



Mattilsynet
v/Magnhild Daltveit

Ullevålsveien 68
Postboks 750 Sentrum · 0106 Oslo
Tlf.: 23 21 60 00 · Faks: 23 21 60 01
Epost: postmottak@vetinst.no

Deres ref.: 2020/160537

Vår ref.: 21/01601

Dato: 23.februar 2021

Svar på Mattilsynets bestilling ref. 2020/160537, vedr. spørsmål angående biosikkerhet i RAS-anlegg.

Bakgrunn

Mattilsynet (MT) arbeider med høringsammenstilling av innspillene til ny ILA-strategi, mottatt fra høringsinstansene. I høringsinnspillet fra Veterinærinstituttet (VI), omtales settefiskanlegg og biosikkerhet. Dette er aktuelle tema for MTs sammenstilling. MT regner det som avgjørende å ha oppdatert kunnskap når det gjelder settefiskanlegg og biosikkerhet.

I brev av 15.februar 2021 fra MT ved Magnhild Daltveit, bes VI foreta en vurdering av kunnskapsstatus vedr. enkelte sider av biosikkerhet i settefiskanlegg inkl.RAS, tidligere omtalt i et brev fra VI av 5.april 2016.

Kommentarer til brev av 5. april 2016.

På side 5 i brev av 5. april, 2016 fra Veterinærinstituttet står det:

«Nylig har Veterinærinstituttet påvist ILAV-HPR0 i et RAS settefiskanlegg, som seinere fikk påvist et nært beslektet ILAV, HPR deletert variant. Om det er forhold ved RAS som øker muligheten for en delesjon, vet vi ikke.»

Kommentar:

Det foreligger lite ny kunnskap på dette området. Som påpekt i forarbeidet til pågående ILA høring, har det kommet til flere slike tilfeller som beskrevet over. Disse tilfellene styrker mistanken om at HPR0 i settefiskfasen er en risikofaktor for utvikling av såkalte primære ILA-HPRdel utbrudd i sjø. Primærutbrudd er utbrudd hvor en ikke har greid å spore tilbake til en antatt smitekilde (i motsetning til sekundærutbrudd). Påvisning av HPR0 i settefiskanlegg sammen med epidemiologiske data, har styrket mistanken til settefiskanlegg som delforklaring til disse primærutbruddene. Hva som ligger bak endring i virulens, som kan være stegvis og starte allerede i settefiskfase, er fortsatt ukjent. Veterinærinstituttet og Havforskningsinstituttet jobber sammen i to pågående forskningsprosjekter for å se nærmere på dette temaet.

Vitenskapelige arbeider med relevans for risikovurdering av HPR0 og virulensøkning

Vår kunnskap om ILA-virusets genetikk og konsekvenser for virulens og sporing av smitte, er ikke fullstendig. Det gjelder særlig HPR0 varianten og dens overgang til virulent form med endret tropisme fra epitel (gjelle) til endotel (blodkar/hjerte). Utfordringene i dette arbeidet er i stor grad knyttet til at HPR0 så langt ikke kan dyrkes slik at tradisjonelle, kontrollerte eksperimenter kan gjøres. Vi er derfor henvist til observasjonsstudier med sekvensering som har sine begrensninger, og som kan ha flere fortolkninger.

Ervervelse av andre egenskaper som øker virulens utover endring av tropisme (replikasjonshastighet, resistens mot vertens immunapparat mm), er også utilstrekkelig kjent, men enklere å verifisere i smitte-eksperimenter. Nye markører for hhv lav- og høyvirulente HPR-deleterte ILAV er tenkelig og kan bidra til bedre risikovurderinger av ILAV. Imidlertid kan det være mange, varierende kombinasjoner av mutasjoner bak slik ytterligere virulensøkning. Det er derfor mulig at en standardisert smittemodell for virulensmåling, slik det er etablert for VHS-virus av EURL, også bør etableres for ILA.

Nyere forskning relevant for biosikkerhet i settefiskanlegg.

Veterinærinstitutt viser i rapport nr 7, 2020 litt av kompleksiteten innen settefisk industrien av mer generell interesse enn kun mht laksepox. En liten sammenstilling av noen relevante forhold er gjort under.

Prosjektet hadde en svært anvendt profil med deltakelse av flere settefiskanlegg. To smittesaneringsforsøk ble gjort. Det ene gjaldt biofilter i et RAS anlegg og framsto som initialt vellykket. Imidlertid ble virus-infisert fisk påvist igjen etter noen måneder, mest sannsynlig av en ny-introduksjon da sporingssystemet som ble etablert i prosjektet indikerte at det dreide som en annen virusvariant enn den som dominerte før saneringen. Det andre saneringsforsøket gjaldt et gjennomstrømningsanlegg og en ny saneringsprotokoll ble laget i prosjektet. Igjen var det initialt vellykket, men kort tid etter vaksineringskom mye smitte på den vaksinerte fisken, denne gang pga et virus av samme variant som før. Vaksineringsmaskinen kunne ikke vaskes så grundig som ønskelig, pga vanskelig adgang til deler av maskinen. Den kunne heller ikke desinfiseres med surt desinfeksjonsmiddel da det ville gitt for mye korrosjonsskader. Oppsummert er de viktigste erfaringene at vask og desinfeksjon er meget effektivt for å holde nede smittepress forutsatt at en kommer til og kan bruke adekvate desinfeksjonsmidler. Et godt smitte-sporingssystem er viktig for å forstå og forhindre re-smitte, herunder skille ny-introduksjon fra mislykket vask og desinfeksjon. Når det gjelder ILAV etablerer VI nå helgenom/dyp-sekvensering som vil gi tilstrekkelig oppløsning for dette og flere andre formål.

Vannbehandling med tanke på biosikkerhet

Temaet er tydelig blitt aktualisert i norsk settefisk produksjon og mange ulike aktører, ikke minst teknologi-leverandører er engasjert. Erfaringene fra settefiskproduksjonen spriker sterkt, og sikre fakta som forklarer resultater, mangler ofte. Arbeidet virker ikke koordinert. Relativt lite fra Norge er vitenskapelig publisert. Nyere artikler tar for seg bruk av membranfiltrering, ozon og UV i ulike forsøksoppsett i flere land, men implementering i full produksjon gjenstår ofte, eller er ikke rapportert. Artikler er i referanselisten. Et system omtales under da det går helt nye veier og benytter en annen løsning enn biofilter for RAS.

Biofilter fri sjøvanns-RAS med elektrolyse som eliminerer ammonium og genererer desinfiserende klor-forbindelser.

Dette representerer et nytt vannbehandlingsprinsipp uten biofilter for resirkulering der en elektrokjemiske prosess både renser (ammonium) og har desinfiserende effekt. Foruten tekniske

artikler er det publisert en «proof of concept» studie mht seabass-oppdrett, og en studie av effekt mot nodavirus (VNN) i seabass (se ref). Resultatene tyder på senket smittepress slik at en får utløst en beskyttende immunrespons snarere enn sykdom hos fisken. Dette er en kjent tankegang, men på den annen side kan en ikke utelukke påfølgende mutasjoner hos viruset som overkommer vertens ervervede immunitet. Denne strategien alene er derfor mest aktuell ved infeksjoner en kan akseptere og der målet er sykdomskontroll. Når målet er å fjerne smittestoffet fra anlegget, må nok full vask og desinfeksjon til, men en slipper da å desinifisere et biofilter og bruke tid på å regenerere biofilm som gir kostbar nedetid. Med tanke på våre forhold vil prinsippet kreve utprøving, men har så klare biosikkerhetsmessige fordeler at det burde være interessant. Da en slik løsning vil unngå geosmin fra biofilter er prinsippet også attraktivt mht slaktefisk-produksjon.

Bakterielle problemstillinger knyttet til settefiskfasen

I brevet fra VI, 2016 står det:

*Resirkuleringsanlegg (RAS) – biofilter: Vi ser ingen grunn til å kreve desinfeksjon av biofilter som fungerer godt, dersom det ikke har vært sykdom i foregående populasjon. Et velfungerende biofilter kan i seg selv være en barriere mot opportunistiske bakterier. En etablert normalflora i biofilteret kan representere et ugunstig miljø for introduserte patogene agens. Det er vist i forsøk at overlevelse av blant annet en del fiskepatogene virus er langt dårligere i miljø med tilstedeværelse av normalflora. Men biofilmen kan også beskytte patogener og slik gjøre det vanskelig å bli kvitt dem og slik kan de bli liggende å ulme i anlegget. Ved utbrudd av listeført sykdom som ILA, BKD, og *F. psychrophilum* vil det være faglig riktig å kreve sanering med fullstendig desinfeksjon og brakklegging av hele anlegget inkludert biofilter, eller dersom det er tilfredsstillende hygieniske skiller mellom avdelingene, avdelingsvis vasking, desinfeksjon og brakklegging. Det samme bør vurderes dersom det påvises annen spesifikk, smittsom sykdom i anlegget, feks yersiniose. Det må legges til at det er indikasjoner på at det finnes yersinapopulasjoner som aldri har gitt utbrudd av yersiniose. Så lenge vi ikke vet og hvordan yersinia bakterien kommer inn i anlegget, bør ikke en yersinia påvisning automatisk føre til krav om brakklegging av anlegg.*

Kommentarer:

Også når det gjelder biofilter er det lite dokumentert kunnskap. Erfaringen tilsier at patogener som kommer inn i RAS – biofilter fort kan infisere aktuell fiskepopulasjon. Samtidig kan det utvikles husstammer. Strenge tiltak for å hindre introduksjon er derfor svært viktig. I hvilken grad husstammer ved RAS eller gjennomstrømningsanlegg kan bidra til å øke sannynligheten for at etablerte a-/lavpatogene varianter av et smittestoff har økt muteringsfrekvens eller favoriserer virulente kloner pga frekvent eksponering mot et høyt antall individer, er ikke kjent.

Flavobacterium psychrophilum

For den systemiske infeksjonssykdommen som er meldepliktig hos regnbueørret, å vurderes sanering fortsatt som faglig riktig. Når det gjelder norsk laks gir denne bakterien nå først og fremst sår og finne-/haleråte, ikke systemisk infeksjon og er ikke meldepliktig slik at sanering ikke er aktuelt. Dette kom kanskje ikke klart nok fram i brevet fra 2016. Det er imidlertid rapportert at bakterien kan gi alvorlig infeksjon også hos laks og varierende virulens. Skulle dette endre seg i Norge slik at laks blir hardt rammet som regnbueørret, bør en vurderere *Flavobacterium psychrophilum* som en ny (emerging) sykdom på laks og føre opp laks som mottakelig art for systemisk infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum*.

Yersiniose:

I svaret fra 2016 ble det diskutert om *Yersini ruckeri* alltid ga sykdom eller ikke. Det er nå identifisert varianter av denne bakterien som er frittlevende og normalt ikke infiserer fisk slik at bekjempelsestiltak er unødvendige. Det er videre kommersielt tilgjengelig et norsk bakteriofag preparat (CUSTUS®YRS) som kan dempe *Yersini ruckeri* smittepress i RAS på en selektiv måte uten at øvrige organismer i systemet påvirkes og en kan unngå å måtte desinfisere og re-etablere biofilteret. Dette er eksempler på at det pågår forskning på ulike områder som vil kunne påvirke hvordan vi kan kontrollere den økologiske balansen i et biofilter (RAS anlegg).

Oppsummering

Veterinærinstituttet vil peke på at de store endringene i settefiskanlegg mht produksjonsteknologi og intensitet, ikke er i balanse med tilgjengelig kunnskap mht biosikkerhet.

De tekniske løsningene i landbaserte anlegg kan være svært kompliserte og praktisk/økonomisk vanskelige å gjøre tilgjengelige for tilfredsstillende vask og desinfeksjon. Vask og desinfeksjon er en av forutsetningene for effektiv biosikkerhet. Dette er sammenlignbart med utfordringene som over tid har vært knyttet til brønnbåter og smittespredning.

Det er lite ny kunnskap om forebyggende smittearbeid, kontroll og bekjempelse av etablert smitte i anlegg med komplisert RAS-teknologi. Teknologien åpner for utfordringer knyttet til flere tradisjonelle smitteforebyggende tiltak som ikke har fått adekvate nye løsninger. Veterinærinstituttet mener derfor at de utfordringene som er nevnt i brev fra 2016, er gyldige også i dag. Utviklingen vi ser i forbindelse med ILA og HPR0 understreker vår bekymring.

Veterinærinstituttet opprettholder derfor en generell bekymring knyttet til konsekvensene ved introduksjon av patogener i RAS-systemer. Tiltak som forebygger introduksjon, sikrer smitthygieniske barrierer og videre smittespredning, samt effektive overvåkingssystemer er derfor svært viktige i disse produksjonssystemene. Spredningspotensialet fra settefiskanlegg er stort, slik at behovet for forebygging og kontroll er også stort.

Med hilsen



Edgar Brun
Avdelingsdirektør
Avd. for Fiskehelse og -velferd
Veterinærinstituttet



Ole Bendik Dale
Seksjonsleder
Seksjon akvatisk biosikkerhet
Veterinærinstituttet

Referanser

Nyere vitenskapelige publikasjoner mht ILA med relevans for HPR0 mm:

First field evidence of the evolution from a non-virulent HPR0 to a virulent HPR-deleted infectious salmon anaemia virus. Christiansen DH, et al. *J Gen Virol.* 2017 Apr;98(4):595-606. doi: 10.1099/jgv.0.000741

Overview of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic Canada and first report of an ISAV North American-HPR0 subtype. Gagné N, LeBlanc F.J *Fish Dis.* 2018 Mar;41(3):421-430. doi: 10.1111/jfd.12670

In vivo virulence and genomic comparison of infectious Salmon Anaemia Virus isolates from Atlantic Canada. LeBlanc F, et al. *J Fish Dis.* 2018 Sep;41(9):1373-1384. doi: 10.1111/jfd.12832.

Prevalence and genotypes of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in returning wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in northern Norway. Madhun AS, et al. *J Fish Dis.* 2019 Aug;42(8):1217-1221. doi: 10.1111/jfd.13021.

Wild and farmed salmon (*Salmo salar*) as reservoirs for infectious salmon anaemia virus, and the importance of horizontal- and vertical transmission. Nylund A, et al. *PLoS One.* 2019 Apr 16;14(4):e0215478. doi: 10.1371/journal.pone.0215478.

Rapid sequence modification in the highly polymorphic region (HPR) of the hemagglutinin gene of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) suggests intra-segmental template switching recombination. Cárdenas M et al. *J Fish Dis.* 2020 Dec;43(12):1483-1496. doi: 10.1111/jfd.13242.

Review: Infectious salmon anaemia virus-molecular biology and pathogenesis of the infection. Rimstad E, Markussen T.J *Appl Microbiol.* 2020 Jul;129(1):85-97. doi: 10.1111/jam.14567.

Referanser bakterier

Assessment of *Flavobacterium psychrophilum*-associated mortality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Bruce TJ, Ma J, Jones EM, Vuglar BM, Oliver LP, Cain KD. *J Fish Dis.* 2021 Feb 9. doi: 10.1111/jfd.13349. Epub ahead of print. PMID: 33565105.

Multilocus variable-number tandem-repeat analysis of *Yersinia ruckeri* confirms the existence of host specificity, geographic endemism, and anthropogenic dissemination of virulent clones. Gulla, S., Barnes, A. C., Welch, T. J., Romalde, J. L., Ryder, D., Ormsby, M. J., & Colquhoun, D. J. (2018). *Applied and environmental microbiology*, 84(16)

Referanser biosikkerhet vannbehandling mm

Laksepox: Smittesporing i fisk og miljøprøver, sanering av anlegg og mulig vertikal overføring. ISSN 1880-3290 © Veterinærinstituttet 2020. <https://www.fhf.no/prosjekter/prosjektbasen/901270/>

Chlorine-based disinfection for controlling horizontal transmission of VNN in a seawater recirculating aquaculture system growing European seabass. Ben-Asher, R., Ravid, S., Ucko, M., Smirnov, M., & Lahav, O. (2019). *Aquaculture*, 510, 329-336.

Ozone nanobubble treatment in freshwater effectively reduced pathogenic fish bacteria and is safe for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Jhunkeaw C, et al (2020) *Aquaculture*. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.736286

Production of lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) in RAS with distinct water treatments: Effects on fish survival, growth, gill health and microbial communities in rearing water and biofilm. Dahle S, W. et al. *Aquaculture* DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.736286

Evaluation of membrane filtration and UV irradiation to control bacterial loads in recirculation aquaculture systems. Huyben D. et al. *Aquaculture International* volume 26, pages1531–1540 (2018)