenspeiles i tilsynelatende lang inkubasjonstid (f.eks. fra første kreps i et bur smittes til siste kreps er død). Samtidig kan det synes noe tilfeldig om, og hvor, burkreps smittes. Det ble påvist krepsepest i burforsøk nedstrøms Strømfoss sluse i juli 2005 (se tabell 1, sak 05-09-257). Hvis det medfører riktighet at kreps i bur nedstrøms Strømfoss sluse etter dette ikke har blitt smittet, skyldes det etter all sannsynlighet ikke at vassdraget er smittefritt, men at smittepotensialet (antall zoosporer i vannmassene) er svært lavt. Så sent som 1. september ble det påvist krepsepest i Øymarksjøen og i Ørjeelva (se tabell 1, sak 05-09-373). Basert på tidligere erfaringer kan det ikke utelukkes at denne

smitten overvintrer og aktiveres i løpet av våren 2006. Veterinærinstituttet kan derfor ikke gi entydige anbefalinger i forhold til friskmelding av vassdrag, men i tråd med svar på spørsmål knyttet til brakkleggingsperiode mener vi det i påvente av videre undersøkelser bør gå lang tid (flere år) før alle restriksjonene fjernes. Restriksjoner kan imidlertid graderes ut i fra vurdering av risiko (se tabell 2, side 14). Som tidligere nevnt (jfr. 6.4) er det tvilsomt om vannmassene i et vassdrag der krepsen er borte i seg selv inneholder zoosporer i mengder som utgjør en risiko for smittespredning via f.eks. (kontrollert) båttrafikk, mens f.eks. forflytning av fisk og aktiviteter som involverer kontakt/forflytning av bunnmateriale kan utgjøre en noe større risiko.

5.8. Diagnose og smittesporing

Spørsmål 8: Hvordan kan vi få sikrere diagnose? Dersom all krepsen er dødd ut i et område, overlever smitten da i sedimenter eller hos andre dyr slik at det er mulig å spore den?

5.8.1. Sikrere diagnose

Diagnosen krepsepest krever i følge verdens dyrehelseorganisasjon (OIE) isolering av *A. astaci* i renkultur og verifisering av agensmorfologi og virulens (http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A_00053.htm). Metoden er tidkrevende, etisk omstridt om smittetest benyttes, og ofte mislykket, da *A. astaci* er vanskelig å isolere i renkultur. Siden 1971 har krepsepest ved gjentatte anledninger eliminert edelkreps i norske vassdrag, men det lyktes ikke å isolere *A. astaci* i kultur ved utbrudd i perioden 1971-2004 (se punkt 5.2 og 5.3). I løpet av 2005 ble det testet ut to metoder ved Veterinærinstituttet for molekylær påvisning av *A. astaci* direkte fra infisert kreps. Den ene er basert på **kvalitativ** agenspåvisning ved hjelp av PCR (Oidtmann *et al.* 2004) etterfulgt av DNA-sekvensering for verifisering av artsidentitet (http://www.vetinst.no/inet_no/index.asp?strUrl=1002066i&sid). Den andre er basert på **kvantitativ** agenspåvisning ved hjelp av target taxon-spesifikk real-time PCR. Begge metoder påviser ved hjelp av ulik teknologi et DNA-sekvensmotiv unikt for *A. astaci*. Den første metoden ble implementert våren 2005 og påviste *A. astaci* fra totalt 14 ulike innsendelser i løpet av sesongen (se tabell 1 og punkt 5.2-5.3). Den andre metoden ble utviklet i løpet av høsten 2005 og er under utprøving og validering. Foreløpige resultater viser at begge metoder er svært sikre og spesifikke for påvisning av kun *A. astaci* (og ikke nære slektninger innen slektene *Aphanomyces* og *Saprolegnia*). I tillegg har begge metoder verifisert flere tidligere diagnoser av krepsepest i Norge fra 1971 til 2004 (upubliserede data). Target taxon-spesifikk real-time PCR for deteksjon av *A. astaci* er imidlertid hurtigere, sikrere i forhold til krysskontaminasjon mellom prøver, og kan benyttes til kvantitativ påvisning (si noe om grad av infeksjon / mengde agens). Denne metoden er også mer sensitiv for påvisning av spormengder (svært små mengder) med *A. astaci*, og har derfor et større potensial i forhold til smittesporing i vann- og miljøprøver. Metoden har verifisert tilstedeværelse av *A. astaci* i små, moderate eller store mengder i alle 14 tidligere rapporterte positive tilfeller av krepsepest fra 2005. I tillegg påviste metoden spormengder av agens i flere delprøver fra "positive" saker, hvor den kvalitative metoden ikke hadde gitt positiv påvisning for enkelte delprøver. Det antas derfor at denne metoden detekterer tilstedeværelse av *A. astaci* ved svært lave nivåer, f.eks. umiddelbart etter infeksjon. Spormengder av agens ble også påvist ved hjelp av denne metoden i noen innsendelser fra 2005 hvor den kvalitative metoden hadde gitt negativt svar (se tabell 1). Det er foreløpig ikke tatt stilling til hvordan dette skal tolkes.

Sammenlignet med dyrkning og isolering av agens i renkultur er molekylære metoder et raskere og langt mer pålitelig alternativ for påvisning av *A. astaci*. Real-time PCR for påvisning av *A. astaci* planlegges implementert i krepsepestdiagnostikken ved Veterinærinstituttet i 2006. Når denne metoden (eller tilsvarende molekylære metoder) har gjennomgått tilstrekkelig internasjonal validering, er det sannsynlig at OIE vil kunne ta i bruk slike metoder, eventuelt som et alternativ til dyrkning og isolering av *A. astaci* i renkultur som grunnlag for diagnose.

5.8.2. Sporing av smitte

Det kreves videre undersøkelser og forskning for å kartlegge hvor lenge smittestoff av *A. astaci* kan overleve under norske forhold uten tilgang til levende kreps. Veterinærinstituttet ønsker å se på muligheten for smitteovervåking i Glomma og Haldenvassdraget ved hjelp av molekylære analyser av vann, sedimenter, organisk bunnmateriale og potensielle mellomverter (fisk, andre krepsdyr og lignende).

Target taxon-spesifikk real-time PCR for molekylær påvisning av *A. astaci* er en metode som etter all sannsynlighet vil egne seg svært godt for kvantitativ/semikvantitativ påvisning av *A. astaci* i alle former for komplekse matrikser, inkludert vann og miljøprøver. Metoden vil kunne gi svar på om *A. astaci* er tilstede i spormengder, små mengder, moderate mengder eller store mengder. De store utfordringene ligger derfor ikke lenger i selve deteksjonsmetoden, men i hvordan uttak av representative prøver fra vann og miljø best skal utføres (jfr. punkt 6.13).

5.9. Desinfeksjon under feltforhold

Spørsmål 9: Hva er god nok desinfisering under feltforhold i forhold til båter og annet utstyr som benyttes i smittede vassdrag?

Det finnes flere effektive metoder for å drepe *A. astaci*, men mange av disse kan være vanskelige å gjennomføre tilfredsstillende under feltforhold. Man vil trenge enten medbrakte desinfeksjonsmidler (for eksempel etanol, jod, klor eller salt) eller tilgang på for eksempel kokeapparat, -20 °C fryseboks, badstue/tørkerom/tørketrommel (> 60 °C) eller dampsterilisering.

5.9.1. Varmebehandling og fullstendig uttørring

Forsøk har vist at *A. astaci* har et vekstoptimum på temperaturer mellom 20-24°C, og er sensitiv for temperaturer over 30 °C (Alderman, 2002). Det er imidlertid kun enkeltisolater som er testet, og variasjon mellom isolater kan tenkes å forekomme. Forsøk har videre vist at *A. astaci* ikke overlever en varmeeeksponering ved 60 °C i over 5 minutter. I tillegg er arten en vannlevende organisme som er svært sensitiv for uttørring. Uttørring for eksempel i badstue eller tørkerom med tilstrekkelig høy temperatur er derfor en meget godt egnet metode for å eliminere smitte av *A. astaci*. For mindre utstyr anbefales minimum 1 time i > 60 °C, for større utstyr anbefales minimum 5 timer i > 60 °C. Fullstendig lufttørring/soltørring i 2-3 døgn er etter all sannsynlighet tilstrekkelig, men kan ikke i samme grad som tørke kombinert med varme garantere 100 % effektiv eliminering av smitte.

5.9.2. Koking

Koking av klær/utstyr er en effektiv metode for eliminering av smitte. Det anbefales en koketid på minimum 5 minutter. Klær/utstyr må være helt nedsenket under koketiden.

5.9.3. Damp

Varmebehandling ved bruk av damp vil være en effektiv metode for å eliminere *A. astaci* både for utvendig og innvendig desinfeksjon av båter. Damp under trykk vil i tillegg til å ha desinfiserende effekt også være effektivt med hensyn på å rengjøre ytre og indre flater. Effektiv eksponeringstemperatur bør overstige 60 °C i minimum 15 minutter.

5.9.4. Frysing

Aphanomyces astaci er mer tolerant for kulde enn varme. Tester har vist at den kan overleve minst 3 døgn ved minus 5 °C (Alderman, 2002), men ved minus 20 °C overlever testede isolater ikke lenger enn 10 minutter. Det kan imidlertid være variasjon mellom ulike isolater. Ved bruk av frysing for eliminering av smitte anbefales det derfor nedfrysing ved minus 20 °C i minimum 5 timer (helst et døgn) eller minus 10 °C i minst ett døgn.

5.9.5. Kjemisk desinfeksjon

Det finnes en rekke virksomme desinfeksjonsmidler som mer eller mindre effektivt dreper *A. astaci*. Flere fungicider er testet, men ikke alle er virksomme og det mest virksomme (malakittgrønt) er ikke lenger tillatt å bruke. Imidlertid er det en rekke enkle, lett tilgjengelige og tillatt brukte midler som er virksomme mot *A. astaci* inkludert etanol (sprit/rødsprit), jod (for eksempel i form av Jodosan), natriumhypokloritt (for eksempel i form av klorin), salt (vanlig koksalt, NaCl₂) og formalin (formaldehyd). Forslag til anbefalte metoder og konsentrasjoner er som følger:

5.9.5.1. Etanol (sprit/rødsprit)

- **Fullstendig nedsenking.** For sikker desinfeksjon med etanol anbefales nedsenking i 70% etanol (3 deler sprit/rødsprit til 1 del vann) i minimum 20 minutter.

- **Spraying.** For sikker desinfeksjon ved hjelp av spraying med etanol (for eksempel instrumenter og flater) anbefales først en grundig rengjøring etterfulgt av spraying med 70% etanol til flaten er helt dynket. La behandlingen virke i minimum 20 minutter før videre bruk. Flaten kan deretter tørkes av aktivt eller lufttørke.

5.9.5.2. Klor (klorin/natriumhypokloritt)

Forsøk har vist at desinfeksjonsmidler som til vanlig brukes i fiskeoppdrettssammenheng effektivt eliminerer *A. astaci* (Alderman & Polglase, 1985a; Alderman & Polglase, 1985b). Det angis at natriumhypokloritt i en dose tilsvarende 100 ppm fritt klor dreper testede isolater av *A. astaci* i løpet av 30 sekunder. I praksis kan vanlig klorin (som er en natriumhypoklorittløsning) benyttes. Klorin fra Lilleborg fabrikker inneholder ca. 4,6 % klor. En fortyning på 1 del klorin til 30 deler vann (1 dl klorin til 3 liter vann) vil gi en løsning som inneholder i overkant av 100 ppm fritt klor.

- **Fullstendig nedsenking.** For sikker desinfeksjon med klorin anbefales nedsenking i klorinløsning i et blandingsforhold 1 del klorin til 20 deler vann (1 dl klorin til 2 liter vann) i 10 minutter. Dette tar høyde for at det kan være variasjon i toleranse mellom ulike stammer av *A. astaci*, og at klorin fra ulike produsenter kan variere med hensyn til prosentandel klor.
- **Spraying.** For sikker desinfeksjon ved hjelp av spraying med klorin (for eksempel instrumenter, flater, båter) anbefales først en grundig rengjøring, etterfulgt av spraying med klorløsning (1 dl klorin til 2 liter vann) til flaten er helt dynket. La behandlingen virke i minimum 10 minutter før videre bruk. Flaten kan deretter tørkes av aktivt eller lufttørke.

5.9.5.3. Jod (Jodosan)

Forsøk har også vist at en jodofor-oppløsning med 100 ppm fritt jod eliminerer *A. astaci* (Alderman & Polglase, 1985a; Alderman & Polglase, 1985b), men denne behandlingen er mindre effektiv enn klor på flater som ikke er rengjort. Jodoforløsning bør derfor brukes på rene flater, da overflatekontaminasjon av organisk materiale og lignende vil kunne bidra til å beskytte *A. astaci*. I praksis kan for eksempel Jodosan benyttes. Dette er et konsentrert desinfeksjonsmiddel med jodofor (meget etsende i ufortynnet tilstand) som fås kjøpt reseptfritt på apoteket. Før bruk må det avklares om Jodosan kan virke korroderende på utstyret

- **Fullstendig nedsenking.** For sikker desinfeksjon med jodoforer anbefales nedsenking i jodløsning i et blandingsforhold 1 del Jodosan til 100 deler vann (10 ml Jodosan til 1 liter vann) i 10 minutter. Dette tar høyde for at det kan være variasjon i toleranse mellom ulike stammer av *A. astaci*.
- **Spraying.** For sikker desinfeksjon ved hjelp av spraying med jodoforer (for eksempel instrumenter, flater, båter) anbefales først en grundig rengjøring etterfulgt av spraying med jodløsning (10 ml Jodosan til 1 liter vann) til flaten er helt dynket. La behandlingen virke i minimum 20 minutter før videre bruk. Flaten kan deretter tørkes av aktivt eller lufttørke.

5.9.5.4. Salt (NaCl₂)

Aphanomyces astaci er en ferskvannsorganisme, og vil ikke overleve i saltvann. Saltbehandling bør derfor kunne fungere bra som desinfeksjonsmetode. Vi har ikke funnet litteratur hvor slike forsøk er utført for *A. astaci*. Virksom saltkonsentrasjon og nødvendig tid for eksponering bør undersøkes. Saltvann inneholder ca 3,5 % salt (<http://biologi.uio.no/plfys/haa/leks/s/saltvann.htm>). Det er derfor rimelig å anta at en noe sterkere saltløsning (f.eks. 4-6 %) vil være meget virksom. Vi vil anta at nedsenking i en saltløsning på 5 % i 20-30 minutter eller spraying (tilsvarende prosedyre som beskrevet over for andre kjemiske desinfeksjonsmidler) vil eliminere aktiv smitte av *A. astaci* effektivt. Noen timers opphold for en båt i saltvann (sjøvann) vil sannsynligvis også eliminere smitte effektivt.

5.9.5.5. Formalin

Formalin desinfiserer og eliminerer *A. astaci* effektivt. Imidlertid anbefales det ikke å benytte formalin ved rutinedesinfeksjon på grunn av helsemessige konsekvenser (f.eks. ved innånding av formalindamp).

5.9.6. Oppsummerende kommentarer til desinfeksjon

De minst helsefarlige og miljøvennlige alternativene for eliminering av *A. astaci* under feltforhold er bruk av varmebehandling og fullstendig uttørring, koking, damp (helst under trykk), eller frysing. Av kjemiske desinfeksjonsmidler er alle nevnte midler virksomme i de doser og tidsintervaller som anbefalt, men hva man bør velge avhenger av hva utstyr og materiale best kan tåle samt hva man enklest kan skaffe til veie.

Det kan også finnes andre alternative former for desinfeksjon som f.eks. bestråling, UV-lys og lignende, men vi kjenner ikke til om dette er testet ut på *A. astaci* og kan derfor ikke gi konkrete anbefalinger.

5.10. Ørje sluser

Spørsmål 10: Forutsatt at det ikke påvises smitte i buret som står nedstrøms Ørje sluser - når er det tilrådelig å tillate trafikk gjennom Ørje sluser igjen?

Det er vanskelig å gi en konkret anbefaling for når det er tilrådelig å gjenåpne Ørje sluser. Som et "føre var prinsipp" kan det være tilrådelig å anta at tidligere pestrammede lokaliteter kan være et reservoar for smitte i lengre perioder enn tidligere antatt (jfr. punkt 4.3). I tråd med svar på spørsmål knyttet til brakkleggingsperiode og friskmelding av vassdrag mener vi det i påvente av videre undersøkelser bør gå lang tid (flere år) før alle restriksjoner fjernes. Da blir det viktig å etterstrebe akseptable løsninger som både tar hensyn til vern av kreps og lokalbefolkningens interesser i det aktuelle området. Restriksjoner kan graderes ut fra vurdering av risiko (se tabell 2, side 14).

Det ble påvist krepsepest i Øymarksjøen og i Ørjeelva nedstrøms Ørje sluser fra kreps mottatt 21. september 2005 (se tabell 1, sak 05-09-373a og b). Veterinærinstituttet kjenner ikke til hva som har skjedd på lokalitetene etter dette, men hvis det etter september 2005 ble satt ut igjen kreps i burene i Ørjeelva og i Øymarksjøen kan det ikke utelukkes at disse allerede er eller vil bli smittet i løpet av våren 2006 når vanntemperaturen øker (tilsvarende det som skjedde i Glomma hvor vi antar at smitte har overvintret mellom høsten 2004 og våren 2005). Vi kjenner heller ikke til om eventuelle krepsepopulasjoner nedstrøms Ørje sluser er eliminert i sin helhet, eller om det fremdeles finnes viltlevende populasjoner/individer i Øymarksjøen. Så lenge det kan være levende kreps igjen nedstrøms Ørje sluser, er det også en viss risiko for ny produksjon av smittestoff når temperaturen i vannet øker til våren. Der er ikke tilrådelig å gjenåpne Ørje sluser før dette er avklart.

En gjenåpning av slusene i 2006 vil øke risiko for oppstrøms smitte via vassdraget. Hvis det imidlertid ikke observeres en oppblomstring av pesten i bur eller frie bestander av kreps når vanntemperaturen stiger til sommeren, er det lite sannsynlig at det vil forekomme infeksjose zoosporer i de frie vannmasser nedstrøms Ørje sluser i mengder som vil representere en nevneverdig risiko for smittespredning via kontrollert båttrafikk gjennom slusene. Hvis potensiell smitte i krepsetomme vann/vassdrag i kortere eller lengre perioder antas å være knyttet til bunnsjiktet og/eller andre mellomverter (for eksempel fisk), vil båter, utstyr, fugl og dyr som kun har vært i kontakt med frie vannmasser representere en langt mindre risiko for smittespredning enn slike vektorer som har vært i kontakt med bunnsjiktet. Fisk kan tenkes å utgjøre en risiko for oppstrøms smittespredning (jfr. punkt 4.3 E og 6.3.1), selv om avklaring i forhold til betydning av smittespredning med fisk krever videre forskning.

Med tiltak som inkluderer håndtering av kjølevann og båtoverflater (oppvarming eller desinfeksjon) vil slusing av båter representere en minimal risiko for smittespredning (se tabell 2) sammenlignet med mange andre mulige smitteveier, for eksempel vandring av fisk, spredning med andre biologiske vektorer (fugl og vannaktive pattedyr), samt menneskelig aktivitet (inkludert sabotasje). Slusene i seg selv (avhengig av hvor mange sluser det er) vil også bidra til en betydelig fortynningseffekt av potensiell smitte i vannmassene. Vandring av fisk gjennom slusene kan representere en større risiko for smittespredning enn båter. Ved eventuell åpning av slusene må derfor tiltak som hinder fiskevandring gjennom slusene vurderes.

5.11. Desinfeksjon av båter

Spørsmål 11: Hvilken desinfeksjonsmetode bør velges ved behandling av hhv. større båter med kjølevannssystem, mindre båter med påhengsmotor, kanoer/kajakker, bekledning, fiskeutstyr?

Viser til punkt 6.9. De samme metoder og anbefalinger (inkludert temperaturer, eksponeringstider og doser) kan benyttes her.

For bekledning, fiskeutstyr og annet mindre utstyr (inkludert avmonterte påhengsmotorer) anbefales i første rekke en kombinasjon av varmebehandling/fullstendig uttørking i for eksempel badstue, tørketrommel (for bekledning) eller tørkerom (minimum 1 time i > 60 °C for mindre utstyr, opp til 5 timer for større utstyr). For mindre båter med påhengsmotor, kanoer/kajakker, kan det benyttes varmebehandling med damp (fortrinnsvis under trykk) hvor eksponering bør tilsvare > 60 °C i minimum 15 minutter. Alternativt kan kjemisk desinfeksjon benyttes. Det er da viktig med rengjøring av flater før eventuell spraying med desinfeksjonsmiddel (f.eks. etanol, klor, jod eller salt i fortyninger som angitt i punkt 6.9). Båter brukt i et smitterammet vassdrag skal være fullstendig tørre før de tas i bruk i et nytt vassdrag. Etter spraying med desinfeksjonsmiddel (som skal virke i angitt tid, se under punkt 6.9) kan det benyttes enten aktiv avtørking eller luft/sol tørking. Båter som har ligget på land i en lengre periode, for eksempel over vinteren eller flere uker i tørt, varmt vær på sommeren vil trolig ikke representere en risiko for smitte. Det anbefales allikevel å alltid varmebehandle/dampbehandle eller desinfisere båter som har vært i kontakt med smittet vann.

Kontrollert håndtering av kjølevann.

For båter med lukket kjølesystem vil sannsynligheten for at smitte overlever være minimal, da kjølevannet trolig vil oppvarmes til temperaturer som dreper smittestoff av *A. astaci*. Før dette kan anbefales som tilstrekkelig håndtering alene, må det imidlertid testes hvor høy vanntemperaturen i lukkede kjølesystemer blir, og hvor lenge vannet har en tilstrekkelig høy temperatur før eventuell nedkjøling. Temperaturen bør overstige 60 °C i minimum 15 minutter. Dersom dette ikke kan oppfylles, bør det vurderes desinfeksjon av kjølevannet minimum 1 time før utslipp. Det må i tilfelle først avklares hvilke desinfeksjonsmidler som kan egne seg i forhold til hva kjølevannssystemene kan tåle (unngå korroderende effekt osv.).

Kjemisk desinfeksjon av kjølevann kan ha uheldige miljømessige konsekvenser. Varmebehandling er derfor å foretrekke. For båter med åpne kjølevannssystemer må man finne båttekniske løsninger som sikrer destruksjon av smittestoff i kjølevann før båter for eksempel slippes gjennom sluser. Her har ikke Veterinærinstituttet kompetanse til å komme med spesifikke forslag til behandlingsmetoder som er teknisk gjennomførbare, men vi vil anta at former for varmebehandling er å foretrekke. Vi utelukker ikke at bestråling kan være et alternativ, men har ikke kunnskap eller kompetanse på feltet. Kjemisk desinfeksjon kan få uheldige miljømessige konsekvenser både i vann og på land, avhengig av dose og tidsperiode. Varmebehandling for eksempel ved damp under trykk vil kunne organiseres i/ved vannet/slusesystemet uten å medføre uheldige miljømessige eller helsemessige konsekvenser.

Forøvrig vedlegges også brev av 14. mars 2005 fra Veterinærinstituttet ved Tore Håstein og Atle Lillehaug sendt Mattilsynet ved Ivar Hellesnes med en redegjørelse for desinfeksjon av utstyr og båter (vedlegg 1).

5.12. Burforsøk

Spørsmål 12: Hvor lang tid bør det gå etter påvisning av krepsepest i forsøksbur før man kan sette kreps i burene igjen?

Burforsøk er et viktig tiltak for overvåkning av smittesituasjonen. Det bør alltid benyttes burforsøk for å holde kontroll med smittesituasjonen oppstrøms en smittesone. Samtidig kan burforsøk også ha uheldige konsekvenser. I tillegg til å være etisk betenkelig, kan det bidra til å aktivere og opprettholde smitte på et lavbluss over små eller store arealer avhengig av hvor mange bur og lokaliteter som er involvert. I Glomma er det sannsynlig at smitte har overlevd helt siden 2002-2003 da all reetablert kreps forsvant (jfr. punkt 5.1). Glomma synes å være tom for kreps i og nedstrøms sonen hvor burforsøkene har funnet sted, og smitten ble tilsynelatende opprettholdt på et lavbluss i store deler av denne sonen hele

sesongen 2005 (siste positive innsendelse var datert oktober, se tabell 1). Når smitte er påvist i et vassdrag bør det vurderes nøye om det er hensiktsmessig å fortsette utsetting av ny kreps i flere bur nedstrøms smittetpunkt. Ut ifra de begrensede erfaringene vi har kan mye tyde på at det bør gå en betydelig periode (flere år) før det er hensiktsmessig å teste smittesituasjonen ved utsetting av ny kreps. Det bør ikke under noen omstendighet settes inn nye kreps i bur som har vært utsatt for krepsepest før det har gått minimum 3 måneder ved en vanntemperatur som overstiger 10 °C.

Burforsøk er en nyttig og effektiv overvåkningsmetode, men lokaliteter (antall og beliggenhet), antall bur og hensikten med overvåkingen må vurderes nøye. I forhold til praksis i 2005 kan det videre framover være fornuftig å vurdere en reduksjon i antall bur, og en langt hyppigere overvåking av de bur som utplasseres. Det utgjør en vesentlig forskjell for produksjonen av ny smitte om smittede dyr tas ut av buret og isoleres før døden inntreffer, eller om de tas ut en til flere dager etter at de er døde. Produksjon av infeksjøs zoosporer initieres i det vesentlige når krepsen dør og vedvarer i minimum 5-7 dager (Oidtmann *et al.* 2002). Død kreps vil nedbrytes raskt, og om fisk, dyr eller fugler greier å få tilgang på restene kan smitte spres på flere måter, både via avføring hos fisk eller på overflaten av fisk, fugl eller vannaktive dyr (jfr. punkt 6.1.3). I flere mottatte saker i 2005 hvor krepsepest ble påvist, fulgte det med notater om kreps som var helt eller delvis forsvunnet fra buret. Bedre sikring av bur mot predatorer, samt hyppig overvåking som kan øke uttak av syk kreps framfor død kreps/rester av kreps, vil kunne redusere risiko for produksjon av ny smitte betydelig. Samtidig vil molekylære deteksjonsmetoder kunne påvise infeksjonen på et svært tidlig stadium og konstatere smitte av *A. astaci* en god stund (flere dager) før døden inntreffer. Det vil etter all sannsynlighet kun gå dager eller noen få uker før alle kreps i et slikt bur er smittet, og dette innebærer eskalert produksjon av infeksjøs zoosporer. Når smitte er påvist i et bur bør derfor buret umiddelbart fjernes fra vassdraget, og resterende kreps i buret bør isoleres og sendes til Veterinærinstituttet for undersøkelse. Buret må desinfiseres grundig før videre bruk.

5.13. Påvisning av smittestoff i vannprøver

Spørsmål 13: Er det mulig å påvise smittestoffet i vannprøver, og hvis det for tida ikke fins metode for dette, hvilke muligheter har man for å utvikle slik metode, og innen hvilken tidshorisont?

Viser til punkt 6.8 hvor det bl.a. redegjøres for en ny target taxon-spesifikk real-time PCR metode for påvisning av *A. astaci* utviklet av og under utprøving ved Veterinærinstituttet. Metoden er rask, spesifikk og sensitiv for meget små mengder agens. Metoden er foreløpig kun utprøvd på infisert krepsevev, men det er ingen tekniske hindringer for å kunne bruke samme metode for påvisning av *A. astaci* i vannprøver. Metoden vil kunne gi svar på om *A. astaci* er tilstede i spormengder, små mengder, moderate mengder eller store mengder. Utfordringene ligger i hvordan man tar ut representative prøver av vann. Ved lave nivåer av zoosporer i vannet er sannsynligheten for å påvise agens i en tilfeldig vannprøve minimal. For analyse av vannprøver vil det derfor være nødvendig å finne løsninger hvor en større mengde vann filtreres (gjerne i vassdraget) i en viss tid, slik at smittestoff har en bedre mulighet for å fanges opp og anrikes til detekterbare mengder. DNA kan deretter ekstraheres direkte fra filteret eller fra en suspensjon av filtratet. Per i dag er det begrensede ressurser til rådighet ved Veterinærinstituttet til dette, men det foreligger planer om å søke prosjektmidler fra NFR/EU for videre forskning og utvikling innen feltet. I forhold til det konkrete behovet i Glomma og Haldenvassdraget kunne det imidlertid være fornuftig om Mattilsynet og Veterinærinstituttet diskuterte muligheten for et mindre FoU prosjekt og/eller overvåkningsprosjekt med tanke på utvikling/uttesting av metodikk for alternativ smitteovervåking. Det vil da være relevant å systematisk undersøke vannprøver, miljøprøver og prøver fra potensielle mellomverter (f.eks. fisk) fra områder hvor krepsepest ble påvist i 2005.

6. Oppsummering

- Smittestoff av krepsepest inkluderer levende zoosporer, cyster og hyfer av *Aphanomyces astaci*. Zoosporer representerer det infeksjøs stadium. Den parasitterer kun ferskvannskreps innen Decapoda. Det er usikkert om *A. astaci* har andre mellomverter eller kan forårsake sykdom hos andre organismer.

- Smitteoverføring og spredning kan skje via primære smittekilder (krepsskall, vann, bunnmateriale og potensielt ukjente mellomverter) og sekundære smittekilder (biologiske eller mekaniske vektorer for primære smittekilder). Menneskelig aktivitet er ofte årsak til smittespredning, men biologiske vektorer som fisk, fugl og vannaktive pattedyr, spesielt mink, er også relevante smittespredere.
- Spredningsmåter lar seg ikke rangere etter faktisk betydning på grunn av manglende belegg, men det er utarbeidet en risikomatrix (tabell 2, side 14) som graderer risiko for smittespredning /smitteoverføring fra ulike typer lokaliteter med ulike primære og sekundære smittekilder.
- Risiko for smittespredning via båter avhenger av flere forhold bl.a. renhetsgrad og type kjølesystem. Rengjorte glatte flater hvor sporer og cyster ikke lett vil kunne feste seg utgjør lavere risiko for spredning enn urene, slitte flater. Båter med åpent kjølesystem utgjør en større risiko for oppstrøms smittespredning enn båter med lukkede kjølesystemer hvor vanninntak og utslipp kontrolleres bedre. Tiltak som rengjøring og varmebehandling eller desinfeksjon av båtoverflater ved grense mellom smittet og usmittet sone, samt skikkelig håndtering av kjølevann/ballastvann vil kunne redusere smittespredning via båter betydelig.
- Det finnes mange metoder for å eliminere smitte fra båter og utstyr, inkludert varmebehandling/uttørking, damp under trykk eller kjemisk desinfeksjon med etanol, klor, jod eller salt. Av miljøhensyn bør ulike former for varmebehandling/uttørking velges hvis mulig, evt. systemer der overskudd av desinfeksjonsmidler kan samles opp.
- Så lenge dette er uavklart hvor lenge smitte forblir aktiv i vassdraget er det også usikkert hvor lang perioden for nødvendig brakklegging bør være. Det samme gjelder for friskmelding av vassdrag. I påvente av videre undersøkelser bør det fastholdes restriksjoner i forhold til fiske og ferdsel inntil videre (opptil flere år), men restriksjoner kan imidlertid graderes ut i fra ulike hensyn og vurdering av risiko. Det bør gå flere år før en eventuell gjenintroduksjon av kreps vurderes.
- Det er vanskelig å gi en entydig anbefaling i forhold til gjenåpning Ørje sluser. Som et "føre var prinsipp" bør det antas at tidligere pestrammede lokaliteter kan være et reservoar for smitte i en betydelig lengre periode enn tidligere antatt. Det blir da viktig å finne akseptable løsninger som både tar hensyn til vern av kreps og lokalbefolkningens interesser. Gradering av restriksjoner bør vurderes ut i fra risiko. Hvis slusene gjenåpnes i 2006 øker risiko for oppstrøms smitte. Imidlertid vil hyppig kontrollert overvåking ved hjelp av burkrepsskall kunne si noe om smittepotensiale. Så lenge burforsøk overlever vil smittepotensialet (og risiko for spredning) være lavt, og forekomsten av infeksjøs zoospore i de frie vannmasser nedstrøms Ørje sluser vil være ubetydelig. Hvis håndtering av kjølevann og desinfeksjon av båtoverflater ivaretas vil slusing av båter representere minimal risiko for spredning av smitte sammenlignet med andre mulige smitteveier. Vandring av fisk gjennom slusene kan derimot representere større risiko for smittespredning, og tiltak som hindrer fiskevandring må derfor vurderes.
- Burforsøk er et viktig tiltak for overvåking av smittesituasjonen og bør alltid benyttes for å holde kontroll med smittesituasjonen oppstrøms en smittesone. Samtidig kan burforsøk bidra til å aktivere og opprettholde smitte på et lavbluss over små eller store arealer avhengig av hvor mange bur og lokaliteter som er involvert. I forhold til praksis i 2005 bør det vurderes en reduksjon i antall bur, og utplasserte bur må overvåkes hyppig. Ved påvisning av smitte i et bur bør buret umiddelbart fjernes fra vassdraget, resterende kreps sendes til Veterinærinstituttet for undersøkelse, og buret må grundig desinfiseres før videre bruk. Det må ikke settes inn nye kreps i bur som har vært utsatt for krepsepest før det har gått minimum 3 måneder ved en vanntemperatur som overstiger 10 °C.
- Veterinærinstituttet har i løpet av 2005 testet ut to lovende metoder for molekylær påvisning av *A. astaci* direkte fra infisert kreps, den ene er basert på konvensjonell PCR og sekvensering, den andre basert på kvantitativ real-time PCR. Begge metoder er svært sikre for spesifikk påvisning av *A. astaci*, men real-time metoden er hurtigere, sikrere i forhold til krysskontaminering, mer sensitiv, og vil kunne videreutvikles med tanke på smittesporing i vann og miljø.
- Veterinærinstituttet ønsker å se på muligheten for alternativ smitteovervåking ved hjelp av molekylære analyser av vann- og miljøprøver. Det foreligger planer om å søke prosjektmidler fra NFR/EU for videre forskning og utvikling innen dette feltet. I tillegg foreslår vi at Veterinærinstituttet og Mattilsynet diskuterer et mulig FoU samarbeid som bl.a. kan inkludere forsøk på molekylær smittesporing i vann, miljø- og vektorprøver fra Glomma og Haldenvassdraget på lokaliteter hvor krepsepest ble påvist i 2005.

7. Referanser

- Alderman, D.J. (2002) Aphanomycosis of crayfish: Crayfish plague. A report prepared for The Environment Agency and English Nature. Technical report W2-064, pp.1-121.
- Alderman, D.J. & Polglase, J.L. (1985a). A comparative investigation of the effects of fungicides on *Saprolegnia parasitica* and *Aphanomyces astaci*. *Transactions of the British Mycological Society* 83:313-318.
- Alderman, D.J. & Polglase, J.L. (1985b). Disinfection for crayfish plague. *Aquaculture and Fisheries Management* 16:203-205.
- Alderman, D.J., Polglase, J.L. & Frayling, M. (1987). *Aphanomyces astaci* pathogenicity under laboratory and field conditions. *Journal of Fish Diseases* 10(5):385-393.
- Bangyeekhun, E. (2002) Parasite on Crayfish: Characterisation of Their Pathogenesis, Host Interactions and Diversity. Uppsala University. Doctoral thesis.
- Edsman, L. (2004). The Swedish story about import of live crayfish. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 372-373:281-288.
- Häll, L. & Unestam, T. (1980). The effect of fungicides on survival of the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci* (Oomycetes) growing on fish scales. *Mycopathologia* 72:131-134.
- Håstein, T. & Gladhaug, O. (1973). The occurrence of the crayfish plague in Norway and attempts to prevent further spread of the disease. In *Freshwater Crayfish*, pp. 181-184. (Ed S. Abrahamsen). Lund.
- Håstein, T. & Unestam, T. (1972). Krepsepest nå i Norge. *Fauna* 25:19-22.
- Oidtmann, B., Heitz, E., Rogers, D. & Hoffmann, R.W. (2002). Transmission of crayfish plague. *Diseases of Aquatic Organisms* 52(2):159-167.
- Oidtmann, B., Schaefer, N., Cerenius, L., Söderhall, K. & Hoffmann, R.W. (2004). Detection of genomic DNA of the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci* (Oomycete) in clinical samples by PCR. *Veterinary Microbiology* 100(3-4):269-282.
- Rantamaki, J., Cerenius, L. & Söderhall, K. (1992). Prevention of transmission of the crayfish plague fungus (*Aphanomyces astaci*) to the freshwater crayfish *Astacus astacus* by treatment with MgCl₂. *Aquaculture* 104(1-2):11-18.
- Söderhall, K. & Cerenius, L. (1999). The crayfish plague fungus: History and recent advances. *Freshwater Crayfish* 12:11-35.
- Taugbøl, T. (2002) Forvaltningsplan for kreps i Hedmark. Rapport nr. 2/2001, pp.1-36.
<http://www.fylkesmannen.no/Arkiv/Hedmark/Rapporter/Miljo/2001/mvahe-rapport-2001-2.doc>:
- Taugbøl, T. (2004). Reintroduction of noble crayfish *Astacus astacus* after crayfish plague in Norway. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 372-373:315-328.
- Taugbøl, T., Skurdal, J. & Håstein, T. (1993). Crayfish Plague and Management Strategies in Norway. *Biological Conservation* 63(1):75-82.
- Unestam, T. (1972). On the host range and origin of the crayfish plague fungus. *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm* 52:192-198.
- Vedlegg:** Brev av 14. mars 2005 til Mattilsynet v/Ivar Hellesnes fra Veterinærinstituttet v/Atle Lillehaug og Tore Håstein: 210-37.7-05 TH - Desinfeksjon av båter.