



Mattilsynet
postmottak@mattilsynet.no

Deres ref.: 2019/156710

Vår ref.: 20/04456

Dato: 23.04.2020

Svar på bestilling av kunnskapsstøtte vedr. risiko for smittespredning av ILAV mellom lokaliteter i Kvæningen.

Bakgrunn og bestilling

På høsten 2019 bidro Veterinærinstituttet med forvaltningsstøtte til Mattilsynet i forbindelse med vurdering av smittespredningsmodeller for smitte fra ILA-utbruddslokaltet 10803 Fjellbukta til 10806 Rakkenes i Kvæningen-området (Veterinærinstituttets referanse 19/10174). Både Veterinærinstituttet og Havforskningsinstituttet konkluderte med at smitteoverføring fra 10803 Fjellbukta til 10806 Rakkenes ikke kunne utelukkes. I følge Mattilsynet ble det kun påvist ILA i én fisk på 10803 Fjellbukta og det var et fåtall PCR-positive fisk etter kontinuerlig screening. Anlegget ble tømt få måneder etter ILA-påvisning, og Mattilsynet anser dermed at smittepåvirkningen til 10806 Rakkenes har vært lav.

Mattilsynet har i en bestilling datert 07.04.2020 bedt Veterinærinstituttet om forvaltningsstøtte i forbindelse med en forespørsel fra Mowi som ønsker å ta anlegget 35997 Kviteberg ut av en eksisterende ILA-bekjempelsessone og sette ut ny fisk etter tømning, vask og brakklegging. Dette ønskes gjort før lokalitet 10806 Rakkenes i samme bekjempelsessone er tømt for fisk.

Mattilsynet ønsker forvaltningsstøtte fra Veterinærinstituttet på følgende (Havforskningsinstituttet er også forespurt om å yte forvaltningsstøtte for punkt b)):

- a) Skissere et screeningopplegg på 10806 Rakkenes for å sannsynliggjøre en svært lav forekomst av smittebærere av ILAV. Mattilsynet tenker seg at anlegget gjennom en 2-4 ukers periode pålegges å PCR-teste svimere eller nydød fisk med en utvalgsstørrelse som med 95% sikkerhet kan avdekke 1 % bærere, eller eventuelt et annet prevalens-nivå som Veterinærinstituttet finner hensiktsmessig. Det bes om at det også kommenteres på generell tilnærming og egnede organer for prøvetaking.
- b) Vurdere strømbildet og smittekontakt fra 10806 Rakkenes til 35997 Kviteberg, med de modeller kunnskapsstøtteinstitusjonene måtte finne hensiktsmessig. Det er etter det Mattilsynet vet kun fisk på to lokaliteter i fjordsystemet, 10806 Rakkenes og 35997 Kviteberg.

Diskusjon

Basert på strømmodeller og avstandsmodeller konkluderte både Havforskningsinstituttet og Veterinærinstituttet i 2019 med at smitte fra 10803 Fjellbukta til 10806 Rakkenes ikke kunne utelukkes. Sannsynlighet for smitteoverføring til 10806 Rakkenes antas å øke med varighet av utskillelse av ILAV fra fisk på 10803 Fjellbukta. Lokalitet 10803 Fjellbukta fikk status ILA mistanke 18.06.2019, ILA-diagnosen ble stadfestet 02.07.2019 og lokaliteten ble tømt 03.10.2019, tre måneder etter påvisning av ILA. Kontrollområdeforskriften, FOR-2019-07-26-1031, som ble gjort gjeldene fra den 26.07.2019 krever månedlig helsekontroll og prøvetaking av minimum 10 fisk for detektering av ILAV. Data fra overvåkingsprogrammet for ILA 2019 viser at det fra 10803 Fjellbukta ble tatt ut 55 prøver i juli og 20 prøver i august, mens det ikke er registrert uttak av prøver i september 2019. Det ble ikke påvist ILAV i de undersøkte prøvene. Lokalitet 10803 Fjellbukta kan anses å ha utgjort en potensiell smitterisiko for 10806 Rakkenes fra omkring midten av juni 2019 og til begynnelsen av oktober 2019.

Fra 10806 Rakkenes er det i overvåkingsprogrammet for ILA i 2019 registrert totalt 140 prøver; 20 prøver i juli, 20 prøver i august, 40 prøver i september, 30 prøver i oktober, 30 prøver i november og ingen i desember. For overvåkingsprogrammet for ILA i 2020 er det per mars 2020 registrert 90 prøver; 30 prøver i hver av månedene januar, februar og mars. Alle prøvene ble testet negativt for ILAV. Med unntak av tilsynelatende manglende prøvetaking i desember 2019 overstiger prøvetagnigen på 10806 Rakkenes forskriftens krav til prøvetaking. Under forutsetning av perfekte diagnostiske tester (100% sensitivitet og spesifisitet), 95% sikkerhet, og 137 000 fisk på lokaliteten (data fra Havbruksdata) kan det estimeres at maksimal ILAV-prevalens på anlegget kan ha vært 13.9% ved 20 prøver med negativt testresultat og 7.2% ved 40 prøver med negativt testresultat. Disse estimerte prevalenstillene forutsetter imidlertid at smitten er jevnt fordelt i fiskepopulasjonen, noe som sjeldent er tilfelle. Kontrollområdeforskriften krever et risikobasert prøveuttak, med prøveuttak av syk og svak fisk som generelt antas å ha høyere sannsynlighet for å teste positivt dersom populasjonen er infisert, noe som ofte anses for å oppveie manglen på jevn fordeling av smittestoff i fiskepopulasjonen.

I FHF-prosjekt 901181 «Utbredelse og betydning av ILA-virus i den norske oppdrettspopulasjonen av laksefisk» har det blitt utført prøveuttak på totalt fem lokaliteter med pågående ILA-utbrudd. På hvert anlegg ble det prøvetatt 30 fisk med klinisk ILA og 30 tilsynelatende friske fisk fra merd med ILA-diagnose, samt 30 tilsynelatende friske fisk fra en merd uten mistanke om ILA. Resultatene viser at det kan være svært utfordrende å detektere ILAV selv i kjente infiserte populasjoner, og særlig i fisk uten tydelig ILA-klinikk selv i merd med ILA-diagnose og ILA-syk fisk. Dette viser at det krever betydelig prøvetaking for å kunne sannsynliggjøre at en populasjon ikke er ILAV-infisert.

a) Skissering av screeningopplegg for lokalt 10806 Rakkenes

Tabellen under angir antallet fisk som må prøvetas for å kunne detektere en gitt prevalens av ILAV i populasjonen. Populasjonsstørrelse er satt til 136 000 fisk basert på data fra Havbruksdata i mars 2020. Det forutsettes at den diagnostiske testen som benyttes er perfekt (100% diagnostisk sensitivitet og spesifisitet) og at dette oppnås ved at prøvene analyseres ved et akkreditert laboratorium med risikobasert uttak av prøver (prøvetaking av syk/svak fisk, svimere eller andre klinisk unormale fisk). Standard 95% statistisk sikkerhet er lagt til grunn.

Tabell: Antall fisk som må prøvetas for å kunne detektere en gitt prevalens av ILAV i populasjonen

Prevalens å detektere	Diagnostisk sensitivitet	Diagnostisk spesifisitet	Statistisk sikkerhet	Antall fisk som må prøvetas
0.5 %	100%	100%	95%	597
1 %	100%	100%	95%	298
2 %	100%	100%	95%	149
3 %	100%	100%	95%	99

I overvåkingsøyemed benyttes ofte deteksjon av 1% eller 2% prevalens av et smittestoff som tilstrekkelig for å sannsynliggjøre en tilstrekkelig lav risiko for at en populasjon er smittet. Det er imidlertid viktig å understreke at det aldri vil være mulig å bevise fravær av et smittestoff i en populasjon, med mindre hele populasjonen testes. Det finnes ikke konkret informasjon på den praktiske betydningen av å avdekke en prevalens lavere enn 1%, og det er heller ikke gjennomført kost-nytte vurderinger av dette som Veterinærinstituttet kjenner til. Et viktig poeng i design av prevalensstudier er at prøvetakingen illustrerer et øyeblikksbilde av status på det tidspunktet prøvetakingen gjennomføres. Dette betyr at for å avdekke en gitt prevalens i et åpent system, må prøvetakingen gjennomføres over så kort tidsrom som mulig. Det er derfor ikke hensiktsmessig at prøvetakingen gjennomføres over en lengre tidsperiode enn maksimalt et par dager.

Målet med prøvetakingen vil være å detektere tilstedeværelse av ILAV. Den mest sensitive og spesifikke metoden for detektering av ILAV er real-time RT-PCR og standardvev er hjertevev og nyrevev på RNAlater® eller tilsvarende. For å gi et så representativt bilde av populasjonen som mulig bør antall fisk som skal prøvetas fordeles på alle merdene og klinisk unormal fisk (og eventuell fersk dødfisk) prioriteres. Dersom det ikke er tilstrekkelig antall klinisk unormale fisk bør resterende fisk utgjøres av et tilfeldig utvalg fra populasjonen i alle merdene. Se for øvrig punkt om alternative prøvetakingsmetoder under.

I den beskrevne situasjonen bør det være deteksjon av virus i miljøet som er hovedformålet. Veterinærinstituttet har med suksess benyttet to ikke-letale prøvetakingsmetoder for å detektere tilstedeværelse og fravær av ILAV på et antall lokaliteter. Det må imidlertid påpekes at disse metodene ikke

er validerte og dermed sannsynligvis ikke vil kunne utgjøre et tilstrekkelig dokumentasjonsgrunnlag opp mot eksterne parter som for eksempel ESA.

Den ene metoden er svabring av hud ved base av ryggfinne. Dette har vist seg å være mer sensitiv enn analyser av nyreprøver for detektering av ILAV i infiserte populasjoner og avdekket ILAV-HPR0 tilstedeværelse i en antatt ILAV negativ populasjon. Metoden kan dermed være en nyttig tilleggsmetode for å øke sannsynligheten for å avdekke tilstedeværelse av ILAV på en lokalitet. Metodens fordeler er dens ikke-letale natur, samt at den er enkel å gjennomføre. Ulempen er at svabrene må plasseres i rør med RLT-buffer, kjøles ned raskt og sendes med over-natt pakke med tilstrekkelig kjøling for å forhindre degenerering av virusmaterialet.

Den andre metoden er detektering av viruspartikler i overflatevann. Ved testing på kjente infiserte lokaliteter har metoden blitt vist å detektere ILAV i vannprøver fra kjente infiserte lokaliteter. Metoden er imidlertid mindre utprøvd i felt enn hudsvabring, men er meget enkel å gjennomføre. Overflatevann samles i 2 * 1l plastbeholdere fra hver merd. Plastebeholderene sendes med kjøleelementer i over-natt pakke til Veterinærinstituttet for bearbeiding og analysering. Svaber- og vannprøver vil kunne sendes i samme forsendelse dersom det sikres tilstrekkelig kjøling i pakken. Påvisning av ILAV ved hjelp av standard real-time RT-PCR vil ikke bekrefte at det er infeksjonsvirus som påvises, da også virus-fragmenter vil kunne gi et positivt resultat på PCR. Etter Veterinærinstituttets mening bør det imidlertid være tilstrekkelig at sekvensering viser tilstedeværelse av sykdomsfremkallende ILAV HPR-del. Det finnes en mRNA-spesifikk PCR for ILAV som påviser aktivt replikerende virus, men da denne ikke er tilgjengelig i Norge på det nåværende tidspunkt anses den ikke som relevant i denne sammenheng.

Prøver for deteksjon av ILAV analyseres normalt som individuelle prøver, også i overvåkingsprogrammene. OIE-kapittelet for ILAV sier at pooling av prøver kan vurderes, men at effekten på sensitivitet og spesifisitet må vurderes (OIE, 2019). Det foreligger imidlertid kun begrenset vitenskapelig informasjon om effekt av pooling av prøver for ILAV. En studie av Hall og medforfattere (2013) sammenlignet sensitivitet og spesifisitet ved individuell analyse av hodenyre-prøver med prøver i pools av 5. Ved 2% prevalens var sensitiviteten ved individuell analyse 90% (76-98%) og ved pooling 83% (70-91%). Resultatene ved en prevalens på 80% var >99% for både individuelle og poolede prøver. Spesifisiteten varierte ikke med prevalens og ble funnet å være 93% (80 - >99%) for individuelle prøver og 95 (89-99%) ved pooling.

På bakgrunn av foreliggende dokumentasjon anser Veterinærinstituttet det ikke som tilstrekkelig dokumentert at pooling av prøver for å avdekke en lav prevalens av ILAV kan anbefales.

b) Vurdere smittekontakt fra 10806 Rakkenes til 35997 Kviteberg

Korteste sjøavstand mellom 10806 Rakkenes og 35997 Kviteberg er 9.7 km i henhold til avstandsmatrisen generert ved Veterinærinstituttet. En analyse av ILA utbrudd i perioden 2003 til 2007 utført av Aldrin *et al.* (2010) viste at infiserte anlegg var svært smittefarlige over korte distanser, men at risikoen falt raskt ved økende sjøavstand. Ved en sjøavstand på 11km til et infisert anlegg ble risikoen for å få ILA ansett å være tilsvarende risikoen for ILA utbrudd som følge av en ikke-identifisert smittekilde. En påfølgende studie av ILA-utbrudd i perioden januar 2004 til august 2009 (Aldrin *et al.*, 2011) viste at smitterisikoen ble redusert med omkring 60% når sjøavstanden mellom infisert og ikke-infisert anlegg økte fra 0 til 10 km, men forfatterne konkluderte med at risikoen for nabosmitte likevel eksisterte utover både 5- og 10km.

Havforskningsinstituttet konkluderer i sin vurdering med at både det generelle strømbildet og deres egen modellering av smittespredning sannsynliggjør at eventuell tilstedeværelse av ILAV på 10806 Rakkenes vil smitte til 35997 Kviteberg. Modellresultatene samsvarer også med de generelle modellresultatene fra forvaltningsstøttesaken høsten 2019. Veterinærinstituttet anser det derfor ikke som nødvendig at det utføres ytterligere spredningsmodelleringer fra Veterinærinstituttets side. Det kan imidlertid igjen nevnes at det per i dag ikke foreligger entydig dokumentasjon omkring overlevelse av ILAV under feltforhold eller tilstrekkelig kunnskap om hvordan ILAV faktisk spres i felt fra et infisert anlegg til omkringliggende anlegg (mulige alternativer kan for eksempel være i frie vannmasser, i proteinskum, i kombinasjon med andre organiske partikler eller via organiske/uorganiske bærere). I følge Rimstad *et al.* (2011), har laboratorieforsøk vist en ILAV overlevelse på 7 dager i sjøvann ved 4-15°C, og en overlevelse opp til 105 dager i sterilt sjøvann ved 4°C. Overlevelse i organisk materiale var lenger enn i sjøvann alene. Vike *et al.* (2014) fant derimot at ILAV overlevelse i sterilt sjøvann var under 24t og at ILAV mistet infektivitet etter 3 timer i naturlig sjøvann/i sterilt sjøvann behandlet med UV-bestråling.

Veterinærinstituttet mener dermed at risikoen for smitte fra 10806 Rakkenes til 35997 Kviteberg må anses som sannsynlig dersom 10806 Rakkenes er infisert av ILAV.

Konklusjon

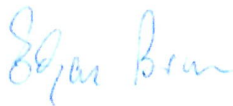
Undersøkelse av ca 150 fisk som alle blir vurdert negative med hensyn på ILAV, dokumenterer statistisk sett at ILAV kan være til stede i populasjonen med en prevalens på mindre enn 1 % forutsatt et representativt utvalg og en perfekt test. Prøveuttak bør bestå av hjerte- og nyrevev for real-time RT_PCR analyser, og prøvene må analyseres separat (ikke pooler). Alle merder med fisk må prøvetas. Sensitiviteten i undersøkelsen vil øke dersom det gjøres et risikobasert prøveuttak. Uttaket må gjøres så samlet som mulig for å kunne gi et reelt statusbilde på lokaliteten.

Veterinærinstituttet vil gjøre oppmerksom på at det er ikke mulig å designe et prøvetakingsregime som kan bevise at en lokalitet ikke er infisert med ILAV.

Veterinærinstituttet anbefaler i tillegg til prøver fra fisk, at metoder som øker sannsynligheten for å detektere virus i miljøet (hudsvabre og vannprøver), inkluderes i prøvetakingsregimet.

Strømbildet viser kontakt mellom lokalitetene og basert på tidligere validerte avstandsmodeller og overlevelse av virus i sjø, mener Veterinærinstituttet at risikoen for spredning av ILAV fra 10806 Rakkenes til 35997 Kviteberg må anses som sannsynlig dersom ILAV er tilstede på 10806 Rakkenes.

Med hilsen



Edgar Brun
Avdelingsdirektør
Avd. for Fiskehelse og fiskevelferd
Veterinærinstituttet



Mona Dverdal Jansen
Forsker
Seksjon for epidemiologi
Veterinærinstituttet

Referanser

Aldrin, M., Storvik, B., Frigessi, A., Viljugrein, H., Jansen, P.A. (2010) A stochastic model for the assessment of the transmission pathways of heart and skeleton muscle inflammation, pancreas disease and infectious salmon anaemia in marine fish farms in Norway. *Preventive Veterinary Medicine*, 93, 51-61.

Aldrin, M., Lyngstad, T.M., Kristoffersen, A.B., Storvik, B., Borgan, Ø., Jansen, P.A. (2011) Modelling the spread of infectious salmon anaemia among salmon farms based on seaway distances between farms and genetic relationships between infectious salmon anaemia virus isolates. *Journal of the Royal Society Interface*, 8, 1346-1356.

Hall, M., Wallace, I., Munro, L., Munro, E., McIntosh, R., Cook, P., Allan, C., Murray, A. (2013) Reliability of individual and pooled test procedures for detecting the pathogenic agent for clinical infectious salmon anaemia. *Journal of Fish Diseases*, 36, 741-745.

Rimstad, E., Dale, O.B., Dannevig, B.H., Falk, K. (2011) Infectious Salmon Anaemia. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds.), *Fish Diseases and Disorders*. CAB International, UK, 143-165.

OIE (2019) Chapter 2.3.5. Infection with HPR-deleted or HPR0 infectious salmon anaemia virus. Tilgjengelig på: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/chapitre_isav.pdf

Stene, A., Gansel, L.C., Jansen, M.D. (2018) Strategier for å begrense spredning av virus mellom sjølokaliteter med laksefisk. FHF-901005, rapport. NTNU.

Vike, S., Oelckers, K., Duesund, H., Erga, S.R., Gonzalez, J., Hamre, B., Frette, O., Nylund, A. (2014) Infectious salmon anemia (ISA) virus: infectivity in seawater under different physical conditions. *Journal of Aquatic Animal Health*, 26, 33-42.