

Faglig vurdering av behov for
kontrolltiltak overfor *Flavobacterium*
psychrophilum i norsk
laksefiskproduksjon

Edgar Brun

Hanne Nilsen

Anne-Berit Olsen





Veterinærinstituttets rapportserie · 13 - 2009

Tittel

Faglig vurdering av behov for kontrolltiltak overfor *Flavobacterium psychrophilum* i norsk lakseproduksjon.

Publisert av

Veterinærinstituttet · Pb. 750 Sentrum · 0106 Oslo

Form: Graf AS

Hanne Mari Jordsmyr, Veterinærinstituttet

Forsidefoto: Veterinærinstituttet

Bestilling

kommunikasjon@vetinst.no

Faks: 23 21 60 01

Tel: 23 21 63 66

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

Forslag til sitering:

Brun E, Nilsen H, Olsen A. Veterinærinstituttets rapportserie 13-2009. Oslo: Veterinærinstituttet; 2009.

© Veterinærinstituttet

Kopiering tillatt når kilde gjengis



Veterinærinstituttets rapportserie
National Veterinary Institute's Report Series
Rapport 13 · 2009

Faglig vurdering av behov for
kontrolltiltak overfor *Flavobacterium*
psychrophilum i norsk
laksefiskproduksjon

Forfattere

Edgar Brun

Hanne Nilsen

Anne-Berit Olsen

21. august 2009

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave



Veterinærinstituttet
National Veterinary Institute

Innhold

1. Systemisk infeksjon med <i>Flavobacterium psychrophilum</i>	6
1.1. Diagnostikk	6
1.2. Klinikk og obduksjonsfunn	6
1.3. Histopatologiske funn hos regnbueørretyngel	6
1.4. Bakterien	7
1.5. Differensialdiagnoser	7
2. Infeksjon med <i>Flavobacterium psychrophilum</i> - internasjonale forhold	8
2.1 Sverige	8
2.2 Danmark	8
2.3 Finland	9
2.4 Storbritannia	9
2.5 USA	9
2.6 Canada	9
2.7 Australia	9
2.8 Japan	10
2.9 Frankrike, Spania, Tyrkia, Italia	10
3. Feltefaringer fra Norge	12
3.1 Kliniske erfaringer	12
3.2 Behandling	13
3.3 Smitte	14
3.4 Utløsende faktorer for sykdom	14
3.5 Registreringer gjort på Veterinærinstituttet	15
4. Vurdering	15
4.1 Oppsummering og diskusjon	15
4.2 Konklusjon	17
5. Takk	18
6. Litteratur	18

1. Systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum*

Systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* kan forekomme hos all laksefisk, men regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) og sølv laks (*Oncorhynchus kisutch*) er regnet for å være spesielt mottakelige. Bakterien kan også forårsake sykdom hos ikke-salmonider (Tabell 1). Systemisk *F. psychrophilum*-infeksjon ansees som mest patogen for regnbueørretyngel på noen få gram, men det er også registrert klinisk sykdom hos regnbueørret helt opptil "porsjonsstørrelse" (noen 100 g).

Systemisk bakteriemi med *F. psychrophilum* benevnes også bacterial cold water disease (BCWD). Den alvorligste formen av infeksjonen forekommer hos yngel og parr og kalles da fry mortality syndrome (FMS) eller rainbow trout fry syndrome (RTFS).

Sykdommen har de siste årene utviklet seg til å bli en av de mest alvorlige sykdomsproblemene i europeisk regnbueørretoppdrett. Det er så langt ikke utviklet noen vaksiner mot infeksjonen, som i dag behandles med antibiotika.

1.1. Diagnostikk

Diagnostikk av systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* er basert på kliniske observasjoner, obduksjon, dyrking av bakterien fra indre organer og histopatologi. Histopatologiske undersøkelser sammenholdt med positiv immunhistokjemi, vil gi sterk mistanke om infeksjonen. Typisk histopatologi og immunhistokjemi kan kombineres med en spesifikk PCR på vev som bekreftende test. Det er nødvendig å dyrke bakterien for karakterisering og evaluering av medikamentell resistens.

1.2. Klinikk og obduksjonsfunn

Tegn på sykdom varierer med alder og art. Hos regnbueørretyngel kan man se unormal atferd med spiralsvømming eller at fisken svømmer i overflaten uten matlyst. Fisken har gjerne stor buk og kan være mørkpigmentert på hele kroppen eller på bakre kroppshalvdel. Milten kan noen ganger sees gjennom bukveggen som en rød flekk. Utstående øyne er ikke uvanlig. Ved obduksjon ser man ofte en stor, utflytende milt, bleike organ (som tegn på anemi) og væskefylt mage og tarm. Yngel som har overlevd sykdommen, kan bli blind og utvikle sår på ryggen foran eller ved ryggfinnen. Fisken kan også få ryggstøledeformasjoner. Hos eldre fisk er det mer vanlig med hudlesjoner som blodige "byller", åpne sår og finneråte.

1.3. Histopatologiske funn hos regnbueørretyngel

Hovedfunn er blodstuvning i milten, blødninger og funn som ødem og nekrose (vevsdød). Normal arkitektur kan være helt ødelagt. Et typisk funn er at miltkapselen mister integritet og erstattes av en fibrinøs betennelse med til dels store betennescelleinfiltrasjoner, dominert av polymorfkjernete granulocytter. I nyre er det påvist dilaterte sinusoider, fokal nekrose i bloddannende vev og nekrose i tubuliepitel. I lever kan det være enkeltcellenekrose og perivaskulær hypercellularitet. Blødning, nekrose og betennescelleinfiltrasjoner er påvist i gjeller, i underhud og i muskel. Betennelse kan også observeres i øye; i retina og choroidea. Fisken kan ha hjertesekk- og

hjertermuskelbetennelse med varierende forekomst av polymorfkjernete leukocytter. Infisert fisk har ofte økt forekomst av sirkulerte leukocytter. Karveggsskade er påvist. Bakterier med typisk morfologi forekommer fritt i lesjoner, i endotel, i endokard og i sirkulerende fagocytterende celler.

1.4. Bakterien

Flavobacterium psychrophilum tilhører flavobakteriene, som er jord - og vann bakterier og kan betraktes som opportunistiske patogener. Dette betyr at de kan finnes i miljøet og at de under gitte forutsetninger kan gi sykdom. Undersøkelser har vist at bakterien kan være en del av den aerobe floraen som koloniserer hud og gjeller.

F. psychrophilum er en strikt aerob, gul, Gram-negativ, lang, trådformet bakterie som vokser på næringsfattige spesialmedier, f.eks. Anacker og Ordals medium eller TYES (trytone, yeast extract salts), etter 3-6 dager ved 15-20°C. Fra internasjonal litteratur er det hittil ikke påvist isolater som vokser ved temperaturer over 25°C. Maksimum saltinnhold for vekst i flere utenlandske undersøkelser har vært 1 %. Identifikasjon av bakterien baserer seg både på fenotypiske og genotypiske karakteristika.

F. psychrophilum finnes i flere varianter basert på forskjellige metoder for typing. Enkelte typer (serotype Th og Fd og ribotype A) er isolert i forbindelse med sykdom, mens andre (serotype FpT og ribotype B) er funnet på fiskehud og i miljø uten at det er påvist sykdom (Madsen og Dalsgaard 2000). Visse genotyper av bakterien er tettere knyttet til enkelte fiskearter enn andre (Arai et al.; Duchaud et al.; Hesami et al.; Lorenzen, Dalsgaard, and Bernardet; Lorenzen and Olesen; Madetoja, Dalsgaard, and Wiklund). Det er også funnet en sammenheng mellom evnen til å nedbryte elastin og virulens hos bakterien (Madsen og Dalsgaard). Imidlertid er det fortsatt ikke påvist en sikker sammenheng mellom ulike bakterievarianter og patogenitet.

F. psychrophilum synes å ha en stor evne til å danne biofilm. En biofilm dannes ved at enkelte bakterer fester seg til en overflate (gjerner et fast underlag i vann) og utvikler over tid en koloni (matrix) som tiltrekker seg samme type bakterier og/eller andre mikroorganismer. Dersom ikke en slik begynnende biofilm fjernes raskt, vil det etableres en struktur med stor klebrighet til underlaget. Når bakterier organiserer seg i en biofilm kan de utvikle nye egenskaper som for eksempel økt motstandskraft mot desinfeksjonsmidler og andre antibakterielle midler.

1.5. Differensialdiagnoser

Det kliniske bildet og ytre sykdomstegn kan ligne infeksjøs pankreasnekrose (IPN). I noen tilfeller og særlig på parr, kan fisken ha obduksjonsfunn som minner om infeksjon med *Yersinia ruckeri* eller viral hemoragisk septikemi-virus (VHSV), med blødninger i indre organer og i munnregionen. Sykdommen kan også forekomme samtidig med IPN og andre virusinfeksjoner, f.eks. infeksjøs hematopoetisk nekrose (IHN) og viral hemoragisk septikemi (VHS).

2. Infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* - internasjonale forhold

Det er uklart om *Flavobacterium psychrophilum* hadde global utbredelse før utviklingen av internasjonal handel med fisk og fiskeegg oppsto, og det hersker usikkerhet om omfanget av arter som kan være bærer eller vert for bakterien. Fram til midten av 1980-tallet ble bacterial cold water disease (BCWD) kun registrert hos regnbueørret (*Onchorhynchus mykiss*) og sølv laks (*Onchorhynchus kisutch*) i Nord-Amerika. I slutten av 80-årene ble sykdommen også påvist hos regnbueørret i Tyskland (Weis 1987) og Frankrike (Bernadet 1988). På omtrent samme tid ble den påvist i Japan (Horiuchi 1991). Siden den gang har sykdommen blitt rapportert fra alle områder i verden som har oppdrett av laksefisk, inkludert Israel, Chile og Tasmania (Bernadet 2006).

Sykdommen synes ikke å være registrert som meldepliktig i noe land (pers meddl B Hill)

2.1. Sverige

Sverige har en produksjon av regnbueørret hvor merder i innlandsvann og elver er den mest vanlige driftsformen. Rainbow trout fry syndrome (RTFS) har en tendens til å opptre hos de samme oppdretterne år etter år. Infeksjonen begynner ofte ca. 2-3 måneder etter klekking. Oppdrettere som har lang erfaring, oppdager gjerne sykdommen tidlig og setter i gang behandling. Det er også sett en mer kronisk infeksjon hos større fisk samme år eller året etter, hvis fisken blir utsatt for stress. (pers meddl. Anders Alfjorden).

Flavobacterium psychrophilum er isolert i lavt antall fra baltisk laks (*Salmo salar*) i kultiveringsanlegg, både fra kjønnsprodukter og fra hjernen hos fisk med deformiteter, abnormal svømmeadferd og sår. Bakterien har også vært isolert fra hudsår, finneråte og fra nyre ved forøket dødelighet sein vinter og tidlig vår hos denne arten i settefiskfasen (Ekman 1999).

2.2 Danmark

RTFS er regnet som en av de viktigste årsakene til tap hos regnbueørretyngel og -parr i Danmark. Det er anslått at vel 30 % av regnbueørretyngelen angripes av sykdommen (Jensen 2003). Høy dødelighet (30-90 %) sees spesielt hos yngel (0,2-2g) (Lorenzen 1994).

Utbruddene behandles medikamentelt. Utvikling av resistens hos *Flavobacterium psychrophilum* har vært svakt økende med påfølgende avtagende klinisk effekt av oksolinsyre og amoxicillin de senere år. Antall isolat som har vist nedsatt følsomhet for tetracykliner, har vært stabilt (Bruun 2000).

Produksjonen av oppdrettsfisk i Danmark foregår for det meste i dambruk, enten i betong eller som tradisjonelle jorddammer hvor man leder vann fra en nærtliggende elv inn i dammen. *F. psychrophilum* er påvist i lav forekomst hos nybefruktede egg etter desinfeksjon med iodoforer (Actomar K30 1 % oppløsning (100 ppm) i 15 minutter). Til tross for dette har man ved å kombinere desinfeksjon av egg og bruk av nye vannkilder fått gode resultater når det gjelder forebygging av nye utbrudd (Madsen 2008).

2.3 Finland

Finland har fiskeoppdrett i både ferskvann og saltvann og den viktigst oppdrettsarten er regnbueørret. Oppdrettsanleggene er som i Sverige, lokalisert med merder i vann og i elver. I tillegg er det matfisklokaliteter i sjø. RTFS er ansett som et stort problem i yngelfasen ved lave temperaturer. Dødeligheten kan komme opp i 80-90%. Sykdommen behandles med antibiotika. Problemer med gjentatte utbrudd resulterer i mange behandlinger på lokaliteten. Erfaringsmessig er det florfenikol som vanligvis brukes til behandling (pers. meddl. Eva Högfors). I en rapport utarbeidet for jord - og skogbruksministeriet i Finland er det oppgitt at antall lokaliteter som fikk påvist sykdommen økte fra 2 i 1992 til 18 i 1995. Sist oppgitte tall er 10 lokaliteter i 2002 (Wiklund 2003).

2.4 Storbritannia

Dødelighet relatert til RTFS hos regnbueørret er ansett som et av de største problemene i yngel- og parrfasen av produksjonen. I 2006 ble RTFS regnet som en av de 8 mest økonomisk tapsbringende sykdommene i Storbritannia sammen med bl.a VHS. Dette året var det anslått at RTFS kostet regnbueørretproduksjonen 0,4-0,8 million pund. Sykdommen er uforutsigbar og kontrolleres med antibiotikabehandling (florfenikol). Det er utbrudd både hos yngel og hos større fisk. I en rapport fra 1997 ble det på enkelte lokaliteter påvist nedsatt følsomhet ved gjentatte behandlinger med visse antibakterielle medikamenter (unntatt florfenikol) (Rangdale 1997).

2.5 USA

BCWD er vanlig i alle områder hvor det finnes oppdrett av salmonider. Det er angitt som et alvorlig problem i settefiskanlegg. BCWD har størst betydning i de vestlige områdene i USA. Det er påvist at *Flavobacterium psychrophilum*-isolater fra regnbueørret er innad nært beslektet og forskjellig fra isolater fra sølv laks (Chen 2008). Det er imidlertid usikkert om dette reflekterer artsspesifisitet eller forskjellig habitat. Oksytetracykliner er det eneste antibiotikum godkjent for bruk i USA.

2.6 Canada

Sykdommene RTFS og BCWD er oppgitt å ha stor økonomisk betydning i Canada. Undersøkelser viser at *Flavobacterium psychrophilum* fra Ontario kan grupperes i to forskjellige typer basert på biokjemiske karakteristika og 16S rRNA polymorfismer. Populasjonene av *F. psychrophilum* som har et patologisk potensiale, er heterogene (Hesami 2008).

2.7 Australia

Bakterien har vært isolert fra Atlantisk laks (*Salmo salar*) med moderate til alvorlige erosjoner på finnene. Dødeligheten var lavere enn 0,1 % i uken, og 80 % av fisken var affisert av sykdommen.

2.8 Japan

BCWD ble første gang påvist i 1987 hos ayu (*Plecoglossus altivelis*). Sykdommen har siden blitt observert hos søvlaks og regnbueørret. *Flavobacterium psychrophilum* ble isolert fra sykdomsutbrudd med sår hos vill ayu (*Plecoglossus altivelis*) og oikawa (*Zacco platypus*) i 1993 i elven Gonokawa (Iida 1996). På grunn av alvorlige tap i elver i tillegg til i oppdrettsanlegg blir BCWD regnet som en av de mest økonomisk tapsbringende sykdommene.

Nedsatt følsomhet for kvinoloner er rapportert hos stammer av *F. psychrophilum* fra Japan (Izumi, 2004).

2.9 Frankrike, Spania, Tyrkia, Italia

RTFS er rapportert fra laboratorier som driver med fiskesykdomsdiagnostikk i Spania, Frankrike og Tyrkia. Grunnlaget for diagnosene er litt varierende. Noen diagnoser er kun basert på klinisk sykdom og histopatologi. Alle sykdomstilfellene er assosiert med dødelighet. Sykdommen er hyppigst rapportert fra Spania og Tyrkia. Den er ikke rapportert fra Italia, til tross for at de har en høy produksjon av regnbueørret (Toranzo 2004).

Tabell 1. Oversikt over arter mottakelig for infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* (Cipriano 2005)).

Salmonid Hosts:
Coho salmon, <i>Oncorhynchus kisutch</i> (USA - Borg 1960; Japan - Wakabayashi et al. 1991)
Chinook salmon, <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (USA - Rucker et al. 1953; Canada - Ostland et al. 1999)
Sockeye salmon <i>Oncorhynchus nerka</i> (USA - Rucker et al. 1953)
Chum salmon <i>Oncorhynchus keta</i> (USA - Holt 1987)
Amago, <i>Oncorhynchus rhodurus</i> (Japan - Furutsuka - Uozumi et al. 1996)
Masou salmon, <i>Oncorhynchus masou</i> (Japan - Iida and Mizokami 1996)
Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> (USA - Schneider and Nicholson 1980; Australia - Schmidtke and Carson 1995; Sweden - Ekman et al. 1999; Canada - Ostland et al. 1999)
Brown trout, <i>Salmo trutta</i> (Japan - Wakabayashi et al. 1991; Finland - Madetoja et al. 2001; Norway - Lorenzen and Olesen 1997)
Sea trout, <i>Salmo trutta</i> (Finland and Sweden - Madetoja et al. 2001)
Rainbow trout, <i>Oncorhynchus mykiss</i> (USA - Davis 1946; France - Bernardet et al. 1988; Bernardet and Kerouault 1989; Germany - Weis 1987; Italy - Sarti et al. 1992; Canada - Ostland et al. 1999; Finland - Madetoja et al. 2001; United Kingdom - Santos et al. 1992, Bruno 1992, Austin 1992; Spain - Toranzo and Barja 1993; Finland - Wiklund et al. 1994; Chile - Bustos et al. 1995; Denmark - Lorenzen et al. 1991; Switzerland and Northern Ireland - Lorenzen and Olesen 1997)
Steelhead, <i>Oncorhynchus mykiss</i> (USA - Brown et al. 1997; Canada - Ostland et al. 1999)
Cutthroat trout, <i>Oncorhynchus clarki</i> (USA - Holt 1987; Finland - Crump et al. 2001)
Brook trout, <i>Salvelinus fontinalis</i> (USA - Bullock 1972; Finland - Madetoja et al. 2001)
Lake trout, <i>Salvelinus namaycush</i> (USA - Schachte 1983)
Arctic char, <i>Salvelinus alpinus</i> (Finland - Madetoja et al. 2001)
Grayling, <i>Thymalus thymallus</i> (Estonia - Madetoja et al. 2001)
Non-Salmonid Hosts:
Ayu, <i>Plecoglossus altivelis</i> (Korea - Lee and Heo 1998; Japan - Wakabayashi et al. 1994)
Carp, <i>Cyprinus carpio</i> (Germany - Lehmann et al. 1991)
Crucian carp, <i>Carassius carassius</i> (Germany - Lehmann et al. 1991)
Eel, <i>Anguilla anguilla</i> (Germany - Lehmann et al. 1991)
Forktounge goby, <i>Chaenogobius urotaenia</i> (Japan - Amita et al. 2000)
Japanese dace, <i>Trybolodon hakonensis</i> (Japan - Amita et al. 2000)
Lake goby, <i>Rhinogobius brunneus</i> (Japan - Amita et al. 2000)
Pale chub, <i>Zacco platypus</i> (Japan - Iida and Mizokami 1996)
Perch, <i>Perca fluviatilis</i> (Finland - Madetoja et al. 2002)
Roach, <i>Rutilus rutilus</i> (Finland - Madetoja et al. 2002)
Tench, <i>Tinca tinca</i> (Germany - Lehmann et al. 1991)

3. Feltefaringer fra Norge

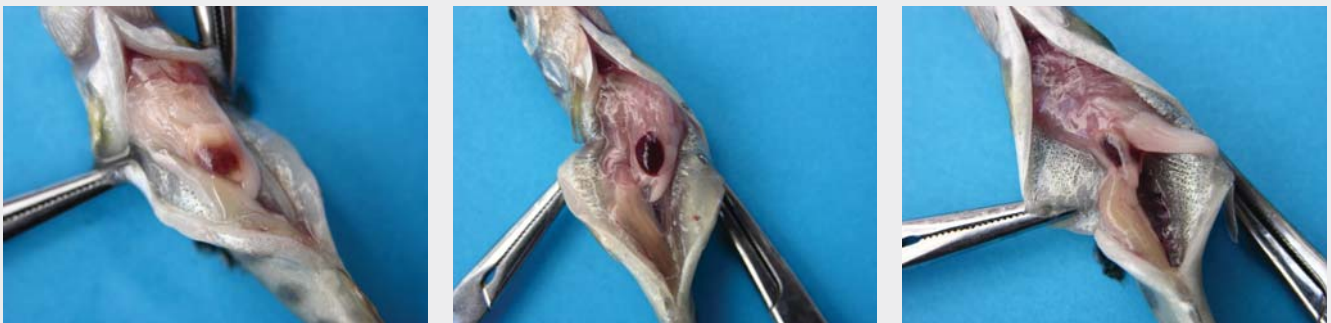
3.1 Kliniske erfaringer

Problemer med systemisk infeksjon på grunn av *Flavobacterium psychrophilum* hos regnbueørret i Norge ble første gang sett i 2008. Sykdomsutbruddene ble registrert fra mars, med en økende forekomst fram mot mai og juni. De alvorligste tilfellene var hos liten yngel på mindre enn 5 g, mens større yngel/settefisk hadde noe mildere utbrudd. Dødelighet hos den minste yngelen kunne bli svært høy; opptil 90 % i enkeltkar. I flere tilfeller der infeksjonen først ble oppdaget i settefiskanlegget, brøt det ut systemisk sykdom etter sjøsetting.

Erfaringene fra enkelte utbrudd var at de første kliniske tegnene, som unormal svømmeadferd, lett kunne bli tolket som IPN, spesielt hos liten yngel. Ved obduksjon ga imidlertid organforandringer som forstørret og delvis utflytende milt, indikasjon på at det ikke var IPN. Milten kunne også være mer "innkapslet". Det forekom ascites og varierende grad av nyreendringer (Figur 1). Større fisk utviklet oftere sår, mest på bakre del av kroppen ved sporebasis og spore.

Det ble i noen grad observert fisk med dreininger rundt egen lengdeakse. En del syk fisk kunne til å begynne med virke mørk, for så seinere å bli lysere, trolig pga anemi og/eller ødemtenden. Etter hvert ble den liggende i overflata med apatiske bevegelser.

Helikopterhaler er registrert i populasjoner som har gjennomgått kliniske utbrudd av RTFS i Norge.



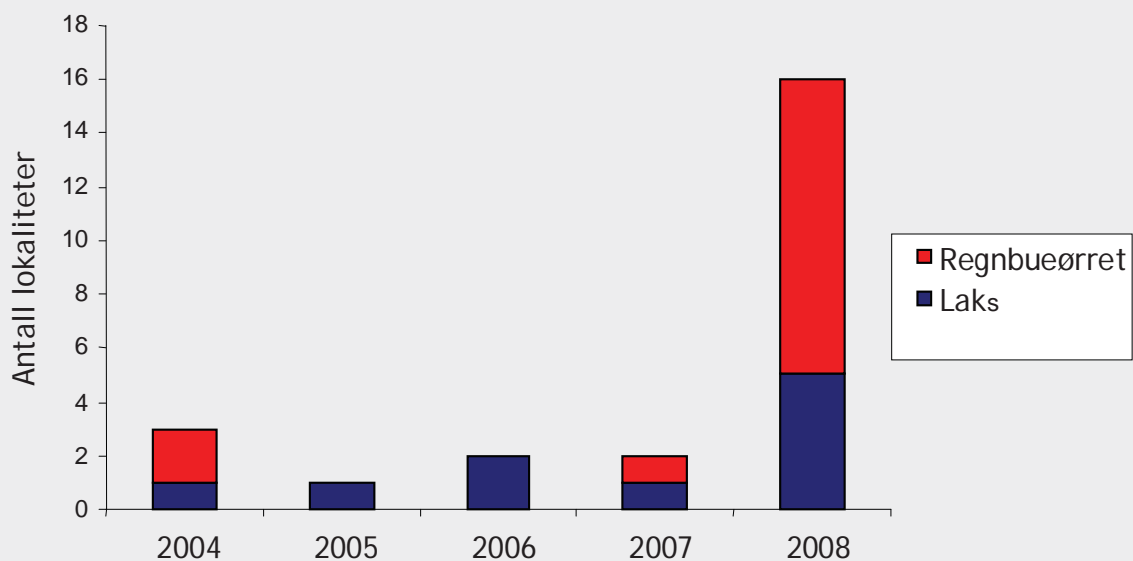
Figur 1. Obduksjonsfunn ved systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* (Foto: I. Kaada, Vestvet)

3.2 Behandling

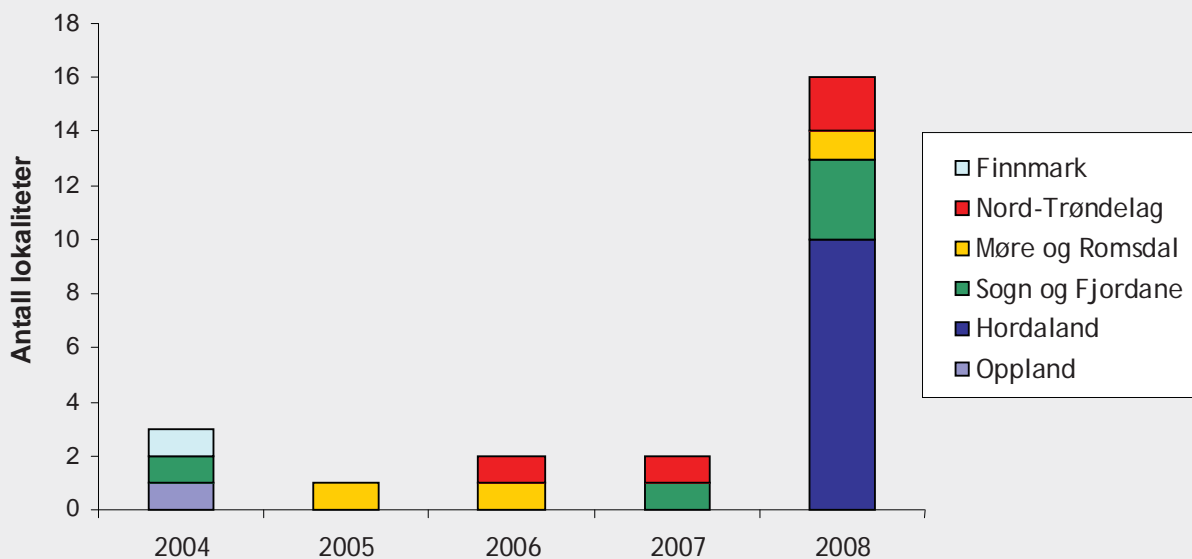
De undersøkte isolatene fra utbruddene hos regnbueørret i 2008 har hatt nedsatt følsomhet/ resistens mot oksolinsyre. Det aktuelle antibakterielle medikamentet har derfor vært florfenikol. Tradisjonelt anbefalt dosering av dette medikamentet er 1 % i 10 dager. Best effekt har imidlertid blitt oppnådd ved å øke dosen til 2-3 %. Det er viktig med en rask diagnose og rask igangsatt behandling for å begrense dødeligheten. Forsinkelser kan oppstå ved at utbrudd i tidlig fase blir oppfattet som IPN. Et godt utbygd diagnostisk apparat og bedre kjennskap til sykdommen hos fiskehelsetjenestene er derfor av sentral betydning for å avgrense tapene.

Erfaringsmessig ser det ut som det lett oppstår tilbakefall. Gjentatte behandlinger har ikke vært uvanlig, og hele 6 utbrudd ble registrert på 3 forskjellige grupper. Residivene ble spesielt sett ved bruk av gamle kar som det er vanskelig å få helt rene med rutinemessig vask og desinfeksjon og kan skyldes at bakterien overlevde ved å danne biofilm. For å redusere faren for residiv har en flytte fisken under eller like etter behandling til nye reinvaskete kar/avdeling. Det er grunn til å tro at det etter behandling også kan oppstå symptomfrie smittebærere.

Figur 2. Antall lokaliteter (anlegg) som har fått påvist bakterien *Flavobacterium psychrophilum* fordelt på art, registrert ved Veterinærinstituttet i perioden 2004-2005. Det er bare tilfellene hos regnbueørret som er systemiske infeksjoner. : Obduksjonsfunn ved systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* (Foto: I. Kaada, Vestvet)



Figur 3. Fylkesvis fordeling av antall lokaliteter (anlegg) som har fått påvist bakterien *Flavobacterium psychrophilum* på fisk, undersøkt ved Veterinærinstituttet i perioden 2004-2008. Materiale omfatter både overflatiske sårinfeksjoner og tilfeller av systemisk sykdom.



3.3 Smitte

Erfaringene fra Norge i løpet av 2008 tyder på at infeksjonen er svært smittsom. Utstyr som håver, koster, fiskepumper, etc. må ansees som smitteførende, og kan lett føre smitte fra kar til kar. Smitte spres også via vann og kan trolig fraktes rundt i en avdeling før kliniske sykdomstegn registreres, slik at hele avdelinger nedsmittes. Det er imidlertid grunn til å tro at effektive smittebarrierer er virkningsfulle.

Det synes å være stor enighet om at sykdomsproblemet kan knyttes til stamfisken. Stamfisk kan være latente bærere av *Flavobacterium psychrophilum*, og bakterien kan overføres til rogn (evt. melke). foreløpig er det usikkert om det dreier seg om en ekte vertikal overføring (bakterien forekommer inne i egget) eller uekte (bakteriene finnes utenpå egget). Erfaringer fra andre land viser at effektiviteten av buffodinbehandling er avhengig av konsentrasjon og varighet av behandling, samt at det er nødvendig å behandle flere ganger.

3.4 Utløsende faktorer for sykdom

Kunnskap om utløsende faktorer er så langt basert på empiriske vurderinger av enkeltobservasjoner i felt. Det ble funnet sammenheng mellom stress/handtering av fisken og utbrudd (f.eks. flytting). Suboptimale miljøforhold og stress antas å kunne utløse sykdom fordi infeksjonen kan bidra til å redusere immunapparatets evne til å respondere. I de tilfeller der en mistenker at yngelen har vært latent smittet ved ankomst til anlegget, ble utbrudd

registrert 1- 2 uker etter startføring. Grupper med stor andel av tapere eller "sein rogn" (stryking i slutten av mars) kan synes å ha vært utsatt for å få sykdommen. Kjølning av øyerogn for å utsette klekkingen, erfares som mulig disponerende for utbrudd.

Sykdommen ble også påvist hos sjøsatt fisk. På en lokalitet ble *Flavobacterium psychrophilum* funnet få dager etter sjøsetting hos fisk som hadde hatt sykdommen i settefiskfasen. Som følge av mulig horisontal smitte ble store byller med blodig væske i huden og systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* påvist hos sjøsatt, stor regnbueørret i et område med lav salinitet (Wangel 2009).

3.5 Registreringer gjort på Veterinærinstituttet

Fra journalsystem til Veterinærinstituttet ser man at antall registrerte anlegg med *F. psychrophilum*-infeksjon har hadde en dramatisk økning i 2008 (Figur 2). Inntil nylig har bakterien vært påvist sporadisk hos laks og ørret (*Salmo trutta*) i forbindelse med sår-/finneråteproblem i kultiveringsanlegg/settefiskanlegg eller som tilfeldig funn uten sykdomstegn. Slike registreringer er gjort fra Finnmark til Oppland (Figur 3).

Økningen i 2008 skyldtes den nye situasjonen med sykdomsutbrudd hos regnbueørret pga. systemisk infeksjon med bakterien. Slike funn er bare gjort svært få ganger tidligere; i 2004 (to tilfeller) og sommeren 2007 (ett tilfelle). I 2008 har de fleste infeksjonstilfellene vært i Hordaland og Sogn og Fjordane. Den systemiske formen ble imidlertid også registrert i Møre og Romsdal og Trøndelagsfylkene.

De fleste tilfellene med bakteriemi og dødelighet er sett hos yngel eller parr, men på en lokalitet i 2008 ble det registrert sykdom på sjøsatt regnbueørret på opptil 500 g. I tallmaterialet fra 2008 ser vi at de fleste anleggene fikk det første utbruddet på tidlig vår og sommer, mens det var få anlegg med sitt første utbrudd på høsten (Figur 2 og Figur 3).

4. Vurdering

4.1 Oppsummering og diskusjon

Listeføring av nye sykdommer krever at kriteriene nedenfor er oppfylte; - enten

a, b, c, d og e eller bare a, e, f.

- a) Sykdommen er ikke listeført i fiskehelsedirektivet
- b) Kan representere en betydelig risiko for dyrehelsesituasjonen i akvakulturanlegg.
- c) Det er vanskelig å bekjempe sykdommen og holde den under kontroll på lokalitetsnivå.
- d) Det kan oppnås og opprettholdes sykdomsfrie områder der dette har betydning for kontroll med sykdommen.
- e) Sykdommen er klart definert på grunnlag av smittsomt agens og/eller patologiske funn.
- f) Sykdommen kan være en trussel mot ville bestander av akvatiske dyr dersom den ikke bekjempes og/eller holdes på et kontrollert lavt nivå.

Ad a;

Systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* hos regnbueørret er en internasjonalt hyppig forekommende sykdom og et betydelig problem i mange land. Den inngår imidlertid ikke blant OIE's eller EU's listeførte sykdommer og er ikke kjent å være rapporteringspliktig i noe europeisk land. Sykdommen er i dag ikke listeført i fiskehelsesdirektivet i Norge og rapporteres passivt. Det er ingen offentlige krav knyttet til påvisning av sykdommen.

Ad b;

Flavobacterium psychrophilum er en utbredt miljøbakterie som sannsynligvis kommer inn i et settefiskanlegg gjennom vann eller infisert biologisk materiale. Det finnes ulike varianter av bakterien. Blant disse er det spesielle kloner/varianter som synes å ha utviklet spesielle virulente egenskaper som gir systemisk infeksjon.

Erfaringene tilsier at utbrudd med systemisk infeksjon medfører betydelige tap av yngel og fisk i tidlig settefiskfase. Størrelsen på tapene er relatert til hvor raskt riktig diagnose stilles med påfølgende rask igansetting av antibiotikabehandling. Det er ikke uvanlig med tilbakefall etter avsluttet antibakteriell behandling. Gjentatte utbrudd vil medføre økt antibiotikaforbruk og økt risiko for utvikling av resistente bakterier. Finland har fiskeoppdrett i både ferskvann og saltvann og den viktigst oppdrettsarten er regnbueørret. Oppdrettsanleggene er som i

Latente infeksjoner gir redusert smoltkvalitet (redusert overlevelse ved sjøsetting). Det er usikkert i hvilken grad bakterien kan overleve og spres horisontalt i sjø. Det er grunn til å tro at perioder med ferskvannsjikt i fjorder kan bidra til at bakterien overlever i sjøen og dermed vil kunne spres horisontalt i slike perioder.

Systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* ansees som en av de mest tapsbringende sykdommene i flere regnbueørretproduserende land. En mulig immunsupprimerende effekt av infeksjonen kan også bidra til svekket motstand mot andre infeksjoner og redusert effekt av de vanlige vaksinene.

Sykdommen kan forveksles med IPN og/eller opptre samtidig med IPN. Diagnostisering lokalt kun med for eksempel IPN-kit, vil kunne føre til at en infeksjon med *F. psychrophilum* kan bli oversett.

Ad c;

Latent infeksjon hos stamfisk synes også å være et viktig smittereservoar for varianter som har gitt systemisk infeksjon og inntak av infisert egg og yngel kan derfor være en viktig inngangsport til nye anlegg. Erfaringer fra andre land tilsier at buffodine-behandling ikke alltid er tilstrekkelig for å fjerne smitte fra egg. Inntak av infisert egg og yngel kan derfor være en viktig inngangsport til nye anlegg.

Det er uklart i hvilken grad utbrudd av systemisk infeksjon er et direkte resultat av dårlige miljøhygieniske forhold. Utbrudd relativt kort tid etter ankomst kan tyde på at der bakterien introduseres via innkjøpt fiskemateriale, kommer utbruddene også under gode miljøbetingelser.

F. psychrophilum har stort spredningspotensiale også innad i et anlegg. Velfungerende smittehygieniske rutiner er en forutsetning for å hindre gjennominfisering av anlegget dersom introduksjonen først har skjedd. Bakterien kan være svært vanskelig å bli kvitt på grunn av sin store evne til å overleve på utstyr, karvegger, vannrør og lignende.

En slik vertikal smittepredningskomponent gjør at det geografiske spredningspotensialet for eventuelle virulente varianter av bakterien er stort.

Infeksjonen er ressurskrevende idet den gir høy dødelighet, kan persistere i miljøet og krever en betydelig innsats i forbindelse med vask/desinfeksjon av kar og annet utstyr.

Bakterieinfeksjon kan behandles effektivt med riktig dosering av antibiotika, som i Norge og mange andre land er florfenikol. Residiv er imidlertid ikke uvanlig. Gjentatte behandlinger med antibakterielle medikamenter vil kunne føre til utvikling av resistens.

Ad d;

Sykdomsutbruddene i Norge er i stor grad knyttet til spesifikke områder/anlegg/leveranser av egg og yngel. Dette kan skyldes at det finnes spesielle patogene variant(er) av bakterien som spres gjennom salg av levende fisk og rogn, men som så langt har fått en begrenset geografisk utbredelse.

Ad e;

Systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum* hos laksefisk er klart definert gjennom kliniske symptomer, obduksjons- og histopatologiske funn som beskrevet ovenfor. Infeksjonen kan bekreftes gjennom bakteriologisk påvisning.

F. psychrophilum forekommer imidlertid i serologiske og genetiske varianter, hvorav flere kan være involvert i sykdomsutbrudd. Det er hittil ikke påvist en sikker sammenheng mellom typing og virulens. Det finnes heller pr i dag ingen validert diagnostisk metode som sikkert skiller mellom virulente og mindre virulente/avirulente stammer av bakterien.

Ad f;

Opportunistiske bakterier vil normalt trenge spesielle miljøforhold og/eller svekkede individer for å forårsake sykdom i en populasjon eller i et individ. Dette betyr at slike bakterier normalt ikke vil være en trussel mot vilt-levende fisk. Eventuell utvikling og spredning av mer virulente stammer av *Flavobacterium psychrophilum* kan imidlertid ha et større potensiale for å spre seg til og forårsake sykdom hos vill fisk.

4.2 Konklusjon

Sykdommen systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* er vel definert og forårsaker ett av de mest alvorlige sykdomsproblemene i europeisk regnbueørretoppdrett

Risikoen knyttet til vertikal smitteoverføring gir sykdommen et stort spredningspotensiale via den normale omsetningen av egg og yngel, både nasjonalt og internasjonal. Gjennomgående høy dødelighet, redusert smoltkvalitet og nedvasking av anlegg medfører betydelig økonomisk konsekvenser for affiserte settefiskanlegg og industrien mer generelt.

Muligheten for at det kan (ha) utvikle(t) seg spesifikke patogener, persisterende varianter av bakterien i et begrenset geografisk område, bakteriens spredningsmuligheter og mangelfull behandling av sykdom, tilsier at sykdommen har potensial til å bli et stort problem for rogn- og settefiskeproduksjonen. Utviklingen kan begrenses gjennom riktige tiltak og systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* tilfredsstiller derfor kriteriene a-d (punkt 4.1) for listeføring på nasjonal liste.

Det er av betydning for næringen at nye, potensielt store problemer får oppmerksomhet fra forvaltningen. Dette vil gjøre det mulig å kartlegge omfang og bidra til kontrollerende tiltak er i forkant av utviklingen. En rask oppfølging av systemisk infeksjon med *F. psychrophilum* på nasjonal sykdomsliste vil muliggjøre en kunnskapsbasert forvaltningsmessig håndtering av sykdommen på lengre sikt og bidra til å begrense spredning.

5. Takk

til Inge Kaada, Hans Olav Djupvik , Magnhild Daltveit og Torbjørn Lysne for grunnleggende bidrag med felterfaringer og til Inge Kaada, Atle Lillehaug , Duncan Colquhoun, Ruth Torill Kongtorp og Brit Hjeltnes for generelle innspill og kritisk gjennomlesning.

6. Litteratur

Arai H, Morita Y, Izumi S, Katagiri T, Kimura H. Molecular typing by pulsed field gel electrophoresis of *Flavobacterium psychrophilum* isolates derived from Japanese fish. J Fish Dis 2007, 30: 345-355

Bernardet, JF, Baudin-Luarencin F, Tixereant G. First identificataion of *Cytophage psychophila* „ in France. Bull Eur Assoc Fish Pathol 1988, 8 , 104-105

Chen, YC, Davis MA, Lapatra SE, Cain KD, Snekvik KR, Call DR. Department of Veterinary Microbiology and Pathology, Washington State University, Pullman, WA 99164-7040, USA. J Fish Dis 2008, Oct;31(10), 765-773. Epub 2008 Aug 4.

Cipriano, RC, Holt RA. *Flavobacterium psychrophilum*, cause of Bacterial Cold-Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. Fish Disease Leaflet , 2005, No. 86, Unites States Department of the Interior, US Geological Survey, National Fish Health Research Laboratory, Kearnsville, West Virginia

Duchaud E, Boussaha M, Loux V, Bernardet JF, Michel C, Kerouault B, Mondot S, Nicolas P, Bossy R, Caron C, Bessieres P, Gibrat JF, Claverol S, Dumetz F, Le Henaff M, Benmansour A. Complete genome sequence of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. Nature Biotechnology 2007, 25:763-769

Eskelinen U. Fiskhälsa 2008 - strategier för bekämpning av fisksjukdomar, 2003. Jord- och skogsbruksministeriet, Finland

Ekman E, Börjeson H, Johansson N. *Flavobacterium psychrophilum* in Baltic salmon *Salmo salar* brood fish and their offspring. Dis Aquatic Org 1999, 159-163V 37

Hesami, S, Allen KJ, Metcalf D, Ostland VE, MacInnes JI, and Lumsden JS. 2008. Phenotypic and genotypic analysis of *Flavobacterium psychrophilum* isolates from Ontario salmonids with bacterial coldwater disease. Can J Microbiol 2008, 54:619-629

Horiuchi M, Bunya T, Hoshiai G. Outbreaks of cold water disease in Coho salmon I Japan. Fish Pathol 1991, 26: 211-212

Iida Y, Mizokami A. Outbreaks of coldwater disease in wild ayu and pale chub Fish Pathol 1996, 31, 3, 157-164.

Izumi S, Aranishi F. Relationship between *gyrA* mutations and quinolone resistance in *Flavobacterium psychrophilum* isolates. Appl Environ Microbiol 2004, 70, 3968-3972

Jensen PA, Henriksen NH, Michelsen K, Madsen L, Dalsgaard I. Forebyggelse av YDS (yngeldødelighetssyndrom) og begrænsning at medecinfrobrug i æg- yngelopdræt i danske dambrug (in Danish) DFU-Rapport 2003, No.124, 129 pp. Danish Institute for Fisheries Research, Charlottenlund.

Lorenzen E. Studies on *Flexibacter psychrophilus* in relation to rainbow trout fry syndrome (RTFS). PhD thesis, 1994. National Veterinary Laboratory, Århus and Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen.

Lorenzen E, Dalsgaard I, Bernardet J. F. Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with coldwater disease or rainbow trout fry syndrome I: phenotypic and genomic studies. Dis Aquatic Org 1997, 31.3,197-208.

Lorenzen E, Olesen N J. Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with coldwater disease or rainbow trout fry syndrome II: serological studies. Dis Aquatic Org 1997, 31.3, 209-220.

Madetoja J, Dalsgaard I, Wiklund T. Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in fish-farming environments. Dis Aquatic Org 2002, 52.2,109-118.

Madsen L, Dalsgaard I. Comparative studies of Danish *Flavobacterium psychrophilum* isolates: ribotypes, plasmid profiles, serotypes and virulence. J Fish Dis, 2000, 23.3:, 211-218.

Nematollahi A, Decostere A, Pasmans F, Haesebrouck F. *Flavobacterium psychrophilum* infections in salmonid fish. J Fish Dis 2003, 26:563-574.

Schmidtke LM, Carson J. 1995. Characteristics of *Flexibacter psychrophilus* isolated from Atlantic salmon in Australia. Dis Aquat Org, 1995, 21, 157-161

Toranzo AE. Report about fish bacterial diseases Mediterranean aquaculture diagnostic laboratories, Alvarez-Pellitero, P.; Instituto de Acuicultura Torre de la Sal, Castellón (Spain). Consejo Superior de Investigaciones Científicas) Barja JL, Basurco B, Berthe F, Toranzo AE; eds.- Zaragoza (Spain): CIHEAM-IAMZ, 2004.- ISBN 2-85352-301-2.- p. 49-89

Wangel C. *Flavobacterium psychrophilum* smitter i sjøen. Norsk Fiskeoppdrett 2009,34, nr. 1

Weis J. A cold water disease in rainbow trout. Ueber das Vorkommen einer Kaltwasserkrankheit bei Regenbogenforellen *Salmo gairdneri*. Tierärztl. Umsch, 1987, 42: 575-578



Veterinærinstituttet er et nasjonalt forskningsinstitutt innen dyrehelse, fiskehelse, mattrygghet og dyrevelferd med uavhengig forvaltningsstøtte til departementer og myndigheter som primæroppgave. Beredskap, diagnostikk, overvåking, referansefunksjoner, rådgivning og risikovurderinger er de viktigste virksomhetsområdene.

Veterinærinstituttet har hovedlaboratorium i Oslo og regionale laboratorier i Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, med til sammen ca. 360 ansatte.

www.vetinst.no

Tromsø

Stakkevollvn. 23 b · 9010 Tromsø
9010 Tromsø
t 77 61 92 30 · f 77 69 49 11
vitr@vetinst.no

Harstad

Havnegata 4 · 9404 Harstad
9480 Harstad
t 77 04 15 50 · f 77 04 15 51
vih@vetinst.no

Bergen

Bontelabo 8 b · 5003 Bergen
Pb 1263 Sentrum · 5811 Bergen
t 55 36 38 38 · f 55 32 18 80
post.vib@vetinst.no

Sandnes

Kyrkjev. 334 · 4325 Sandnes
Pb 295 · 4303 Sandnes
t 51 60 35 40 · f 51 60 35 41
vis@vetinst.no

Trondheim

Tungasletta 2 · 7047 Trondheim
7485 Trondheim
t 73 58 07 27 · f 73 58 07 88
vit@vetinst.no

Oslo

Ullevålsveien 68 · 0454 Oslo
Pb 750 Semtrum · 0106 Oslo
t 23 21 60 00 · f 23 21 60 01
post@vetinst.no

