



Kan ILA virus spres via rogn og melke?

Espen Rimstad,
NMBU- Veterinærhøgskolen



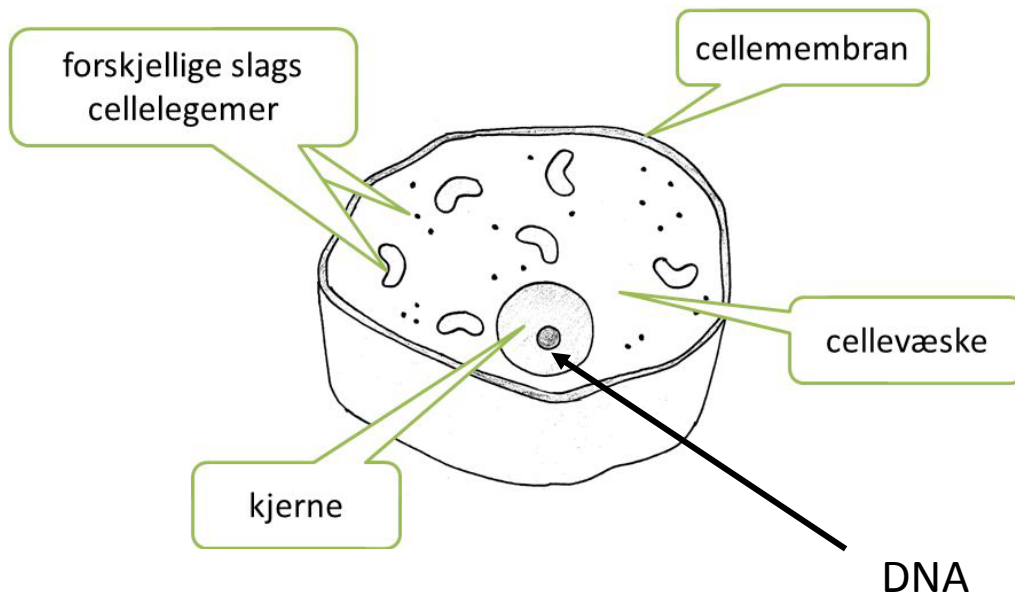
Vertikal overføring – definisjoner, risikovurdering

- OIE's Aquatic Animal Health Code (2008) har følgende definisjon på vertikal overføring:
- “Vertical transmission means the transmission of a pathogen from a parent aquatic animal to its progeny via its sexual products”.
- Vertikal overføring av smitte hos fisk vil si at foreldrefisk smitter avkom via rogn og melke. Begrepet er uavhengig av om smittestoffet befinner seg på innsiden eller utsiden av egget.
- “Vertical transmission” er ikke definert i OIE's Aquatic Animal Health Code (2016).
- VKM rapport: **Risikovurdering - stamfiskovervåking og vertikal smitteoverføring. 2011.**

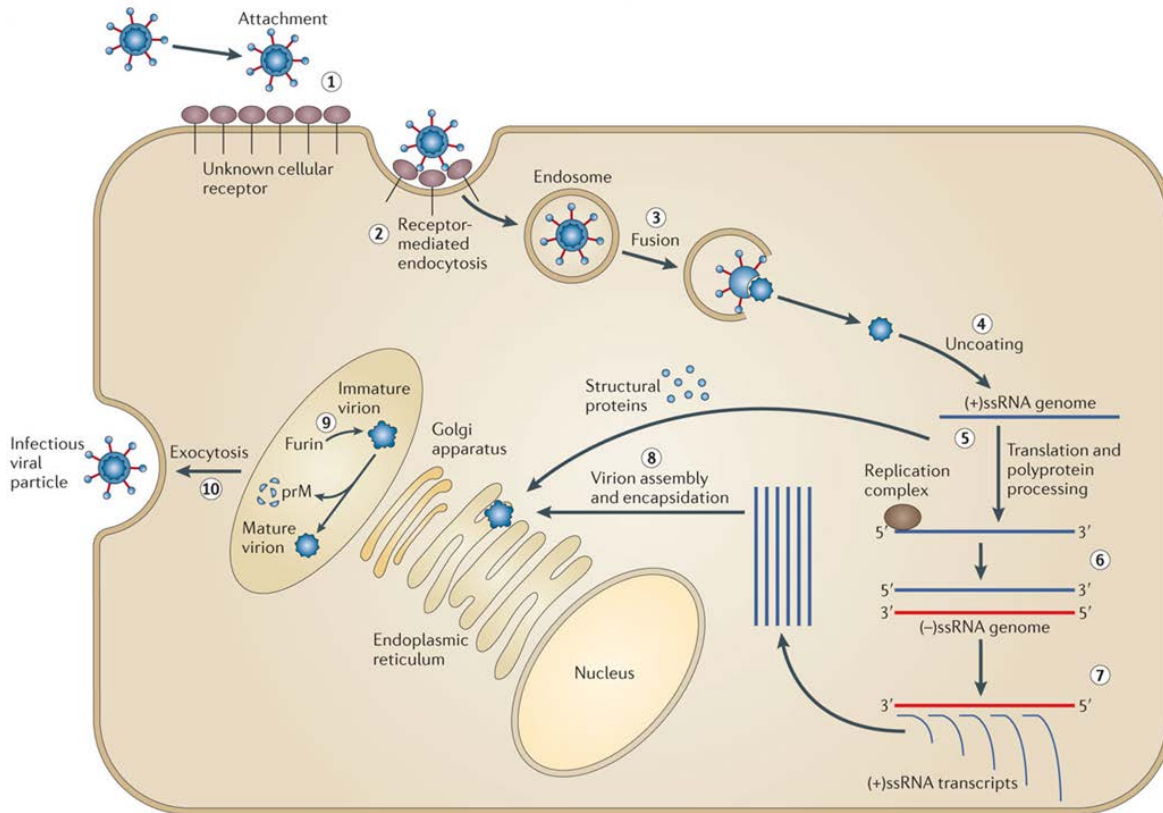
Viral diseases

DNA er relativt stabilt
RNA er ikke stabilt

dyrecelle



Viral diseases



Nature Reviews | Microbiology

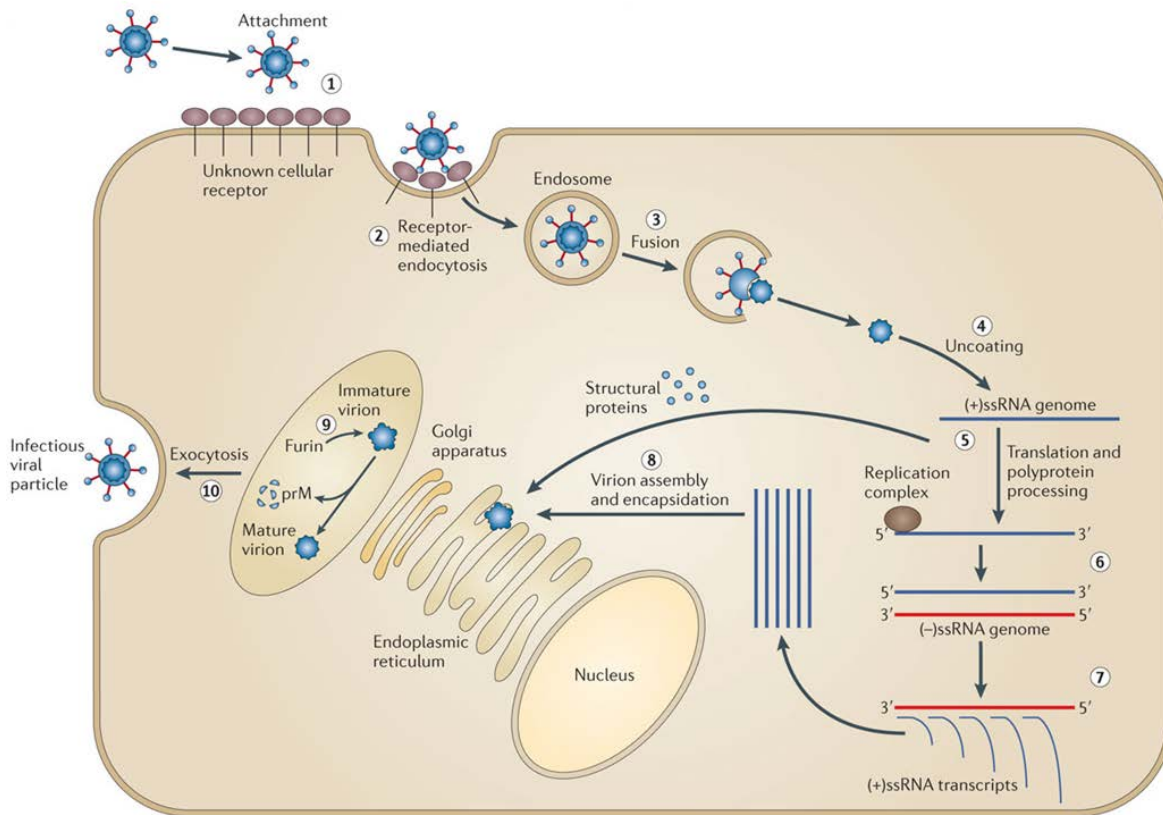
Virus oppdages først av medfødt immunrespons. Denne gjenkjenner proteinstrukturer, dsRNA, ssRNA etc

Toll-like reseptorer
RIG1
MDA5

Etc
IFN

Ikke toleranse mot medfødt immunrespons!

Viral diseases



Nature Reviews | Microbiology

DNA virus og virus med intermediære DNA former (retrovirus) kan gi latente (sovende) infeksjoner.

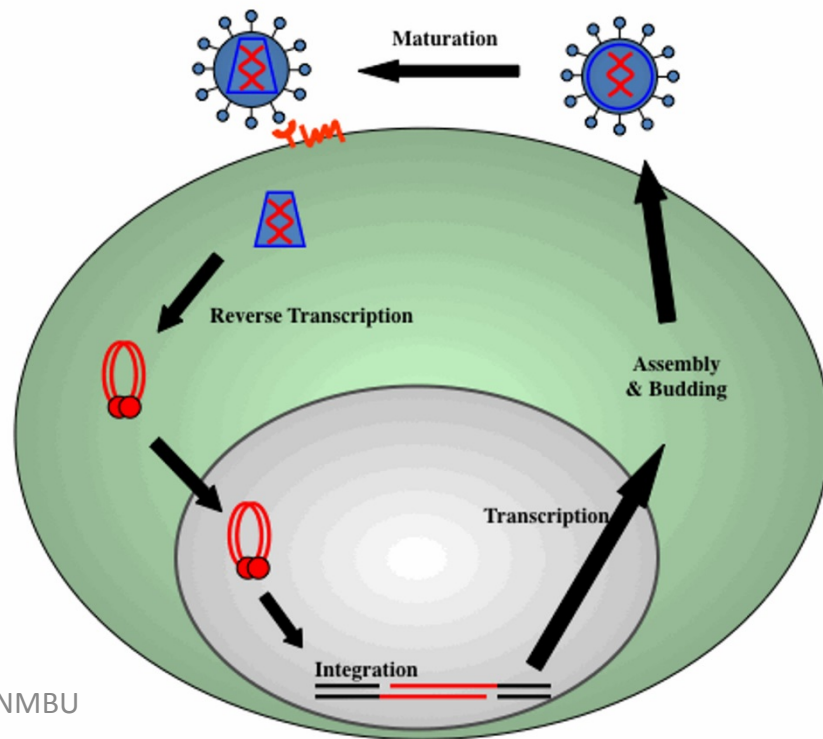
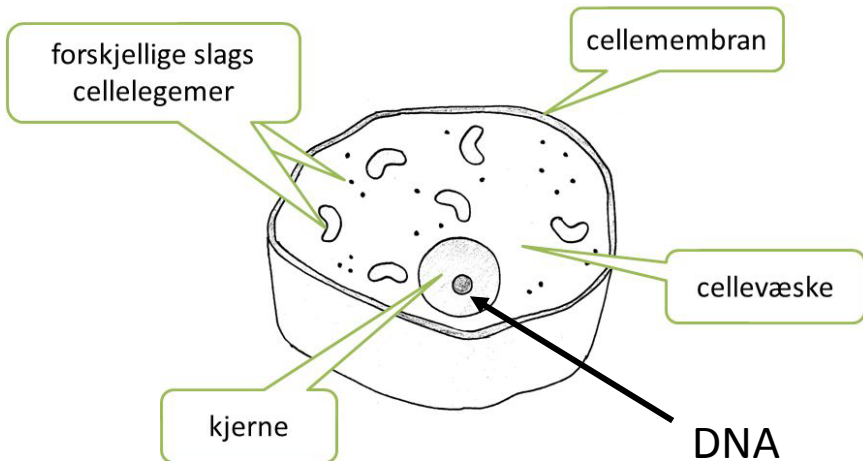
RNA virus kan ikke gi latente (sovende) infeksjoner.

En infeksjon av en celle med RNA virus er alltid produktiv.

Vertikal overføring av virus

De eneste kjente virus som nedarves hos vertebrater er de hvor genomet er integrert i kjønnsellers DNA, det vil si endogene retrovirus.

dyrecelle



Vertikal overføring av virus

- Endogene retrovirus (ingen kjente sykdommer)
- Smitte av eggcelle etter befruktning, smitte av embryo
 - Skade på embryo (død), eventuelt sykdom
 - Zika, rubella, BVDV etc kjente eksempler på sykdom på foster
 - Tilsvarende ukjent hos fisk. Ingen beskrevne tilfeller at yngel f.eks. har ferdig utviklet, ILA eller IPN eller VNN ved klekking.

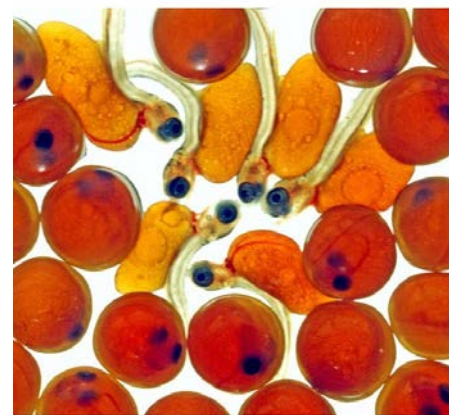
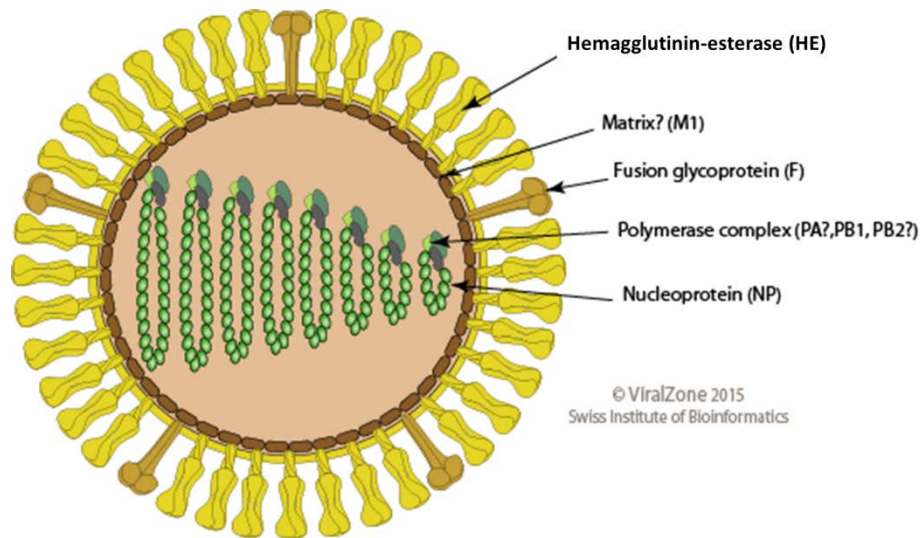


Vertikal overføring av virus- metodeevaluering

- Ved bruk av metoder som ikke innebærer dyrking av agens (RTqPCR), påviser man ikke nødvendigvis et smittomt agens.

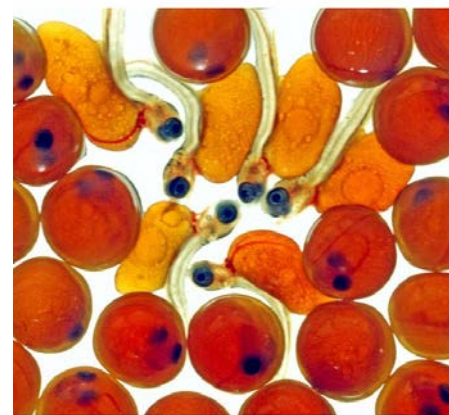
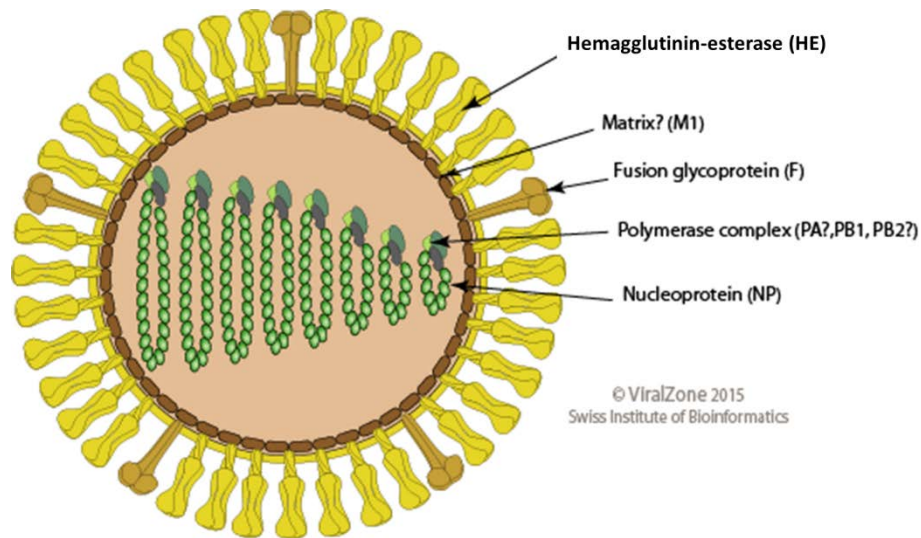
Eksempel (hentet fra «Inactivation of infectious salmon anaemia virus....in water using UVC irradiation» Øye & Rimstad 2001:

En UVC dose som var $10^3 - 10^4$ ganger større måtte til for å gjøre en prøve RTqPCR negativ enn for å ødelegge infektivitet.

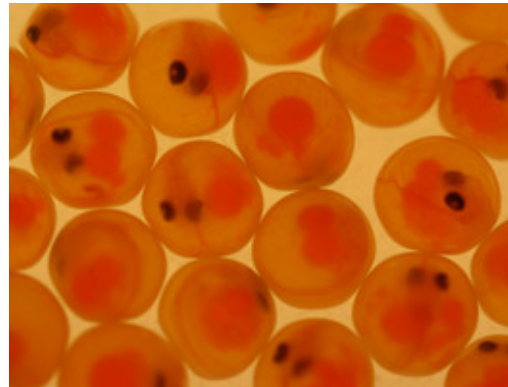


Vertikal overføring av virus- metodeevaluering

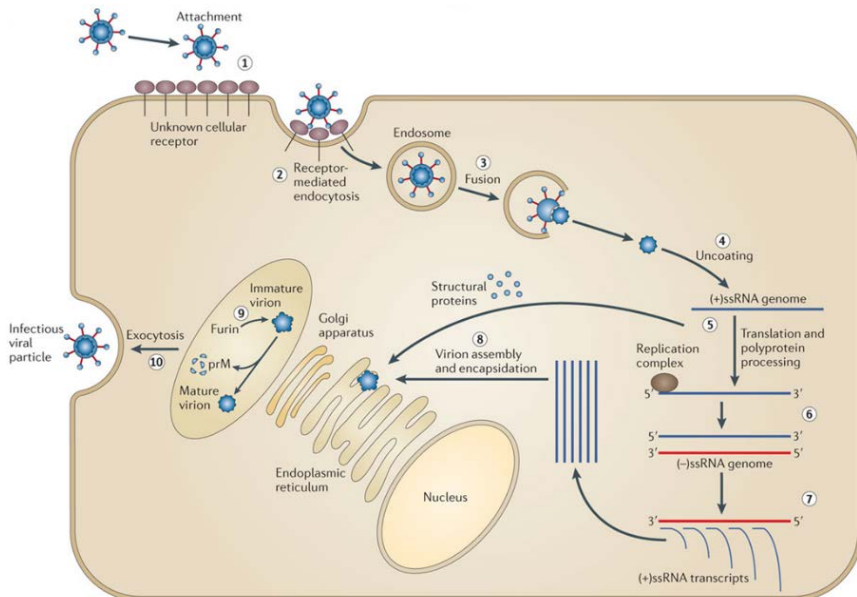
- Ved bruk av metoder som ikke innebærer dyrking av agens, påviser man ikke nødvendigvis et smittomt agens.
- Det er generelt vanskelig å finne ut av når en kan anse at et positivt funn ved PCR gjenspeiler funn av et smittomt agens.
- Biologisk relevans av positivt funn i PCR vil derfor være en vurderingssak.



Vertikal overføring - mekanismer



1. Smitte av befruktet eggcelle/embryo.
Apatogene virus.
2. Kontaminering av rogn/melke
 - a. Via kjønnsprodukter (rognvæske o.l.)
 - b. Via annet (blod, slim etc)





Vertikal overføring –mekanismer

- Sannsynligheten for vertikal overføring vil være avhengig av mengden agens i gonadene, desto mer agens desto større sannsynlighet.
- Virus
 1. Må tåle overflatedesinfeksjon av egg

”Det skal gjennomføres systematiske tiltak som hindrer spredning av smitte med rogn og melke. Nybefruktet rogn av laksefisk skal desinfiseres før den legges inn til inkubering.»

I Norge brukes nesten utelukkende jodofordesinfeksjon (100 mg/l, 10 min)

Effekt avhenger av: Følsomhet, lokalisering av agens på innsiden av eggskallet og muligheter for feil i desinfeksjonsrutinene.

Desinfeksjon utføres minst 2 ganger (rett etter befruktning og før transport).

I tillegg til jodofordesinfeksjon blir profylaktisk anti-sopp behandling av egg med formaldehyd (0,01 %, 10-30 min) rutinemessig brukt gjentatte ganger i øyegg stadiet.



Vertikal overføring –mekanismer

- Sannsynligheten for vertikal overføring vil være avhengig av mengden agens i gonadene, desto mer agens desto større sannsynlighet.

Marshall et al 2014:

«significant putative viral loads in the ovarian fluid” (clarified ovarian fluid Ct 29, organ pool Ct 15). Virulent variant of ISAV.

EM: virus particles inside eggs.

“The virus recovered from the fluid as well as from the interior of the eggs was fully infective to a susceptible fish cell line.”



Vertikal overføring - mekanismer

- Sannsynligheten for vertikal overføring vil være avhengig av mengden agens i gonadene, - desto mer agens desto større sannsynlighet.
- Virus
 1. Må tåle overflatedesinfeksjon av egg
 2. Være svært motstandsdyktig i miljøet

Vike et al. 2014: The survival time of ISA virions in sterile seawater was less than 24 h.

Falk et al. 1997: 14 dager, 4C i medium: ingen nedgang i virumengde

Egen observasjon: 3 mnd, 4C, sterilt sjøvann: log3-4 reduksjon i virusmengde

Øye & Rimstad 2001: ILA virus er svært følsomt for UVC



Vertikal overføring – mekanismer

- Sannsynligheten for vertikal overføring vil være avhengig av mengden agens i gonadene, desto mer agens desto større sannsynlighet.
- Virus
 1. Må tåle overflatedesinfeksjon av egg
 2. Være svært motstandsdyktig i miljøet
 3. Forbli assosiert til rognkorn helt til klekking.
 4. Smittes fra rognkorn til yngel etter klekking.
 5. Hva med sykdom hos yngel?
 - a. Hvis dette var tilfellet ville det jo være enkelt å stille diagnosen vertikal overføring!



Vertikal overføring -mekanismer

- Sannsynligheten for vertikal overføring vil være avhengig av mengden agens i gonadene, - desto mer agens desto større sannsynlighet.
- Virus
 1. Må tåle overflatedesinfeksjon av egg
 2. Være svært motstandsdyktig i miljøet
 3. Forbli assosiert til rognkorn helt til klekking.
 4. Smittes fra rognkorn til yngel etter klekking.
 5. Hva med sykdom hos yngel?
 6. Apatogene patogene varianter, eller yngel må være motstandsdyktig
 7. En infeksjon med RNA virus er alltid produktiv. Prevalensen må øke. Virus infeksjoner er smittsomme!



Egenskaper hos virus versus eventuell vertikal overføring

Virus	Overlevelse i miljø	Oppkons. i kjønnsprodukter	Kontaminering av rogn	Forekomst - prevalens	Sykdom hos yngel
IPNV	+++	+++	+++	+	+++
PRV	+++ (antagelse)	-	++	+++	-/+
ILAV	+	-	?	++ HPR0, - HPRΔ	-
PMCV	+++ (antagelse)	-	?	+	-
SAV	+	-	-	++	-



Vertikal overføring - mekanismer

- Sannsynligheten for vertikal overføring vil være avhengig av mengden agens i gonadene, - desto mer agens desto større sannsynlighet.
- Virus
 1. Må tåle overflatedesinfeksjon av egg
 2. Være svært motstandsdyktig i miljøet
 3. Forbli assosiert til rognkorn helt til klekking.
 4. Smittes fra rognkorn til yngel etter klekking.
 5. Hva med sykdom hos yngel?
 6. Apatogene patogene varianter, eller yngel må være motstandsdyktig
 7. En infeksjon med RNA virus er alltid produktiv. Prevalensen må øke. Virus infeksjoner er smittsomme!



Vertikal overføring -mekanismer- kontaminering av rogn/melke?

- Apatogene patogene varianter, eller yngel må være motstandsdyktig
- Aamelfot et al. 2015: “evidence of early replication in several mucosal surfaces in addition to the gills, including the pectoral fin, skin and GI tract”
- Aamelfot et al 2016: “demonstrated HPR0 in the epithelial gill cells”