



Mattilsynet v/C. Flatnes Nystøyl
postmottak@mattilsynet.no

DERES REF.: EPOST FRA FLATNES NYSTØYL
3.6.2022

VÅR REF.: 22/05978

ÅS, 31.10. 2022

Svar på bestilling om kunnskapsstøtte, ILA-virus.

Om vertikal overføring av ILAV.

Veterinærinstituttet håper dette kan bidra til en omforent og praktisk gjennomførbar løsning, basert på den kunnskap vi har nå.

Dette var spørsmålet fra Mattilsynet, region Midt:

Vi ønsker å be Veterinærinstituttet som vår forvaltningstøtteinstitusjon innen fiskesykdommer om følgende kunnskapsstøtte:

- *Dersom det tas PCR-prøver av rognvæske, midtnyre og hjerteventrikkel av hver enkelt fisk som strykes, og alle prøvene gir negativt resultat. Vil man kunne legge til grunn at eventuell smitte (ILAV HPR0/ILAV) ikke kan overføres vertikalt i det aktuelle anlegget?*

Dersom en ikke får noen test positive prøver fra et korrekt utført prøveuttak, er det mest nærliggende å anta at populasjonen er smittefri og at smitteoverføring ikke vil skje.

Ved påvisning av HPR0 i populasjonen øker sannsynligheten for vertikal overføring noe, men dersom rogn fra HPR0-positiv stamfisk sjaltes ut og biosikkerheten for øvrig er god, anses sannsynligheten for vertikal overføring som svært lav.

Ved funn av virulent HPRdel vil ikke stamfiskpopulasjonen kunne nyttes til rognproduksjon.

Under har vi gitt en nærmere vurdering av denne problematikken.

A. Hvorfor mistenkes vertikal smitte av ILAV

Det er fortsatt diskusjon om ILAV kan overføres vha. såkalt ekte vertikal smitte i den betydning at en ikke kan hindre den med desinfeksjon, og hva det ev. betyr i praksis. Det som i første rekke har utløst mistanke om vertikal overføring, er nært fylogenetisk slektskap mellom ILAV i henholdsvis Norge og Chile. Det er ikke naturlig forekommende Atlantisk laks i Chile, men de har innført mye rogn fra Norge og fått inn HPRO (ref. 1).

B. Flere mulige forklaringer på smitte enn ekte vertikal smitte.

Mekanismen bak ILAV smitteoverføring fra Norge til Chile er ikke vist. Ekte vertikal overføring betyr at smittestoffet er inne i rognkornet, eller på annen måte utilgjengelig for desinfeksjon. Svikt i desinfeksjonsrutiner som f.eks. ekstern re-kontaminasjon med virus etter desinfeksjon, kan også forklare en overføring av smitte ved rognhandel, men er ikke regnet som ekte vertikal overføring. Særlig før en var klar over hvor sterk HPRO smitte-utskilling en kan ha fra stamfisk, er det ikke usannsynlig at kontaminering kan ha bidratt til smittespredning av HPRO, som senere kan ha blitt virulent. Dette er svikt i biosikkerhets-rutiner og ikke vertikal overføring.

Den norske vitenskapskomiteen gjorde en gjennomgang av kunnskapsstatus på temaet i 2010-11 og konkluderte med: *Vertikal overføring av ILA virus kan ikke utelukkes, men er av liten eller ikke målbar betydning for spredning av ILA i norsk oppdrett.* (ref. 2).

C. Senere studier

Det er ikke noen grunn til å gå gjennom de gamle studiene på nytt her. Siden den gang er det kommet noen flere studier:

Ref. 3: I 2014 kom en studie som beskrev gonade-infeksjon med ILAV. I to subklinisk infiserte gytelaks ble virus påvist ved PCR i hhv. moderat og høy grad i sammenslåtte prøver av gjelle, hjerte og nyre. På flere vis ble så egg undersøkt mhp. om infeksjonen var lokalisert til utenpå eller inne i rogn. Funnene som inkluderte elektronmikroskopi (på den mest infiserte fisken), påviste virus inne i egg. Da studien er av bare to fisk, sier dette lite om hvor vanlig dette er, men at det kan forekomme. Studien synes ikke å være repetert. Studien viste at viruset i gonadene var infektivt for cellekultur, men overføring til avkom ble ikke undersøkt.

Ref. 4: Resultatene fra svært omfattende screening mht. HPRO på Færøyene ble nylig publisert. Fylogenetisk ble det ikke funnet noe klart slektskap mellom virus fra stamfisk og deres avkom, hvilket støtter at denne varianten ikke smitter vertikalt. Det synes heller ikke å være noen fylogenetisk sammenheng mellom HPRO varianter på Færøyene, og de en finner på islandsk eller norsk stamfisk, hvorfra mye rogn har blitt overført til Færøyene.

Ref. 5: FHF prosjektrapport 901673; Risiko for vertikal overføring av ikke-virulent variant av infeksjøs lakseanemi (ILAV-HRP0). Strykeklar stamfisk som var blitt naturlig smittet med HPR0, ble testet med RT-PCR, og hadde en prevalens på 30% i rognvæske (40/131 fisk) og 100 % i gjelle (60/60 fisk). Hovedresultatene var at en ikke påviste HPR0 (ved RT-PCR) i eggeskall eller embryo (fra stamfisken). En påviste heller ikke HPR0 (ved RT-PCR) i prøver fra noen av uttakene av avkom (yngel til smolt, opp til 10 måneder), totalt 742 prøver ble analysert.

Samlet vurdering av nye studier referert over:

Den epidemiologiske studien fra Færøyene og den eksperimentelle FHF langtidsstudien, styrker begge synet på at HPR0 varianten ikke smitter vertikalt. Studien av to fisk henholdsvis sterkt og moderat infisert med HPRdel varianten, støtter synet om at det er vanskelig å utelukke muligheten for at vertikal overføring fra fisk med systemisk HPRdel infeksjon kan skje via gonadeprodukter.

Diagnostisk metodevalg - generelt

Så lenge en tilfredsstillende regelverkskrav som måtte gjelde, er det full anledning til å benytte metodikk som er ansett best ut fra formålet med undersøkelsene. Meldeplikt mht. virulent ILAV gjelder uansett hvordan mistanken oppstår. Nye metoder kan med fordel brukes parallelt med standardmetoder, for å validere og ikke risikere å miste informasjon dersom ny metodikk skulle vise seg å ha svakheter.

PCR metodens følsomhet, hurtighet og kapasitet gjør den til førstevalg i screening med hensyn på sortering av rogn fra individuelle fisk. Ingen testmetode er imidlertid perfekt, det finnes en deteksjonsgrense og et negativt prøveresultat forteller bare at agensmengden i det undersøkte prøvematerialet er under deteksjonsgrensen: det vil si ikke nødvendigvis fraværende. Prøven kan også være fri for agenset, mens fisken prøven er fra kan være smittet. Dette kan skje f.eks. ved at infeksjonen er lokalisert og prøven er tatt fra vev som ikke er infisert. Andre forhold, ikke bare analysetekniske, vil altså kunne påvirke hvor korrekt en analyse klassifiserer det materialet man er interessert i, som henholdsvis smittet eller ikke smittet.

Testing enkeltprøvenivå vs. populasjoner

Tross begrensninger med PCR testing kan en imidlertid designe overvåking som med svært høy statistisk sannsynlighet kan avgjøre om en populasjon er smittet med ILAV eller ikke. Det er med andre ord mulig å definere en populasjon smittefri og en stor fordel å bruke slike i avl. Hvis slike populasjoner ikke finnes, kan man forsøke å selekere smittefrie fisk i en smittet populasjon. For ILAV anser vi at det høyst trolig bare unntaksvis skjer ekte vertikal overføring, og da ved generalisert infeksjon som kan inkludere gonader. Dersom testing av indre organer (hjerte/nyre) og rognvæske alle gir negativt svar, vil bruk av rogn kun fra disse negative fisk gi sterkt redusert sannsynlighet for smitteoverføring. I tillegg må biosikkerhetstiltak for (re)kontaminering være tilstrekkelige.

Veterinærinstituttet trenger test positivt materiale for virusdyrking og helgenomsekvensering

For FoU prosjekt mht. etablering av ILAV fri stamfiskbestander, trenger Veterinærinstituttet test positivt materiale: prøver fra pcr testing og prøver av kassert rogn på transportmedium. Om mulig vil nedfrosset nyre/hjerte materiale være svært verdifullt å få med hensyn på cellekultur, og samme prøvemateriale kan nyttes for helgenomsekvensering.

Med vennlig hilsen



Edgar Brun
Avdelingsdirektør
Avd. for fiskehelse og -velferd
Veterinærinstituttet



Ole Bendik Dale
Seniorforsker, OIE/WOAH ekspert på ILA
Avd. for fiskehelse og -velferd
Veterinærinstituttet

Referanser

1. Cottet L, Rivas-Aravena A, Cortez-San Martin M, Sandino AM, Spencer E. Infectious salmon anemia virus--genetics and pathogenesis. *Virus Res.* 2011 Jan;155(1):10-9. doi: 10.1016/j.virusres.2010.10.021. Epub 2010 Oct 25. PMID: 20979983.
2. Risikovurdering - stamfiskovervåking og vertikal smitteoverføring, Uttalelse fra Faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 11.01.11 ISBN: 978-82-8082-384-7 VKM Report 2010: 01
3. Marshall SH, Ramirez R, Labra A, Carmona M, Muñoz C. Bona fide evidence for natural vertical transmission of infectious salmon anemia virus in freshwater brood stocks of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Southern Chile. *J Virol.* 2014 Jun;88(11):6012-8. doi: 10.1128/JVI.03670-13. Epub 2014 Mar 12. PMID: 24623436; PMCID: PMC4093878.
4. Christiansen, D.H.; Petersen, P.E.; Dahl, M.M.; Vest, N.; Aamelfot, M.; Kristoffersen, A.B.; Jansen, M.D.; Gallagher, M.D.; Matejusova, I.; Jónsson, G.; et al. No Evidence of the Vertical Transmission of Non-Virulent Infectious Salmon Anaemia Virus (ISAV-HPR0) in Farmed Atlantic Salmon. *Viruses* 2021, 13, 2428. <https://doi.org/10.3390/v13122428>
5. FHF prosjektrapport 901673 Risiko for vertikal overføring av ikke-virulent variant av infeksjøs lakseanemi (ILAV-HRP0) , Universitet i Bergen, Aquagen, Blue Analytic <https://www.fhf.no/prosjekter/prosjektbasen/901673/>