

Havs- och vattenmyndigheten
Kunskapsavdelningen
Box 11 930
404 39 Göteborg
havochvatten@havochvatten.se

PILOTPROJEKT VILDFISKÖVERVAKNING



Torsk och skrubba från Hanöbukten. Foto: Marlene Areskog, SVA.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

PILOTPROJEKT VILDFISKÖVERVAKNING	1
Bakgrund.....	3
Metod	4
Lokaler och genomförande av fiske	4
Provtagning	6
Laboratorieanalyser	6
RESULTAT	7
Provtagning	7
Laboratorieanalyser	10
Abborre	11
Skrubbskädda	12
Torsk och vitling	12
Sill och tobis	14
Tånglake	14
Snultra	15
Diskussion	18
Obduktion	18
Histopatologi	18
Bakteriologi	19
Sammanfattning fynd	20
Metoder	20
Fortsättning	22
Referenser	23

BAKGRUND

Hälsotillståndet hos fisk och skaldjur utgör en viktig del i bedömningar av miljöns tillstånd i hav och kustvatten. Klimatförändringar, miljöföroreningar och uppträdandet av invasiva främmande arter är några av många faktorer som kan påverka akvatiska organismers hälsa. Det finns skäl att anta att förändringar i ekosystemet kommer att ge kliniska symptom på utsatta fiskarter innan det ger symptom på fiskätande fåglar och däggdjur. Fisk och skaldjur bör därför kunna användas som en indikator på ekosystemets hälsotillstånd (Naturvårdsverket 2005). Nationella beståndsövervakningsprogram och internationella organ för olika havsområden, som exempelvis Baltic Marine Environment Protection Commission - Helsinki Commission (HELCOM) och International Council for the Exploration of the Sea (ICES), har dessutom intresse av att akvatiska organismers hälsostatus kontinuerligt följs upp inom nationella sjukdomsprogram.

Sjukdomar på fisk och skaldjur kan få långtgående konsekvenser på både individ- och populationsnivå. Akvatiska organismer kan drabbas av sjukdomsutbrott som i värsta fall kan slå ut hela populationer (t.ex. kräftpest). Detta ger återverkningar på hela ekosystem, fisket och ekonomin. En ökande förekomst av främmande arter kan föra med sig för Sverige helt nya och allvarliga sjukdomar. Kunskap om sjukdomsläget kan vara avgörande för att kunna utföra kvantitativa och kvalitativa konsekvensanalyser och som underlag vid beslutsfattande.

Sverige hör till de länder som idag står helt utan rutinmässig övervakning av sjukdomar hos vilda akvatiska populationer och vi är dåligt rustade för att hantera problem relaterade till hälsa på vild fisk. Ett exempel på detta är tillståndet i Hanöbukten, där olika myndigheter sedan flera år fått in rapporter från fiskare och allmänhet om sårskadad fisk (Havs- och vattenmyndigheten, 2013). Om Sverige hade haft ett fungerande övervakningsprogram för vild fisk hade situationen troligen uppmärksammats i ett tidigare skede och man hade kunnat föra en bättre dialog med intressenterna. Man hade också lättare kunnat tolka resultaten av riktade undersökningar i bukten och utvärdera de fynd som gjorts mot bakgrundsfakta om normalförekomst av olika företeelser. Havs- och vattenmyndigheten (HaV) och Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) har haft regeringsuppdrag att utreda torskhälsan i Hanöbukten (HaV 2018, SVA 2018).

I beslut 2018-05-30, dnr 1553-18, tilldelades SVA 2 000 000 kronor för projekt "Hälso- och sjukdomsövervakning fisk och säl". Av bidraget var ca 530 000 kronor budgeterat för att finansiera delprojektet pilotprojekt för vildfiskövervakning. Projektet genomfördes med provtagningar under augusti till och med november 2018, med efterföljande analyser och rapportskrivning fram till redovisning i februari 2019.

METOD

Lokaler och genomförande av fiske

Provtagningen i fält genomfördes i samarbete med SLU Aqua och utfördes inom ramen för deras befintliga provfiskeverksamhet. SLU Aqua utför årligen provfisken vid ett antal lokaler runt om i Sverige i syfte att följa utvecklingen av fisksamhällen och populationer i tid och rum. Vissa somatiska data som längd och vikt samlas då in, synliga skador och avvikelser noteras och på en viss del av fångsten görs en åldersbedömning (Øresland, 2015). Inför detta pilotprojekt om vildfiskhälsa valdes fem av SLU:s kustnära lokaler ut för SVA:s provtagning: Barsebäck, Kvädöfjärden, Torhamn, Fjällbacka och Hanöbukten. Lokalerna valdes ut i samråd mellan SVA, HaV och SLU. Utgångspunkten var Hanöbukten, som tidigare varit föremål för utredning avseende torskhälsa (SVA 2016; HaV, 2018). Övriga fyra lokaler valdes för att täcka in andra områden av den svenska kusten samt (förutom i Torhamn) möjligheten att plocka in torsk från olika lokaler till projekt "Sälhälsa, zoonoser, säl- och torskmask", SVA Dnr 2018/278. Personal från SVA medverkade i fält. Totalt planerades provtagning av 100 fiskar ur provfiskefångsterna. Dessa fördelades jämnt med 20 per lokal, fångstdatum och fångstmetoder presenteras i **Tabell 1**.

Fångsterna landades och plockades ur redskapen av personal från SLU. Fisk överlämnades löpande, i vissa fall efter att somatiska data som längd och vikt samlats in, till SVA:s provtagare. Urvalet av fisk var godtyckligt men berodde också på vilken tillgång som fanns och vilka arter/storleksklasser som var av vikt i SLU:s provtagning. (**Tabell 1**). Hanteringen innan provuttag varierade beroende på förutsättningarna vid respektive lokal. Där nätfiske utfördes var fisken ofta självdöd eller dog under vittjningen, i andra fall behövde den avlivas. Där det var möjligt hölls fisken kyld fram till provtagning (**Tabell 1**).

Väderskydd fanns i form av bodar, barack och garage. Arbetsbänkar fanns att tillgå på plats, i övrigt togs all nödvändig utrustning med från SVA (**Bild 1**).



Bild 1: Exempel på uppställning av arbetsstation i barack

Tabell 1: Lokaler för provtagning, datum, fångstmetod samt förhållanden för avlivning och hantering inom Pilotprojekt Vildfiskövervakning.

Lokal	Datum	Målarter	Fångstmetod	Hantering
Barsebäck	2 - 3 augusti	Torsk Snultror Ål Skrubbskädda	Ryssjor på kustnära grunt vatten	Enstaka fisk med hjärtverksamhet vid provuttag (tånglake, skrubbskädda) Lufttemperaturen var hög (~ 30°C) under dagarna för provtagning Fiskarna hölls kylda i kylskåp
Kvädöfjärden	14 - 15 augusti	Abborre Skrubbskädda (oktober) Torsk (oktober) Sik (oktober)	Biologiska länkar, kombinerade nät med maskstorlekar 22, 25, 30, 33, 38, 50 och 60 mm mellan knutarna, på kustnära grunt vatten.	Enstaka fiskar vid liv (skrubbskädda), avlivades genom slag mot huvudet Ingen möjlighet till kylning
Torhamn	22 - 23 augusti	Abborre Övr. sötvattenfiskar,	Djupstratifierat fiske med Nordiska kustöversiktsnät	All fisk dog under fångst eller hantering Ingen möjlighet till kylning.
Fjällbacka	16 - 17 oktober	Torsk Snultror Ål Tånglake	Småryssjor på kustnära grunt vatten	All fisk sumpades Avlivning allteftersom genom slag mot huvudet
Hanöbukten	6 - 7 november	Torsk Skrubbskädda	Djupstratifierat fiske med Nordiska kustöversiktsnät	All fisk dog under fångst eller hantering Fiskarna hölls kylda utomhus

Provtagning

SLU:s provfisken varar 1 - 2 veckor per lokal. SVA medverkade under 2 dagar per lokal och provtog och dokumenterade ca 10 fiskar per dag enligt följande rutin:

- Fotodokumentation
- Könsbestämning
- Längd och kroppsvikt
- Vikt på lever och gonader
- Blodutstryk från hjärtblod
- Bakterierprov från njure till stickagar (marinagar + Trypic soy agar (TSA)). Om hudsår fanns togs extra bakterierprov från sårkanten.
- Bitar av hjärta, njure och mjälte för virusprov
- Bitar av lever, njure, gäle och hjärta i formalin för histologisk undersökning. Även andra organ provtogs om misstänkt sjuklig förändring observerades.

Abborrar kontrollerades även för parasiter i muskulatur genom 4 - 5 snitt per sida.

Laboratorieanalyser

Bakterieodling gjordes genom utstryk från stickagarrören till marinagar och saltblodagar, varefter agarplattorna inkuberades vid 20°C i fem dygn. Intressanta/potentiellt patogena bakteriekolonier artbestämdes genom Maldi-Tof, med eventuell kompletterande typning genom biokemiska tester.

Virusodling gjordes enligt EU:s riktlinjer (Kommissionens beslut (EU) 2015/1554). Kortfattat användes två cellinjer (BF-2 och FHM), som inokulerades med provmaterial och inkuberades vid 15°C under totalt två veckor.

Histopatologisk bedömning gjordes genom mikroskopering av vävnadssnitt från lever, njure, hjärta och gäle. Snitten färgades med Hematoxylin-Eosin (HE), samt i några fall för allmänt påvisande av bakterier (Gram) eller immunhistokemisk (IHC) färgning för bakterien *Francisella noatunensis*. Dessutom gjordes en cytologisk bedömning av fiskarnas blodbild genom blodutstryk som färgades med May Grünwald Giemsa (MGG).

Lever bedömdes avseende vakuolisering (näringssupplagring), parasitförekomst, inflammation och degenerativa/regenerativa förändringar. Inflammation bedömdes utifrån förekomst av 1) makrofagcentra 2) inflammationshärdar utan bindvävsinväxt 3) granulom (kroniska inflammationshärdar med bindvävsinväxt). Degenerativa förändringar inkluderade en bedömning av cellsvullnad, celldegeneration (reversibelt stadium av tillbakabildning) och nekros (vävnadsdöd).

Njure bedömdes avseende inflammatoriskt och degenerativt/regenerativt status på dels nefron (filtrerande enheter, inkluderande glomeruli och tubuli), dels blodbildande vävnad (interstitium).

I hjärtat bedömdes inflammatoriskt och degenerativt/regenerativt status på förmak, kammare och bulbus arteriosus i alla lager (hjärthinnan, hjärtmuskulatur (elastisk bindväv i bulbus) samt endokardiet (det inre cellagret mot kärl och kammare)).

Gälarna bedömdes avseende parasitförekomst, blödningar samt akuta och kroniska inflammatoriska förändringar.

På grund av få fiskar per art och lokal har inga statistiska beräkningar utförts.

RESULTAT

Provtagning

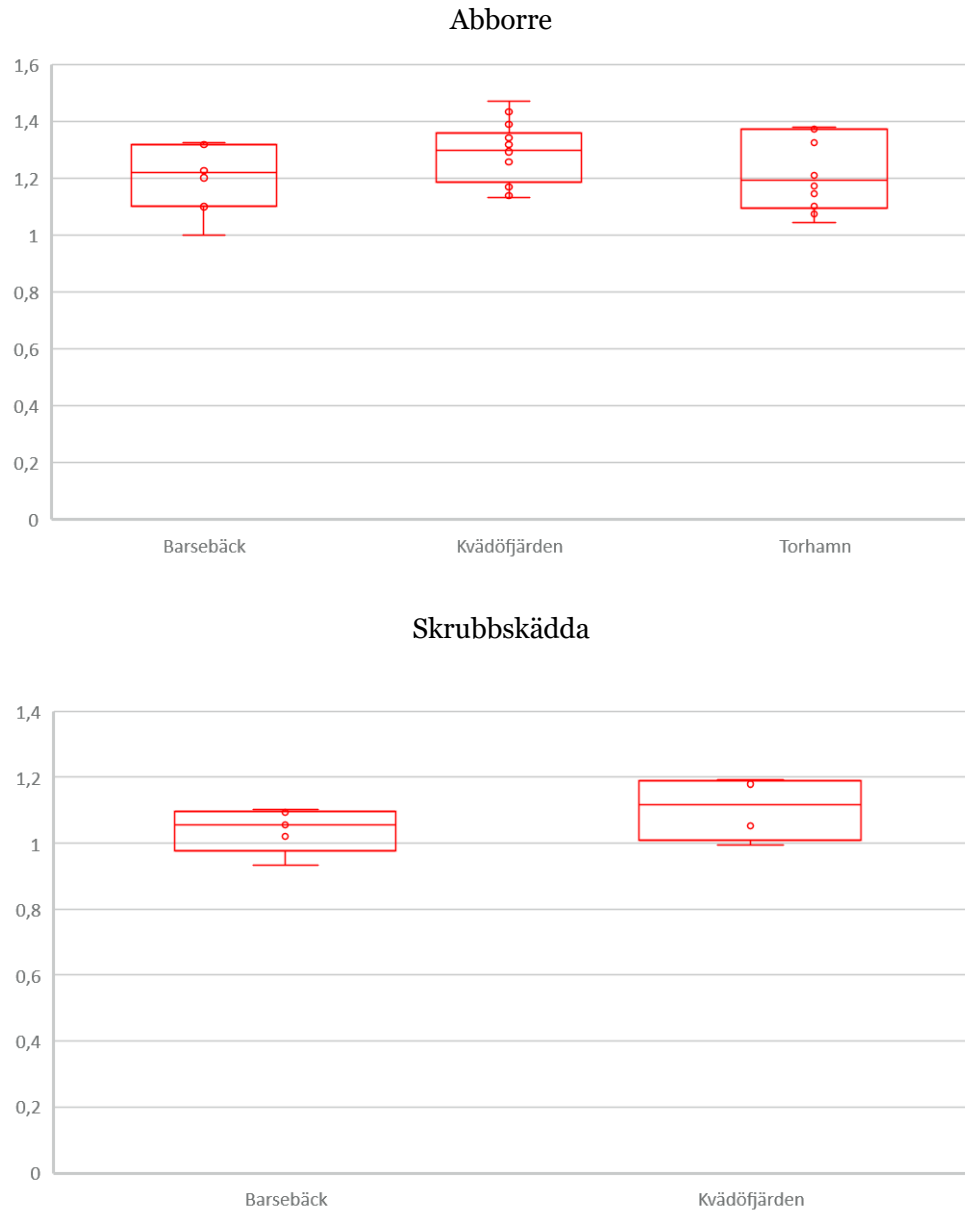
Totalt provtogs 95 av planerade 100 individer. Färre individer än planerat provtogs i Torhamn och Fjällbacka. I Torhamn berodde det på att skicket på sillen försämrades snabbt, vilket till slut omöjliggjorde provtagning. I Fjällbacka skedde ett missförstånd mellan provtagare och fiskare, varför inte tillräckligt med fisk fanns tillgängligt. De målarter som angivits av SLU vid planeringen av projektet stämde inte med utfallet vid provtagningen, varför de provtagna arterna delvis avvek från de planerade. Till exempel provtogs abborre och tånglake i Barsebäck och sill i Torhamn och Hanöbukten, medan torsk inte kunde provtas på lokalerna Barsebäck och Kvädöfjärden (**Tabell 2**).

Tabell 2: Antal samlade prover per lokal och art. Målarter för lokalen anges med fet stil.

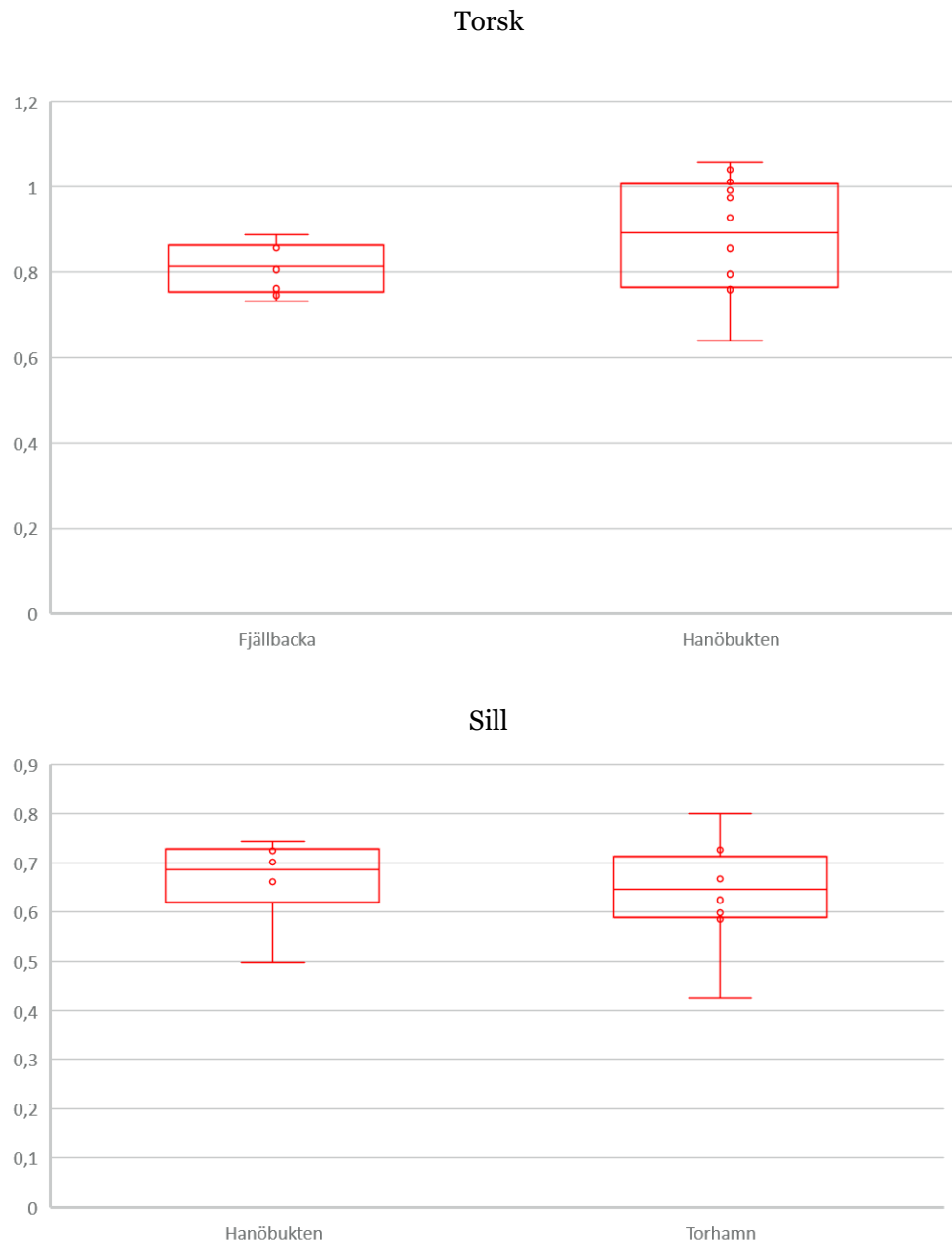
Lokal	Abborre	Skrubbskädda	Tång- lake	Torsk	Sill	Vitling	Tobis	Skär- snultra	Totalt
Barsebäck	8	5	7	0				0	20
Kvädöfjärden	16	4		0					20
Torhamn	10				8				18
Fjällbacka			0	8		7		2	17
Hanöbukten		0		12	6		2		20
Totalt	34	9	7	20	14	7	2	2	95

Längd och vikt användes för att räkna ut fiskarnas kondition (Fultonfaktor, $\text{vikt(g)} \times 100 / \text{längd(cm)}^3$). Underlaget var för litet för att göra en statistisk analys. Subjektivt kunde inte några tydliga skillnader observeras, även om det fanns tendenser till skillnader mellan lokalerna. Till exempel såg abborrarna i Kvädöfjärden ut att vara i något bättre kondition än sina artfränder i Barsebäck och Torhamn (**Figur 2**).

Figur 2: Box plots avseende Fultonfaktor för abborre, skrubbskädda, torsk och sill per provtagen lokal.



Figur 2, fortsättning

**Observationer vid provuttag**

Merparten av de provtagna fiskarna var utan sjukliga förändringar.

Hos abborre noterades karplus (*Argulus foliaceus*) på fem fiskar vardera från Kvädöfjärden och Torhamn. Två av dessa hade även en mask på huden, men maskarna finns inte fotodokumenterade, varför det inte går att uttala sig om vilken typ av mask det rörde sig om. Hos en abborre från Barsebäck noterades punktformiga blödningar i levern.

Hos skrubbskädda noterades hyperpigmentering på fyra fiskar, två från Barsebäck och två från Kvädöfjärden. En av fiskarna (från Kvädöfjärden) hade

kraftig hyperpigmentering medan övriga tre hade lindrig hyperpigmentering. En skrubbskädda från Barsebäck hade nematoder i levern.

Hos torsk noterades sårskador på tre fiskar från Hanöbukten, och en fisk hade en tumörliknande utväxt i gommen. Gälparasiten *Lernaeocera branchialis* hittades på två fiskar från Fjällbacka. Tre fiskar från Fjällbacka hade vita härdar i flera inre organ som lever, mjälte och njure. Två torskar från Hanöbukten hade förekomst av inre nematoder, en i lever och en i mjälten.

En sill noterades vara liten och i dålig kondition. I övrigt noterades inga förändringar hos sill. Inga förändringar noterades hos vitling, tånglake, tobis eller skärnsultra.

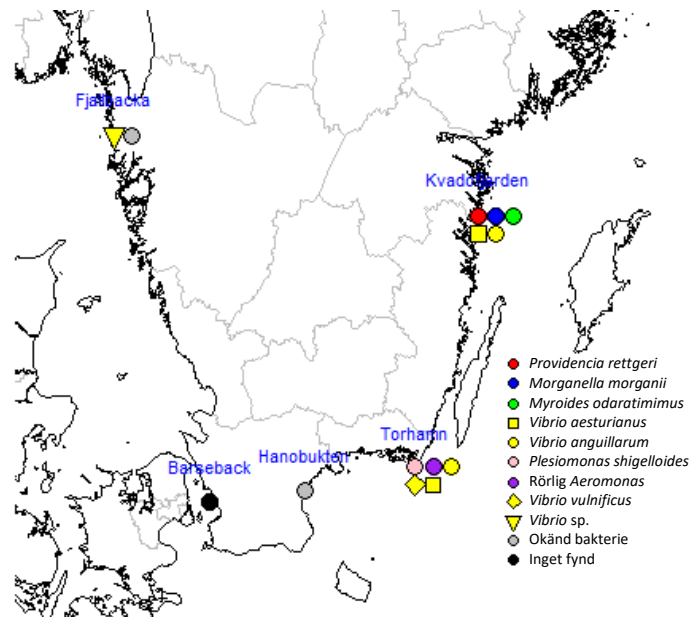
Laboratorieanalyser

Bakteriologisk och virologisk undersökning

Totalt inokulerades elva organpooler för virusodling; tre från abborre, två vardera från skrubbskädda, torsk och sill, samt en vardera från vitling och tånglake. Alla pooler var negativa avseende virus.

Bakteriologisk undersökning av prover från Barsebäck och Hanöbukten resulterade enbart i blandflora utom hos två fiskar från Hanöbukten. Även på övriga lokaler var växt av blandflora vanligt förekommande. Från fisk i Kvädöfjärden, Torhamn och Fjällbacka isolerades olika bakteriearter renkultur eller sparsam blandflora (**Figur 3**). De bakteriarter som isolerades var: *Vibrio anguillarum* (fyra sillar, en abborre), *Vibrio aesturianus* (en sill, en abborre), *Vibrio vulnificus* (en sill), *Vibrio* sp. (en skärnsultra), Rörlig *Aeromonas* sp. (tre sillar, en abborre), *Plesiomonas shigelloides* (en abborre), *Morganella morgani* (en abborre), *Providencia rettgeri* (en skrubbskädda) och *Myroides odoratimimus* (en abborre). Dessutom isolerades bakterier som inte kunde artbestämmas från två fiskar i Hanöbukten och en i Fjällbacka.

Figur 3: Fyndplatser för bakteriearter som isolerats i projektet



Histopatologisk undersökning

I **Tabell 3** presenteras observerade förändringar i levern. Av degenerativa förändringar visas endast cellsvullnad, då det var den degenerativa förändring som framför allt observerades i materialet. I **Tabell 4** presenteras observerade förändringar i njure avseende skador i glomeruli och tubuli samt tecken på regeneration.

Abborre

Totalt undersöktes lever från 33 individer, njure från 29 individer, hjärta från 34 individer och gäle från 30 individer.

Graden av vakuolisering i levern var generellt låg (**Tabell 3**) och som mest sågs måttlig vakuolisering hos fyra fiskar, varav tre från Torhamn. Inga parasiter identifierades i levern, men tre fiskar hade enstaka granulom som kan uppkomma där parasiter migrerat. Inflammationshärdar var vanligt förekommande. Fem abborrar i Kvädöfjärden bedömdes ha kraftig till extremt kraftig inflammationsbild. Endast i Barsebäck provtogs abborrar utan tecken på inflammation i levern (**Tabell 3**). Gramfärgning gjordes på fyra snitt. Inga bakterier påvisades i anslutning till inflammationshärdarna. Degenerativa förändringar förekom i sparsam mängd. Cellsvullnad sågs hos åtta fiskar, varav fyra hade markanta förändringar med svullnad i 30 – 90 % av den snittade ytan. Cellsvullnad förekom inte alls hos abborrarna i Barsebäck. Degeneration var ovanligt och sågs som enskilda påverkade celler spridda i vävnaden hos sex fiskar. Förekomst av nekros sågs i inflammationshärdar, utom i en fisk där ett mindre område (<5 % av snittytan) med akut nekros utan inflammation kunde ses.

Autolys sågs i de flesta njurbitarna. Inga tecken på glomeruliskador sågs. Interstitium och tubuli var svårbedömda på grund av autolys, men lindrig till

måttlig förekomst av regenererande (nya) nefron var vanligt förekommande. Hos två fiskar sågs rikligt med regenererande nefron. Makrofagcentra var ovanliga eller autolyserade, och tydliga centra noterades bara hos tre individer. En abborre hade fyra parasitgranulom i njursnittet.

Endast tre hjärtsnitt var helt utan förändringar. I övrigt noterades lindrig till måttlig inflammation i epikardet hos 29 individer och lindrig till kraftig förekomst av inflammation i hjärtmuskeln (myokardit) hos 18 individer, varav fem bedömdes ha inflammation av klinisk betydelse. I Torhamn var andelen fiskar med myokardit lägst (tre av 10 (30 %) jämfört med Barsebäck (fem av åtta (63 %)) och Kvädöfjärden (10 av 16 (63 %)). Dock hamnade alla tre individer med myokardit i Torhamn i kategorin ”klinisk betydelse”, medan övriga två med samma grad av myokardit kom från Kvädöfjärden.

Hos 26 fiskar var vävnaden måttligt till kraftigt autolyserad, vilket omöjliggjorde en bedömning. Gälar kunde därför bara bedömas ordentligt hos fyra individer och där noterades inga dramatiska förändringar, enbart lindrig hyperplasi på sekundärlamellerna hos en individ.

Skrubbskädda

Totalt undersöktes lever, hjärta och gäle från nio skrubbskäddor samt njure från åtta skrubbskäddor.

Det fanns inga uppenbara skillnader mellan lokalerna. I levern sågs en högre grad av vakuolisering i Barsebäck än i Kvädöfjärden. Inflammationsgraden var mycket låg och utgjordes främst av makrofagcentra. Endast mindre stråk av vävnadsdöd eller degenererade celler noterades, däremot förekom omfattande cellsvullnad hos flera individer.

Skrubbskäddorna hade en hög grad av degeneration av glomeruli på båda provtagna lokaler. Autolys försvårade bedömningen av tubuli och interstitium. Endast en fisk hade tecken på omfattande regeneration av nefron. Makrofagcentra sågs i måttlig till riklig mängd i interstitiet.

Lindrig förekomst av inflammation sågs i hjärthinnan och/eller hjärtmuskulaturen hos sju fiskar. Hos två fiskar noterades inga förändringar.

Gäle kunde bedömas hos sju fiskar, medan autolys förelåg hos två fiskar. Enbart lindriga förändringar noterades. I Barsebäck noterades enstaka cystor hos två individer. Cystorna var tomma eller innehöll delar av vad som såg ut att vara en trematod (sugmask). I Kvädöfjärden noterades liknande cystor hos två individer. Hos två individer sågs förekomst av copepoder, men utan någon inflammatorisk reaktion.

Torsk och vitling

Totalt undersöktes lever, njure och hjärta från 20 torskar och sex vitlingar (**Tabell 3, 4**) och gäle från 19 torskar och fem vitlingar.

Vakuolisering av levern var vanligt förekommande hos båda arterna och då oftast av kraftig grad. Hos fem torskar i Kvädöfjärden bedömdes steatos (förfettning) föreligga, då cellkärnorna i de vakuoliserade cellerna var

förkrympta. I övrigs sågs få degenerativa förändringar utöver cellsvullnad, som förelåg i ungefär samma grad för arterna och i de två lokalerna.

Inflammationsgraden var generellt låg. Hos fyra torskar från Fjällbacka sågs granulom, varav två hade enstaka små granulom och två hade hela levern genomsatt av granulom i olika storlekar. Två av dessa torskar hade även enstaka nematoder i levervävnaden. De få granulomen hos den ena individen stämde med parasitorsakade, väl bindvävsomgärdade granulom och den andra hade multipla, något mer diffusa granulom. I torsken från Hanöbukten sågs misstänkt nematodorsakade granulom hos en individ. I Hanöbukstorsken noterades inga nematoder eller nematodorsakade granulom i levervävnaden. Däremot hade fyra individer vidgade gallgångar och förekomst av encelliga parasiter av typen myxosporidier, utifrån morfologin bedömt som *Myxidium* sp. eller *Zschokkella* sp. Ingen av vitlingarna hade förekomst av granulom eller parasiter.

Njuren kunde bedömas hos 18 torskar och fem vitlingar. Vävnaden saknades hos en torsk och enbart interstitium fanns med i snittet från tre individer. Hos torsk sågs en hög grad av degenerativa förändringar i glomeruli hos individer från Hanöbukten, där minst 80 % av alla synliga glomeruli var kraftigt degenererade hos alla utom två individer. Degeneration förekom även i Fjällbacka, men den var dels inte lika kraftig i individuella glomeruli, dels inte lika omfattande. Hos en individ sågs omfattande degeneration och hos en individ sågs lindrig degeneration av tubuli. Regeneration av nefron förekom i måttlig till omfattande grad hos 60 - 70 % av torskarna på båda lokaler. Hos tre torskar i Fjällbacka sågs omfattande granulombildning i interstitiet. Inflammationen hade trängt undan nefron så dessa förekom mer sparsamt än normalt. Hos vitling sågs degeneration av glomeruli i något högre omfattning än hos torsk på samma lokal. Inga tubuliskador noterades. Regeneration av nefron observerades i varierande grad.

Omfattande inflammatoriska förändringar med granulombildning i hjärtat noterades hos tre torskar från Fjällbacka. Detta var samma individer som hade kraftig granulombildning i lever och njure, samt en av dem hade även granulom i gälen (se nedan), varför immunohistokemisk färgning gjordes avseende bakterien *Francisella noatunensis*. Alla tre torskarna var positiva för bakterien. Utöver dessa tre fiskar var det en torsk från Fjällbacka som bedömdes ha myokardit av potentiell klinisk betydelse. I epikardiet hos en vitling sågs en fokal kraftig kronisk inflammation med pågående reaktiv bindvävstillväxt in i hjärtmuskulaturen och hos en vitling sågs en mindre, akut nekros utan inflammatorisk reaktion. På torsk från Hanöbukten sågs tydliga förändringar på tre fiskar. En hade trombbildning och nekroser i förmaket och två hade mindre, fokala nekroser med inflammationshärdar i hjärtmuskulaturen. En av dessa två fiskar hade inflammation i hjärthinna och en hade granulombildning i hjärtklaffar och bulbus arteriosus.

Viss autolys sågs i ett flertal gälsnitt. Hyperplasier förekom i lindrig till måttlig grad hos tre vitlingar. En vitling hade en trematod i en primärlamell och hos en vitling noterades inga förändringar. Sex torskar hade parasitcystor, varav två bedömdes vara infekterade med mikrosporidien *Loma* sp., tre misstänktes vara ett annat stadium av *Loma* sp eller någon flercellig parasit och en hade ett

granulom där den ursprungliga parasiten inte kunde bedömas. I anslutning till parasitcystorna sågs lindriga hyperplasier, men en fisk med *Loma* sp. hade mer omfattande hyperplasier generellt. Ytterligare en torsk hade utöver ett par tomma parasitcystor massiva hyperplasier i primärlamellerna och granulombildningar i gälbågen. Dessa mer omfattande förändringar bedömdes inte ha samband med fiskarnas parasitinfektion. Två torskar från Hanöbukten hade måttlig till riklig förekomst av ciliaten *Trichodina* mellan primär- och sekundärlamellerna men det förekom ingen inflammatorisk reaktion. I övrigt sågs lindriga hyperplasier hos ett flertal torskar och akuta blödningar hos en torsk.

Sill och tobis

Totalt undersöktes lever och hjärta från 14 sillar och två tobisar, njure från fem sillar och två tobisar, samt två gälsnitt vardera från sill och tobis. I **Tabell 3** och **Tabell 4** är enbart data avseende sill inkluderade.

Vakuoliseringsgrad och förekomst av degenerativa förändringar i form av vävnadsdöd var generellt låg i lever. Däremot var graden av cellsvullnad hög, framför allt i Torhamn.

Varierande grad av glomerulidegeneration kunde ses i njure. Autolys försvårade bedömningen av tubuli och interstitium. Inga tecken på regeneration sågs. Det var måttlig förekomst av makrofagcentra.

Endast lindrig förekomst av inflammation i hjärthinna och/eller hjärtmuskulatur noterades hos totalt sex fiskar varav fyra från Torhamn.

Autolys sågs i varierande grad i alla gälsnitten. Endast två snitt från sill och de två snitten från tobis kunde bedömas. Hos en sill sågs lindriga hyperplasier och hos en tobis sågs lindriga – måttliga hyperplasier.

Tånglake

Snitt av lever, njure och gäle från sju tånglakar samt snitt av hjärta från sex tånglakar undersöktes (**Tabell 3, 4**).

Vakuolisering förekom i kraftig grad hos alla individer utom en, som hade måttlig grad av vakuolisering. En individ bedömdes ha steatos. Hos en tånglake förelåg kraftig degeneration på gränsen till vävnadsdöd i hela leversnittet.

Njurbitarna var inte representativa för vad som behövde utvärderas. Få nefron (varav endast 1 - 3 glomeruli) fanns med och autolys förelåg, varför njurens status inte kunde bedömas för denna art.

Inga patologiska förändringar noterades i hjärtsnittet.

Gäle kunde bedömas hos sex av fiskarna, även om viss autolys förekom i snitten. Lindrig hyperplasi var vanligt förekommande, för det mesta på enstaka filament men hos två fiskar sågs mer omfattande drabbade områden. Hos en fisk förekom omfattande akuta blödningar i sekundärlamellerna.



Snutra

Endast två individer provtogs och det finns ingen närbesläktad art provtagen varför bedömning av vävnaderna inte inkluderas i rapporten.

Tabell 3: Histopatologiska fynd i leversnitt, fördelat på art och lokal.

Parameter	Abborre				Skrubbskädda			
	Lokal				Lokal			
	Antal (%)				Antal (%)			
Vakuolisering	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig
Barsebäck	2 (29)	4 (57)	1 (14)	0	0	0	1 (20)	4 (80)
Kvädöfjärden	7 (44)	9 (56)	0	0	0	2 (50)	2 (50)	0
Torhamn	5 (50)	2 (20)	3 (30)	0	-	-	-	-
Inflammation	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig
Barsebäck	3 (43)	4 (57)	0	0	1 (20)	4 (80)	0	0
Kvädöfjärden	0	5 (31)	6 (38)	5 (31)	1 (25)	3 (75)	0	0
Torhamn	0	5 (50)	3 (30)	2 (20)	-	-	-	-
Cellsvullnad*	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %
Barsebäck	7 (100)	0	0	0	2 (40)	0	0	3 (60)
Kvädöfjärden	14 (88)	1 (6)	1 (6)	0	3 (75)	0	0	1 (25)
Torhamn	4 (40)	3 (30)	2 (20)	1 (10)	-	-	-	-
Parameter	Torsk				Sill			
Lokal	Antal (%)				Antal (%)			
Vakuolisering	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig
Torhamn	-	-	-	-	1 (13)	6 (75)	1 (13)	0
Fjällbacka	1 (13)	0	3 (38)	4 (50)	-	-	-	-
Hanöbukten	0	1 (8)	2 (17)	9 (75)	1 (17)	3 (50)	2 (33)	0
Inflammation	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig
Torhamn	-	-	-	-	0	5 (50)	3 (30)	2 (20)
Fjällbacka	4 (50)	2 (25)	0	2 (25)	-	-	-	-
Hanöbukten	7 (58)	4 (33)	1 (8)	0	0	3 (50)	1 (17)	2 (33)
Cellsvullnad*	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %
Torhamn	-	-	-	-	0	0	0	8 (100)
Fjällbacka	3 (38)	1 (13)	0	4 (50)	-	-	-	-
Hanöbukten	2 (17)	1 (8)	0	9 (75)	0	2 (33)	1 (17)	3 (50)
Parameter	Tånglake				Vitling			
Lokal	Antal (%)				Antal (%)			
Vakuolisering	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig
Barsebäck	0	0	1 (14)	6 (86)	-	-	-	-
Fjällbacka	-	-	-	-	0	0	3 (50)	3 (50)
Inflammation	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig	Ingen	Lindrig	Måttlig	Kraftig
Barsebäck	5 (72)	1 (14)	1 (14)	0	-	-	-	-
Fjällbacka	-	-	-	-	4 (67)	2 (33)	0	0
Cellsvullnad*	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %
Barsebäck	1 (17)	0	0	5 (71)	-	-	-	-
Fjällbacka	-	-	-	-	2 (33)	0	1 (17)	3 (50)

*Cellsvullnad bedömdes utifrån % av ytan där cellsvullnad förekom

Tabell 4: Histopatologiska fynd i njursnitt, fördelat på art och lokal.

Parameter Lokal	Abborre Antal (%)				Skrubbskädda Antal (%)			
	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %
Glomeruliskada*								
Barsebäck	6 (100)	0	0	0	0	0	0	4 (100)
Kvädöfjärden	15 (100)	0	0	0	0	1 (25)	0	3 (75)
Torhamn	8 (100)	0	0	0	-	-	-	-
Tubuliskador	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig
Barsebäck	Autolys	-	-	-	Autolys	-	-	-
Kvädöfjärden	Autolys	-	-	-	Autolys	-	-	-
Torhamn	Autolys	-	-	-	-	-	-	-
Regeneration	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig
Barsebäck 6	0	4 (67)	0	2 (33)	2 (50)	1 (25)	0	1 (25)
Kvädöfjärden 15	2 (13)	4 (27)	7 (47)	2 (13)	3 (75)	1 (25)	0	0
Torhamn 8	3 (37)	0	5 (63)	0	-	-	-	-
Parameter Lokal	Torsk Antal (%)				Sill Antal (%)			
Glomeruliskada*	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %
Torhamn	-	-	-	-	1 (25)	1 (25)	2 (50)	0
Fjällbacka	3 (43)	1 (14)	1 (14)	2 (29)	-	-	-	-
Hanöbukten	0	0	1 (10)	9 (90)	1 (100)	0	0	0
Tubuliskador	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig
Torhamn	-	-	-	-	4 (100)	0	0	0
Fjällbacka	8 (100)	0	0	0	-	-	-	-
Hanöbukten	10 (100)	0	0	0	1 (100)	0	0	0
Regeneration	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig
Torhamn 8	-	-	-	-	4 (100)	0	0	0
Fjällbacka	2 (29)	1 (14)	2 (29)	2 (29)	-	-	-	-
Hanöbukten	0	3 (30)	6 (60)	1 (10)	1 (100)	0	0	0
Parameter Lokal	Tånglake Antal (%)				Vitling Antal (%)			
Glomeruliskada*	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %	Ingen	≤20 %	21 - 50 %	>50 %
Barsebäck	Ej bb	-	-	-	-	-	-	-
Fjällbacka	-	-	-	-	1 (20)	0	2 (40)	2 (40)
Tubuliskador	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig
Barsebäck	Ej bb	-	-	-	-	-	-	-
Fjällbacka	-	-	-	-	5 (100)	0	0	0
Regeneration	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig	Ingen	lindrig	måttlig	kraftig
Barsebäck	Ej bb	-	-	-	-	-	-	-
Fjällbacka	-	-	-	-	0	2 (40)	1 (20)	2 (40)

*% skadade av totala antalet synliga glomeruli

Ej bb=ej bedömningsbar

DISKUSSION

Obduktion

Få fynd gjordes vid obduktion och de som gjordes var inte oväntade. Karplöss förekommer på vild fisk och orsakar inget problem så länge de förekommer i låg frekvens på sin värd. Vid högre infektionsgrad kan sårskador uppstå.

Hyperpigmentering kan förekomma som en följd av retning i huden, till exempel vid avläkning av sårskador. Sårskador noterades hos torsk från Hanöbukten. Detta fenomen har tidigare utretts (SVA, 2016) och inget entydigt svar till problematiken erhöles.

Den förändring som bedöms som allvarligast var de multipla granulom som noterades hos tre torskar från Fjällbacka. Multipla granulom kan förväntas påverka organfunktionerna och därmed fiskens hälsa. Granulom likt de som observerades kan orsakas av flera typer av bakterier som växer intracellulärt och har kroniska sjukdomsförlopp. Här finns till exempel *Piscirickettsia salmonis* (lax), *Renibacterium salmoninarum* (laxfiskar), *Mycobacterium* sp. (diverse fiskarter) samt *Francisella noatunensis* (torsk med flera). Eftersom *F. noatunensis* är en känd patogen hos torsk (Zerihun et al., 2011; Ruane et al., 2015) och SVA vid ett tidigare tillfälle påvisat bakterien i svenska vatten, var detta huvudmisstanken. Misstanken bekräftades vid histopatologisk undersökning med immunohistokemisk färgning. Avseende frekvensen i torskfisk i området går det inte att säga något på grund av den lilla provstorleken samt att enbart liten torsk (<35 cm) provtogs, vilket gör att ingen medelstor eller stor torsk bedömts. Bakterien orsakar sjukdom redan på liten torsk (Ruane et al., 2015) och med tanke på den massiva granulomförekomst som noterades i infekterade torskar kan infektionen förväntas ha påverkat torskens tillväxt och överlevnadschanserna till vuxen ålder var små.

Histopatologi

Vid histopatologisk undersökning påvisas ofta förändringar såsom låggradiga inflammationer, parasiter med mera utan uppenbar påverkan på individen. Detta beror på att fisken rör sig fritt i vattnet och äter naturlig föda, vilket gör att den exponeras för omgivningen på ett annat sätt än odlad fisk. Låggradiga förändringar bedöms därför inte som onormalt.

När det gäller histologi finns tydliga artskillnader i organen, och detta gör att man inte kan jämföra histologiska fynd mellan arter. Till exempel ses ofta riklig energiupplagring i form av vakuoler i levern hos torsk, tånglake och skrubbskädda, vilket påverkar levercellernas utseende. Vakuoliseringsgraden påverkas också av årstiden (födötillgång). Cellsvullnad vid kraftig vakuolisering uppstår på grund av att vakuolerna tar upp plats, och graderas därmed inte lika allvarligt som cellsvullnad utan kraftig vakuolisering (då cellsvullnad kan vara ett akut svar på något främmande som cellerna utsätts för), utan vid kraftig förfettning är det främst degeneration av cellkärna, närvaron av extremt stora vakuoler och fettnekroser som avgör om tillståndet är normalt eller patologiskt (förfettning/steatos). Mängden makrofagcentra i lever, mjälte och njure varierar också med art, ålder och hur mycket immunstimulation i form av till exempel

patogener individen utsatts för (Noga, 2006) och detta är variabler som bör tas i åtanke vid bedömning.

En del intressanta förändringar utöver de massiva granulombildningar som sågs i relation till *Francisella*-infektioner, noterades hos de olika fiskarterna.

De leverförändringar som bedömdes som mest intressanta var de multipla inflammationshärdar som påvisades hos abborre. Härdar påvisades också ofta i hjärtan, men fynden kunde inte korreleras till specifika bakteriefynd då prover från vissa fiskar var utan bakterieväxt och där bakterier växte varierade fynden (till exempel *V. anguillarum*, *P. shigelloides*). I några fall bedömdes inflammationen potentiellt kunna påverka individens hälsa, men inget onormalt hade noterats vid obduktion. Fem torsk och en tånglake bedömdes vara drabbade av steatos (leverförfettning). Orsaken till förfettningen är oklar, men har tidigare beskrivits som kopplad till kraftig miljöpåverkan (Bucke & Feist, 1993; Peters et al., 1987).

Njurarna var ofta påverkade av autolys vilket försvårade bedömningen, men noterbart var att det hos skrubbskädda, torsk och vitling var hög grad av degeneration på glomerulinstan. Detta är den enhet i njuren som filtrerar avfall (urea, salter med mera) från blodet, och skador leder därför till en försämrad reglering av kroppens homeostas. Resterande delar av nefronen (tubuli) kunde sällan bedömas på grund av autolys, men intressant var att nybildade nefron observerades i många fall, även hos abborre där inga glomeruliskaador noterades. Detta indikerar att någon grad av skada ändå förelåg i njuren.

Låggradiga inflammationer i hjärthinnan (synliga enbart mikroskopiskt) förekommer relativt vanligt hos vild fisk och kan till exempel bero på parasitinfektioner. Även här noterades ofta lindrig förekomst av inflammatoriska celler, men detta tillmättes ingen betydelse.

Inflammationshärdar i hjärtmuskulaturen sågs inte bara hos abborre utan även hos torsk och vitling. Ofta var det spridda, mindre härdar och orsaken och betydelsen är oklar. Orsaken till den inflammation som sågs hos en vitling, där omogen bindväv växte invasivt in i hjärtmuskulaturen från hjärtats yta är oklar. Fyndet avvek klart från alla andra fynd av hjärtmuskulinflammation och liknade en tumör i växtsättet, men ingen malign celledelning kunde påvisas varför det bedömdes som en reaktion på den inflammation som noterades i området.

Gälarna var mycket svårbedömda på grund av autolys, och ytterligare en faktor som försvårade bedömningen var att det ofta bara fanns en bit från en gälbåge att bedöma. För en ordentlig bedömning behövs ett stort antal primärlameller. En del fynd av parasiter gjordes, men inget som bedömdes som allvarligt inverkan på fiskarnas hälsa.

Bakteriologi

Flera arter av *Vibrio* sp. påvisades. *Vibrio anguillarum* är en känd fiskpatogen för ett flertal fiskarter, särskilt lax (Actis et al., 2011). Bakterietypen kan delas in i ett flertal olika varianter baserat på olika virulensfaktorer mm., och miljöisolat som inte är patogena förekommer (Larsen & Pedersen, 1999). En vanlig klassificering är utifrån O-antigenet, där 10 serotyper (O1-O10) beskrivits (Actis

et al., 2011). O1 och O2 är de dominerande serotyperna (O1 hos lax m.fl, O2 dominerar hos torsk och ål) (Larsen & Pedersen, 1999). I det här projektet typades arten så långt som att det inte var serotyp O1 eller O2. *Vibrio anguillarum* serotyp O3 var inblandad i massdöd på sill vid Orust för några år sedan (ej publicerade data, SVA). Fyra av fem infekterade fiskar i det här projektet var sillar, varför det skulle vara intressant att gå vidare och jämföra isolaten med isolatet från utbrottet. *Vibrio vulnificus* kan orsaka sjukdom på ål och är även zoonotisk (Actis et al., 2011). *Vibrio aesturianus* är framför allt associerad med sjukdom på musslor och ostron, men har isolerats från fisk (Scarano et al., 2014). *Aeromonas* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Providencia rettgeri* och *Myroides odoratimimus* kan alla orsaka sjukdom på fisk (Faisal et al., 1987; Ravindran et al., 2015; Pečala-Safińska, 2018). De två senare, liksom *Morganella morganii* förefaller vara mer varmvattenanpassade, och det är oklart om de är nya för våra vatten eller om de funnits här en längre tid. *Morganella morganii* kan återfinnas i tonfisk, producerar histamin (Bjornsdottir-Butler et al., 2015) och är dessutom en opportunistisk humanpatogen (Liu et al., 2016), *Providencia rettgeri* har påvisats kunna producera det potenta nervgiftet tetrodotoxin (Tu et al., 2014) och *Myroides odoratimimus* är en opportunistisk humanpatogen (Ravindran et al., 2015), vilket gör att alla tre bakterierna är intressanta ur ett humanhälsoperspektiv.

Sammanfattning fynd

Sammanfattningsvis fanns en del intressanta fynd histopatologiskt och bakteriologiskt, men bara fynden av *Francisella* kunde kopplas till uppenbara organförändringar med sannolik negativ effekt på fiskhälsan.

Metoder

Målsättningen vad gäller urval av fisk som ska provtas bör bli tydligare och målarter måste fastställas på förhand. Likaså vilka fiskar i fångsten som ska provtas. Det går dock inte att helt förutsäga hur artsammansättning och fångststorlek kommer att se ut på respektive lokal, varför tiden för respektive provtagning kan bli mer än de två dagar per lokal som disponerats inom ramarna för detta projekt. Inför pilotprojektet var en av målsättningarna att hälften av den insamlade fisken skulle vara torsk. Detta för att kunna använda den vidare i projektet "Sälhälsa, zoonoser, säl- och torsksmask", SVA Dnr 2018/278, som också finansieras av HaV. Denna målsättning kunde inte mötas, då torsk av tillräcklig storlek endast fångades i Hanöbukten, förmodligen främst på grund av att den ovanligt varma sommaren förändrade torskens utbredning.

Ett framtida program för hälso- och sjukdomsövervakning hos vild fisk måste designas så att insamlat data möter det behov som finns för förvaltningen av resursen, både nationellt och internationellt. ICES har i ett dokument sammanställt de slutsatser och rekommendationer som tagits fram i två workshops (1984 och 1988) där målsättningen var att ta fram standardiserade metoder för provtagning, analys och rapportering av fisksjukdomar (Bucke et al. 1996). ICES har även tagit fram Fish Disease Index (FDI) (Lang, T. & Wosniok, W. 2008; ICES 2015), där standardprotokoll för vad som ska undersökas och hur det ska graderas finns angivet. Det ursprungliga protokollet togs fram för

sandskägda men protokoll har även utarbetats för torsk, skrubbskägda och sill, vilka kan vara mer lämpliga arter att provta ur svensk synvinkel. För framtida provtagning och övervakning av vildfisk bör utgångspunkt tas i dessa internationellt framarbetade metoder och instruktioner. Antalet fiskar som provtas måste anpassas efter de statistiska behov som finns. Ett prov bestående av 250 fiskar skulle med ett 95-procentigt konfidensintervall kunna påvisa sjuklighet med en prevalens av 1,5 % inom en population. Det är också viktigt att samla in data som är jämförbara år efter år och som också går att använda ur ett internationellt perspektiv.

Ett problem med upplägget med att delta i SLU:s kustnära provfisken uppdagades vid den histopatologiska bedömningen. Fisken hade ofta varit död en tid (ex dött i näten under natten), vilket återspeglades i kvaliteten på snitten, särskilt tydligt var detta i gäle och njure. Föruttnelseprocessen hade hunnit börja innan proverna fixerades i formalin och den histopatologiska bedömningen försvårades eller i vissa fall omöjliggjordes på grund av detta. Fortsatt provtagning enligt den modell som användes 2018 kan därför anses vara meningslösa.

För att få användbara prover av så bra kvalitet som möjligt bör fisken avlivas efter hand som den ska undersökas och provtas. Som exempel kan nämnas provfiske som genomförs med trål. Då det första tråldraget är avslutat finns tid att jobba med bearbetning av fångst och provuttag medan ett andra tråldrag genomförs på samma plats. På detta vis har provtagande personal en jämn tillförsel av färsk fisk att ta prover från. Detta förutsätter att de som provtar fisken finns med på fiskefartyget och att en arbetsplats finns iordningställd för detta ändamål. Detta säkerställer god provkvalitet hos alla fiskar i urvalet (dr Werner Wosniok, personlig kommunikation).

FORTSÄTTNING

SVA föreslår att medel tilldelas under 2019 för att anställa personal som noggrant går igenom befintliga ICES-dokument och utifrån dessa designar ett svenskt program som möter internationella kriterier och rekommendationer för övervakning av fiskhälsa. I arbetet med att ta fram detta program måste dialog föras med SLU om hur befintliga provfisken kan nyttjas för provtagning, eller hur dessa eventuellt behöver anpassas för att uppfylla även detta programs behov. Utöver föreslagen provtagning av vilda fiskpopulationer bör medel avsättas till en akutfond för att kunna hantera och följa upp rapporter och samtal från allmänheten om sjuka eller döda fiskar och skaldjur. Vid akuta fall av sjuklighet och massdöd måste det finnas medel tillgängliga för att utan dröjsmål kunna hämta in underlag för undersökning av orsak och spridning. En viktig del av övervakningen av vilda fiskpopulationer är att kunna fortsätta driva rapportportalen, informera om denna samt sammanställa och rapportera inkomna uppgifter.

En preliminär uppskattning av de personella resurser som behövs för ledning, administration och den faktiska provtagningen inom programmet är en årsarbetskraft. Denna uppskattning innefattar inte något av det arbete som krävs för själva provfisket. SLU har i en rapport till HaV (Øresland 2015) redogjort för vilka deras befintliga övervakningsprogram på fisk som skulle kunna nyttjas i syfte att samla in prover till ett fiskhälsoövervakningsprogram.

Rapporten har sammanställts av: t.f. statsveterinär Charlotte Axén, biolog Johan Lundgren och laboratorietekniker Sara Johansson, SVA Fisk. Författarna vill rikta ett stort tack till all övrig inblandad personal vid SVA och SLU som gjort genomförandet av projektet möjligt.

REFERENSER

Actis, L.A., Tolmasky, M.E., Crosa, J. H. (2011). *Vibriosis. I: Fish diseases and disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal infections*. Andra upplagan, Woo, T.K., Bruno, D. W (red). CAB International, Wallingford, Storbritannien.

Björnsdottir-Butler, K., Bowers, J.C., Benner, R.A. Jr. Prevalence and Characterization of High Histamine-Producing Bacteria in Gulf of Mexico Fish Species. *J Food Prot* 78(7), 1335-1342.

Bucke, D., Feist, S.W. (1993). Histopathological changes in the liver of dab, *Limanda limanda* (L.). *J Fish Dis*, 16 (4), 281-296

Bucke, D., Vethaak, A.D., Lang, T., Mellergaard, S. (1996). Common diseases and parasites of fish in the North Atlantic: Training guide for identification. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences* 19, 27 pp

EU. 2015. Kommissionens genomförandebeslut (EU) 2015/1554 av den 11 september 2015 om tillämpningsföreskrift för direktiv 2006/88/EG vad gäller krav för övervakning och diagnostiska metoder. Bilaga II. Del 1.

Faisal, M., Popp, W., Refai, M. (1987). High mortality of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* caused by *Providencia rettgeri*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 100(7), 238-240. Artikel på tyska

Havs- och vattenmyndigheten. (2013). Hanöbuktsutredningen. Rapport av regeringsuppdrag. 2013-10-31

Havs- och vattenmyndigheten. (2018). Uppdrag att övervaka miljön i Hanöbukten under tre år för att undersöka eventuella samband mellan miljöfarliga ämnen och fiskhälsa. Avrapportering av regeringsuppdrag M2014/1350 Nm.

ICES. (2015). Report of the Working Group on Pathology and Diseases of Marine Organisms (WGPDMO), 24-28 February 2015, Helsinki, Finland. ICES CM 2015/SSGEPI:01. 124 s.

Lang, T., Wosniok, W. (2008). The Fish Disease Index: a method to assess wild fish disease data in the context of marine environmental monitoring. ICES CM 2008/D:01. 13 s.

Larsen, J.L., Pedersen, C. (1999). Infektioner med *Vibrio*-bakterier. I: Fiskehelse og fiskesykdommer. Poppe, T. (red). Universitetsforlaget AS, Oslo, Norge.

Liu, H., Zhu, J., Hu, Q., Rao, X. (2016). *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *Int J Infect Dis* 50, 10-17.

Naturvårdsverket. (2005). Effekter av miljögifter på däggdjur, fåglar och fiskar i akvatiska miljöer. Rapport 5908. Reviderad december 2008.

- Noga, E.J. (2006). Spleen, Thymus, Reticulo-Endothelial system, Blood. I: Systemic Pathology of Fish. A text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Anda utgåvan, Ferguson, H.W. (red), Scotian Press, London, Storbritannien. www.scotianpress.com
- Pełkala-Safińska, A.(2018). Contemporary Threats of Bacterial Infections in Freshwater Fish. J Vet Res 62(3), 261-267.
- Peters, N., Köhler, A., Kranz, H. (1987). Liver pathology in fishes from Lower Elbe as a consequence of pollution. Dis Aquat Org 2, 87-97.
- Ravindran, C., Varatharajan, G.R., Raju, R., Vasudevan, L., Anantha, S.R. (2015). Infection and pathogenecity of *Myroides odoratimimus* (NIOCR-12) isolated from the gut of grey mullet (*Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758)). Microb Pathog 88, 22-28.
- Ruane, N.M., Bolton-Warberg, M., Rodger, H.D., Colquhoun, D.J., Geary, M., McCleary, S.J., O'Halloran, K., Maher, K., O'Keefe, D., Mirimin, L., Henshilwood, K., Geoghegan, F., Fitzgerald, R.D. (2015). An outbreak of francisellosis in wild-caught Celtic Sea Atlantic cod, *Gadus morhua* L., juveniles reared in captivity. J Fish Dis. 38(1), 97-102.
- Scarano, C., Spanu, C., Ziino, G., Pedonese, F., Dalmasso, A., Spanu, V., Viridis, S., De Santis, E.P. (2014). Antibiotic resistance of *Vibrio* species isolated from *Sparus aurata* reared in Italian mariculture. New Microbiol 37(3), 329-337.
- SVA. (2016). Kartläggning av omfattningen av sårskadad fisk i Hanöbukten. Redovisning av regeringsuppdrag M2014/1349 Nm.
- Tu, N., Tu, Q., Tung, H., Hieu, D., Romero-Jovel, S. Detection of tetrodotoxin-producing *Providencia rettgeri* T892 in *Lagocephalus* pufferfish. World J Microbiol Biotechnol 30(6), 1829-1835.
- Zerihun, M.A., Feist, S.W., Bucke, D., Olsen, A.B., Tandstad, N.M., Colquhoun, D.J. (2011). *Francisella noatunensis* subsp. *noatunensis* is the aetiological agent of visceral granulomatosis in wild Atlantic cod *Gadus morhua*. Dis Aquat Organ 95(1), 65-71
- Øresland, V. (2015). Fishhälsa. Rapport till Havs- och vattenmyndigheten, 26 s. Dnr SLU.aqua. 2015.5.4-88.