

Risikoanalyse- Vertikal smitte med BKD Averøy Industripark

Oppdrag

I forbindelse med oppstart av et nytt landbasert akvakulturanlegg i Smedvågen i Averøy kommune er det ønskelig med en risikovurdering knyttet til inntak av rogn med bærertilstand av bakterien *Renibacterium salmoninarum* som forårsaker sykdommen Bakteriell nyresyke (BKD). Landnlegget skal baseres på resirkulering og produsere fisken helt frem til slaktevekt. Dette stiller større krav til at all rogn som blir levert anlegget er fri for agens og at vannkildene er frie for bakterier av denne arten som kan utløse sykdom på fisken gjennom hele produksjonen hos Averøy Industripark AS.

Risikomatrise MarinHelse AS

5	10	15	20	25	>12	Kritisk
4	8	12	16	20	6-12	Betydelig
3	6	9	12	15	<6	Ubetydelig
2	4	6	8	10		
1	2	3	4	5		

Sannsynlighetsmodell

Nivå	Sannsynlighet
1	>10 år
2	5-10 år
3	2-5 år
4	0,5-2 år
5	< 0,5 år

Konsekvensmodell

	Nivå	Beskrivelse
1	Ubetydelig	Ubetydelige skader eller belastninger på mennesker, fisk og/eller materielle verdier
2	Mindre alvorlig	Små skader eller belastninger på mennesker, fisk og/eller materielle verdier
3	Alvorlig	Alvorlige skader og belastninger på mennesker, fisk og/eller materielle verdier
4	Kritisk	Kritiske skader på mennesker, fisk og/eller materielle verdier
5	Katastrofal	Katastrofal skade eller belastning på mennesker, fisk og/eller materielle verdier

Aktuell vurdering:

Risikofaktorer	Ønsket beskyttelsesnivå	Sannsynlighet	Konsekvens	Risiko	Risikohåndtering
Utbrudd av BKD på grunn av vertikal overføring		> 10 år (1)	Kritisk (4)	4	1) Kun innkjøp av rogn fra foreldre som er individtestet negativt for BKD 2) Ekstra desinfeksjon av rogn ved ankomst anlegg 3) Screening for BKD under drift helt frem til slaktetidspunkt
Utbrudd av BKD som et resultat av at bakterien er kommet inn via råvannskildene		> 10 år (1)	Kritisk (4)	4	1) Behandling av begge typer inntaksvann

Bakgrunnsdata BKD

Bakteriell nyresjuka på laksefisk er en alvorlig, kronisk sykdom som skyldes infeksjon med bakterien *Renibacterium salmoninarum*. Sykdommen rammer i hovedsak laksefisk. Sykdommen er meldepliktig i Norge og står på liste 3; Nasjonale sykdommer. Sykdommen blir ofte forkortet BKD, som står for Bacterial Kidney Disease også ble også tidligere kjent som Dee Disease. Sykdommen ble sannsynligvis identifisert for første gang nesten samtidig i USA og Skottland på 1930 tallet. BKD har siden blitt påvist hos diverse laksefisk verden rundt (Brynildsrud et al. 2014), både vill og i oppdrett. De fleste tidligere påvisninger i Norge har vært i forbindelse med kultiveringsarbeid på laks og sjørøye, men i dag registreres BKD oftere i noen få (0-3) årlige tilfeller hos laks i sjøoppdrett. BKD er en kronisk, snikende sykdom, som ofte medfører livslang bærertilstand. Endemisk smittet villfisk representerer antakelig det viktigste infeksjonsreservoaret. Bakterien kan også smitte vertikalt fra hunnfisken til avkommet. Kliniske sykdomstegn kan være sparsomme, og 'typiske tegn' kan ta tid å utvikle. Typiske patologiske forandringer etter langvarig infeksjon inkluderer utstående øyne og buk, hudsår, anemi og hvite knuter, særlig i et svullent nyre, men også på andre indre organer som lever, milt og hjerte.

Smittestoff og smitteveier

Bakteriell nyresjuka (Bacterial Kidney Disease - BKD) forårsakes som nevnt av bakterien *Renibacterium salmoninarum*. I Norge oppstår BKD hovedsakelig etter horisontal smitte fra infisert villaks til oppdrettslaks holdt i merd i sjøen. Infisert/syk fisk vil da skille ut bakterien, slik at horisontal spredning øker prevalensen i populasjonen. Smitten kan videre opprettholdes i populasjoner gjennom vertikal smitte fra infiserte foreldre dyr til avkom. Vaksinasjon med en levende *Arthrobacter* sp. basert vaksine har vist seg å gi en viss grad av kryssbeskyttelse mot *R. salmoninarum* i atlantisk laks (Salonius et al. 2005), men det finnes ingen godkjent kommersiell vaksine i Norge. Antibiotikabehandling reduserer dødelighet, men eliminerer ikke infeksjonen (Elliott et al. 2014). Stamfiskkontroll for *R. salmoninarum* infeksjon er derfor det viktigste forebyggende bekjempelsestiltaket. Infeksjonen kan overføres fra en generasjon til neste gjennom infisert rogn. Under naturlige forhold hos oss regnes ikke BKD som noen vesentlig trussel mot de viltlevende laksefiskbestandene, da en kun har sett enkeltfisk med BKD i noen få vassdrag. I de tette bestandene som holdes i kultiveringsanlegg eller oppdrett, kan derimot BKD ramme hardt med stor dødelighet. Ved kjønnsmodning kan bærertilstand endres til aktiv infeksjon med mye bakterier, uten at en ved obduksjon ser de typiske patologiske forandringer som tar noe tid å utvikle.

BKD er en sykdom som i første rekke forekommer hos laksefisk. Bakterien *R. salmoninarum* har imidlertid også blitt påvist hos noen få fiskearter utenfor laksefamilien, for eksempel japansk Ayu, *Plecoglossus altivelis* (Nagai og Iida 2002) og stillehavsløse (Merluccius productus). Risikoen for BKD-infeksjon fra eller til ville eller oppdrettede marine fiskearter er derfor ikke totalt fraværende, men regnes som svært lav. Hovedrisiko for overføring av *R. salmoninarum*-infeksjon vil derfor være mellom vill og oppdrettet laksefisk. Bakterien har en begrenset evne til å overleve i miljøet (Austin og Austin 2007), og prevalensen blant infisert oppdrettslaks/regnbueørret i merd i sjøen i Norge er generelt lav. Dette tyder på en ikke alt for høy infektivitet. Diverse overvåkningsaktiviteter rettet mot *R. salmoninarum*-infeksjon i oppdrettsfisk og villfanget stamfisk til kultivering tyder på en lav prevalens i både oppdrettet og vill laksefisk i Norge (Gjevre og

Svendsen 2018). Det er spekulert i at *R. salmoninarum* kan bæres i lavt antall i en parasittisk tilstand i vill laksefisk uten tegn til sykdom (Austin og Austin 2007), og at diverse faktorer som kjønnsmodning, stress osv kan føre til at bakterien aktiveres og gir sykdom. Gitt den lave prevalensen blant norsk oppdrettsfisk antas risikoen for smitte fra oppdrettsfisk til villfisk å være svært liten.

Forekomst

Global utbredelse i de områder der det forekommer laksefisk naturlig eller etter utsett, med mulig unntak av Australia. BKD ble første gang påvist i Skottland på vill laks fra elvene Spey og Dee på 1930-tallet.

I Norge ble BKD første gang påvist av Veterinærinstituttet i 1980 på avkom fra vill stamlaks. I Norge har BKD aldri vært påvist hos innlandsørret, eller hos anadrome arter i vassdrag som renner ut i Oslofjorden. De fleste BKD utbrudd har forekommet på Vestlandet der flere vassdrag må regnes som endemisk "smittet". Videre har det i de senere år vært noen utbrudd i oppdrettsanlegg i Nord-Norge, dels på fisk importert fra Island. De siste 10 årene har forekomsten vært liten, fra 0 til 3 diagnostiserte tilfeller pr. år. Kjente, mottakelige arter er laks og brunørret/sjøørret (*Salmo* spp), stillehavslaks, regnbueørret (*Oncorhynchus* spp), røye (*Salvelinus* spp) og harr (*Thymallus thymallus*). BKD-situasjonen hos villaks i Norge må betraktes som endemisk med en stabil veldig lav prevalens i noen områder, noe som representerer et lavt, men stabilt trusselnivå overfor oppdrettslaks i sjøen.

Sykdomstegn og obduksjonsfunn

BKD er en kronisk sykdom og livslang bærertilstand mht. infeksjonen forekommer. Kliniske sykdomsutbrudd har ofte kommet i april-mai i klekkerier som driver kultiveringsvirksomhet på laks og sjørøye. I oppdrett har en oftest hatt påvisninger av BKD etter unormal dødelighet på smolt en tid etter sjøutsett.

Ferskvann: Ødeleggelse av nyrene kan gi osmoregulatoriske (saltbalansen) problem slik at fisken får utstående øyne og væske i bukhulen. Typiske obduksjonsfunn er anemi (bleke organer) og lyse hvite knuter i en svullen nyre. I nyren kan knutene bli ganske store og konfluerende, mens det ved spredning av infeksjonen til andre organer sees mange, små, hvite knuter (<2 mm) som er lettest synlig i mørke organ som milt. Små fisk som blir funnet døde, kan bli karakterisert som uegnet for undersøkelse, fordi en uttalt renibacteriose på disse kan minne om forråtnelse. Tidlig i forløpet kan det forekomme små hudblødninger som utvikles til små, kraterformede hudsår. Kjønnsmoden regnbueørret kan ha en forbigående tilstand med bare hudsår – kalt "spawning rash".

Sjøvann: På slaktefisk finner en såkalte svimere med hvite knuter i nyre, ev flere organer, sparsom væske i bukhule, av og til utstående øyne pga plasskrevende betennelsesvev i øyehule. Ved lav temperatur kan en ha kroniske forløp med bukhulebetennelse der det kan se ut som bukhuleorganene er pakket inn i "bomull" (fibrin).

Diagnostikk

Før de typiske vertsreaksjoner i form av hvite knuter er tydelige kan diagnosen by på utfordringer. De syke fiskene vil være anemiske og vev er delvis fordøyd av renibakteriene. Dette kan til forveksling likne kadaverose, og ved direkte nativ mikroskopi er det vanskelig å se de ubevegelige bakteriene, og Gram-farging gir ikke alltid sterkt gram-positiv farge. Dyrker en fra nyrene på blodagar, vil en ikke få oppvekst da renibakteriene krever spesialmedium for å vokse.

Aktuelt prøvemateriale er syk eller nylig død fisk med forandringer forenlige med det beskrevet over. Histopatologi eller direkte mikroskopi av Gramfarget materiale fra lesjoner kan benyttes for utvelgelse av materiale for laboratorietesting mht *R. salmoninarum*.

Histopatologisk er forandringene ved BKD granulomatøse betennelsesforandringer og nekroser i varierende grad. På yngel/unger kan en se tilfeller med lite vertsreaksjoner, men med store nekroser fulle av bakterier som imidlertid kan være svært vanskelige å se ved standard HE-farging. Ved histologi er diagnosen enkel når den karakteristiske betennelsesreaksjonen er tilstede, og en benytter da immunhistokjemi for å påvise bakterien i lesjonene.

Ved mulig første gangs påvisning må en sikre materiale for å verifisere diagnosen bl.a ved å dyrke bakterien. Enklest gjøres dette ved å fryse ned vev fra lesjoner i nyre og evt andre organer. Sår og knuter i organer med bløt tekstur (nekroser) vil oftest inneholde mye bakterier, mens harde knuter (granulomer) har svært variabelt bakterieinnhold.

PCR har gitt gode resultater for indirekte påvisning av *R. salmoninarum* og brukes nå rutinemessig i kombinasjon med andre metoder.

Andre aktuelle prøver enn hel fisk er nyrevevsavtrykk eller utstryk fra lesjonsmateriale for IFAT, evt Gram, PAS. Det er også aktuelt med formalinfiksert, ferskt eller frosset vev fra lesjoner i nyre eller andre organer. Ved stamfisk-kontroll er prøvematerialet nyrevev eller melke/rognvæske, ferskt kjølt eller frosset for kontroll mht agensforekomst vha ELISA.

BKD er en meldepliktig sykdom der tiltak kan gi store økonomiske konsekvenser. Diagnosen skal derfor verifiseres ved at en har sykdomsfunn forenlig med BKD samt påvisning av infeksjon med *R. salmoninarum* vha minst to laboratorietester basert på ulike biologiske prinsipper. Selv om bakterien kan ta flere uker å dyrke fram, er dette ikke vanskelig fra syk fisk og bør alltid gjøres ved nye utbrudd. En systematisk innsamling av slike isolater kan på sikt gi kunnskap om spredningsmønstre vha molekylære markører, og danne grunnlag for å utvikle vaksiner som dekker de eventuelle varianter av bakterien som opptrer.

Forebygging og kontroll

Da det ikke finnes effektive medikamenter eller vaksiner, er bekjempelsestiltaket først og fremst å unngå infeksjon, og slakte eller destruere infiserte bestander. I kultiveringsarbeidet legges stor vekt på å unngå BKD i klekkeriene, slik at en ved utsett ikke forverrer den naturlige sjukdomssituasjonen. I oppdrett blir BKD i stamfiskbestander ikke tolerert og utsett av smolt med mulig smitte blir enten forbudt eller strengt regulert.

Når det gjelder bekjempelse er det for stamfisk en nulltoleranse, den vertikale smitteoverføringen gjør at det å holde stamfisk-populasjonene fri for BKD er det viktigste, forebyggende bekjempelsestiltak. Et vanlig tiltak er å intensivere overvåkingen vår og sommer før stamfisken overføres til ferskvann. Da kan en oppdage BKD så tidlig at den påtenkte stamfisken stadig er mulig å slakte og erstatte med smittefri populasjon. Dette vil begrense tapene sterkt.

For smolt før utsett i settefiskanlegg gjelder at grupper med sykdom bør ikke settes ut. Ved begrenset utbrudd og god intern smittehygiene kan sykdomsfrie grupper vurderes satt ut på få, isolerte lokaliteter.

For smolt rett etter utsett: Lokalitet båndlegges, men fisken blir ikke forlangt utslaktet, slik at tidspunkt for utslakting blir en vurdering av ulempene ved båndlegging, fare for sykdomstap etc. Da BKD var mer utbredt på 80-tallet ble slaktefisk-oppdretter i enkelte tilfeller oppmerksom på sykdommen kort tid etter sjøsetting. De fjernet så fisken umiddelbart og unngikk da videre BKD-problemer.

For slaktefisk gjelder at et "alt ut – alt inn" prinsipp skal følges. Om en oppdager BKD på slaktefisk som har stått i sjø over lengre tid, er det mindre håp om å unngå smittespredning innen anlegget. Båndlegging av anlegget mht ut- og innførsel av levende fisk og hygieniske tiltak ved utslakting og brakklegging etterpå er viktigste tiltak.

Ved ethvert BKD utbrudd i Norge er det uhyre viktig å spore smitten. Det snikende forløpet gjør at selv ganske beskjedne sykdomsutbrudd kan være tegn på at noe har gått galt f.eks i et avlssystem. Infiseres alle stamfiskpopulasjoner har en fått et nær u håndterlig BKD problem, da ingen så langt har greid å "rense" en populasjon for denne smitten.

Effektive vaksiner er så langt ikke tilfredsstillende dokumentert og er helt uaktuelt så lenge en har lite BKD problemer. Vaksine kan gjøre sykdomsforløpet enda mer snikende og skjule en langsom smitteutbredelse som eller ville blitt stoppet.

Bakterien er følsom for erythromycin. Slik behandling er neppe aktuelt for annet enn ved kultiveringsarbeid med utrydningstruede stammer der en ikke kan erstatte infisert avlsmateriale med BKD fri fisk. Samtidig har en injisert erythromycin på stamfiskene. Injeksjonsbehandling av stamfisk har til tider også vært prøvd innen kommersielt oppdrett, men kan ikke anbefales annet enn om alle kilder til BKD fri stamfisk skulle være borte.

Konklusjon

Bakteriell nyresyke er en sykdom som i perioden 2005-2011 ble fulgt i et større nasjonalt overvåkningsprogram. Over 22.000 prøver ble tatt i denne perioden, alle var negative. Ser man på antall utbrudd de siste 15 år, så er BKD en sykdom som kun opptrer sporadisk og det har ligget mellom 0-3 utbrudd de siste 10 årene. Den strategien som har blitt valgt for kontroll og oppfølging av denne sykdommen i Norge har vært svært god og kostnadseffektiv. Denne strategien har hatt en utvidet kontroll og overvåking av stamfiskpopulasjoner som hovedfokus. På bakgrunn av resultatene knyttet til denne håndteringen er det forsvinnende lite biologiske effekter av denne sykdommen i Norge i dag. På bakgrunn av dette ser vi ikke at det er nødvendig for det nye

anlegget i Smedvågen å iverksette ytterligere tiltak overfor denne sykdommen utover de som allerede er implementert i driften på det nye anlegget hvor det skal være mulig å gjennomføre gode generelle smittehygieniske tiltak på alle nivåer. Rogna vil være individtestet fri for BKD og dette vil være den viktigste barrieren. Vannbehandlingen er oppgradert betydelig i forhold til sammenlignbare anlegg og forutsatt at de planlagte fysiske barrierene gjennom membranfiltrering samt påfølgende UV-bestråling i doble systemer og forøket styrke har effekt, vil risikoen være tilnærmet fraværende og dette skulle eliminere risikoen for at bakterien skulle tas opp med råvannstypene.

På bakgrunn av de overfor nevnte momenter anser vi det som svært usannsynlig at vertikal smitte og smitte via inntaksvann av det omtalte agens vil forekomme. Risikoen vil være ubetydelig.

Per Anton Sæther
Akvaveterinær
MarinHelse AS

Referanser

- Bell, G. R., Hoffmann, R. W., and Brown, L. L. 1990. Pathology of experimental infections of the sablefish, *Anoplopoma fimbria* (Pallas), with *Renibacterium salmoninarum*, the agent of bacterial kidney disease in salmonids. *Journal of Fish Diseases*, 13: 355–367.
- Benediktsdóttir, E., Helgason S., and Gudmundsdóttir, S. 1991. Incubation time for the cultivation of *Renibacterium salmoninarum* from Atlantic salmon, *Salmo salar* L. broodfish. *Journal of Fish Diseases*, 14(1): 97–102.
- Bruno, D. W. 1986. Histopathology of bacterial kidney disease in laboratory infected rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 9(6): 523–537.
- Bruno, D. W., and Munro, A. L. S. 1986. Observations on *Renibacterium salmoninarum* and the salmonid egg. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1: 83–87.
- Bruno, D. W. 1988. The relationship between auto-agglutination, cell surface hydrophobicity and virulence of the fish pathogen *Renibacterium salmoninarum*. *FEMS Microbiological Letters*, Volume 51, Issue 2: 135–140.
- Bruno, D. W. 2004. Prevalence and diagnosis of bacterial kidney disease (BKD) in Scotland between 1990 and 2002. *Diseases of Aquatic Organisms*, 59(2): 125–130.
- Elliott, D. G., Wiens, G. D., Hammell, K. L., and Rhodes, L. D. 2014. Vaccination against Bacterial Kidney Disease. In *Fish Vaccination*. Ed. by Gudding, R., Lillehaug, A. and Evensen, Ø. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK. doi: 10.1002/9781118806913.ch22 Evelyn, T. P. T., Prospero-Porta L., and Ketcheson, J. E. 1986. Experimental intra-ovum infection of salmonid eggs with *Renibacterium salmoninarum* and vertical transmission of the pathogen with such eggs despite their treatment with erythromycin. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1: 197–202.
- Fryer, J. L., and Saunders, J. E. 1981. Bacterial kidney disease of salmonid Fish. *Annual Review of Microbiology*, 35: 273–298.
- Grayson, T. H., Coopers, L. F., Wrathmell, A. B., Roper, J., Evenden, A. J., and Gilpin, M. L. 2002. Host responses of *Renibacterium salmoninarum* and specific components of the pathogen reveal mechanisms of immune suppression and activation. *Journal of Immunology*, 106(2): 273–283.

Hall, M., Soje, J., Kilburn, R., Maguire, S., and Murray, A. G. 2014. Cost-effectiveness of alternative disease management policies for Bacterial kidney disease in Atlantic salmon aquaculture. *Aquaculture*, 434: 88–92.

Kent, M. L., Traxler, G. S., Kieser, D., Richard, J., Dawe, S. C., Shaw, R. W., Prospero Porta G., Ketcheson, J., and Evelyn, T. 1988. Survey of salmonid pathogens in ocean-caught fishes in British Columbia. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10(2): 211–219. 4 |

Bacterial kidney disease Mackie, T. J., Arkwright, J. A., Pryce-Tannatt, T. E., Mottram, J. C., Johnston, W. P., Menzies, W. J. M., and Martin, W. 1933. Second Interim Report of the Furunculosis Committee. HMSO, Edinburgh, 81 pp.

Nagai, T., and Iida, Y. 2002. Occurrence of bacterial kidney disease in cultured ayu. *Fish Pathology*, 37(2): 77–81. Pfeil-Putzien, C., Hoffmann, R., and Popp, W. 1985. Preliminary report on the occurrence of bacterial kidney disease in Germany. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 5: 30–31.

Rimaila-Päränen, E. 2002. First case of bacterial kidney disease (BKD) in whitefish (*Coregonus lavaretus*) in Finland. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 22(6): 403–404.

Smith I. W. 1964. The occurrence and pathology of Dee Disease, Edinburgh: Department of Agriculture and Fisheries for Scotland. pp. 1–13.

Weins, G. D. 2011. Bacterial kidney disease (*Renibacterium salmoninarum*). In *Fish Diseases and Disorders Vol 3. Viral, Bacterial and Fungal Infections*. 2nd Edition. p. 338–374. Ed. by Woo, P. T. K. and Bruno D. W. CAB International.