

# Rapport

## Sammendrag av epidemiologiske rapporter om utbrudd av ILA i Norge 2004

Trude M. Lyngstad  
Edgar Brun  
Peder A. Jansen  
Berit Tafjord Heier

Til Mattilsynet  
Fra Veterinærinstituttet  
Dato 11.03.2005



**Veterinærinstituttet**  
National Veterinary Institute

## Innhold

Innhold .....	2
Sammendrag .....	3
Innledning .....	3
Omtale av de enkelte ILA-utbruddene i 2004.....	6
Anlegg innenfor kontrollsonene .....	12
Smittespredning via mekaniske vektorer .....	19
Romlig fordeling av ILA-lokaliteter .....	26
Genotyping av 2004 ILA-virus isolat .....	26
Konklusjon.....	27
Etterord.....	27
Vedlegg 1: En analyse av romlig fordeling av lokaliteter med infeksiøs lakseanemi (ILA) .....	28
Vedlegg 2: Genotyping av ILA virus fra utbruddene i 2004 .....	32
Vedlegg 3: Litteraturliste .....	36

## Sammendrag

Veterinærinstituttet har oppsummert epidemiologiske rapporter om primærutbrudd av infeksøs lakseanemi (ILA) på lokaliteter med atlantisk laks (*Salmo Salar* L.) og regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) i Norge i 2004. Informasjonen er samlet inn av Mattilsynets distriktskontorer i henhold til direktiv 93/53/EEC Art. 8.1. Distriktskontorene har ikke gjort bruk av felles standardformat ved registrering, hvert enkelt utbrudd er derfor blitt rapportert med ulik grad av detaljopplysninger. Rapportene inneholder kun utbruddsdata og har ikke gitt grunnlag for å trekke analytiske konklusjoner eller sammenstilling av informasjon i forhold til ILA-fri lokaliteter.

Rapportene viser at ILA opptrer i et svært sammensatt klinisk bilde. Ofte sees langvarige problemer med forskjellige spesifikke og uspesifikke diagnoser og variabel dødelighet på lokalitetene i forkant av at ILA-mistanke oppstår. Sjeldnere sees mer akutte utbrudd. I gjennomsnitt sto fisken 15 måneder på sjølokaliteten før mistanke oppsto, varierende fra 7 til 21 måneder (31 måneder for infisert stamfisk).

Av de totalt 13 lokalitetene med primærutbrudd mottok 10 av dem fisk fra flere enn én smoltleverandør. Smolten ble fraktet i brønnbåt over lange avstander fra settefiskanlegg til sjølokalitet i 10 av de totalt 13 primærutbruddene. Brønnbåttrafikken til lokalitetene er generelt ulikt og ufullstendig dokumentert. På samtlige ILA-lokaliteter var det kun satt ut en laksegenerasjon. Størrelsen på utsettene varierer fra ca 200.000 til 900.000 smolt pr lokalitet.

I enkelte tilfeller er fiskegrupper flyttet til nye sjølokaliteter etter sjøsetting. Det er ellers ingen indikasjoner på at smitte er spredt fra infiserte lokaliteter med utstyr, personell eller lignende før ILA er mistenkt.

En statistisk rom-analyse basert på lokalitetene i Havbruksregisteret viste at lokaliteter med positiv ILA-diagnose hadde signifikant flere nabolokaliteter med positiv ILA-diagnose enn forventet ut fra tilfeldigheter. ILA-lokaliteter synes med andre ord å ligge nær hverandre i rom, et resultat som samsvarer med tidligere epidemiologiske undersøkelser som konkluderte med at nærhet til ILA-infiserte lokaliteter er en risikofaktor.

Genotypisk karakterisering av hemagglutiningenet (HE-genet) viste at isolatene fra de ulike utbruddene (lokalitetene) grupperte i henhold til de foreslåtte gruppene G1, G2 og G3. De ulike gruppene finnes langs hele kysten. Isolatene viste videre lokalitetsavhengige forskjeller på HE-genets HPR-område. Variasjonene på dette området kan indikere at isolatene mer utvikler seg fra et felles opphav enn gjennom innbyrdes mutasjoner. Kunnskapen rundt genotypene er mangelfull og den påviste variasjonen på hemagglutiningenet kan pr idag ikke brukes til å dokumentere "slektskap" mellom utbrudd eller vise til sikker sporing av smittekilder.

Den epidemiologiske informasjonen som er samlet inn gir ikke tilstrekkelig grunnlag for å si noe om utbruddenes mulige smittemessige opprinnelse. Mer enhetlig og grundigere innsamling av data, videre utvikling av diagnostikk og økt kunnskap om de ulike genotypene, er nødvendig for i større grad å kunne klargjøre dette punktet. Tilstedeværelse av smittebærere i miljøet kan ikke ekskluderes og må undersøkes videre.

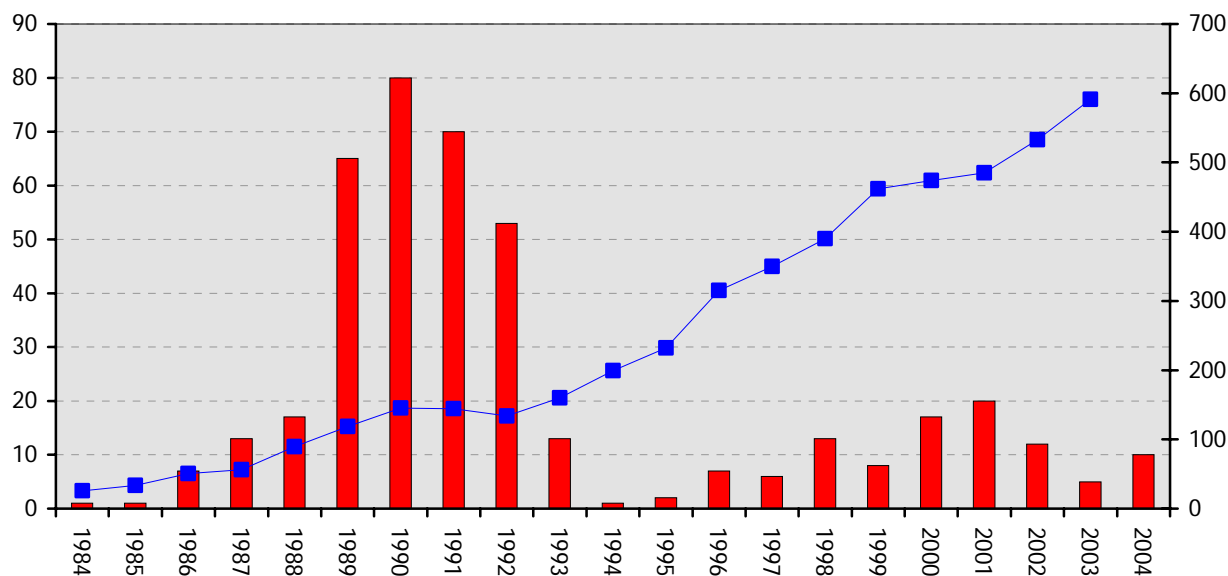
## Innledning

Infeksøs lakseanemi (ILA) er en virussykdom hos atlantisk laks. Den ble først diagnostisert i Norge i 1984 (Thorud og Djupvik, 1988). Siden den tid er sykdommen blitt registrert i Canada (1996), Skottland (1998), Chile (1999), Færøyene (2000), USA (2001) og Irland (2002).

Utbruddet i Skottland i 1998 var det første rapporterte tilfellet i den Europeiske Unionen. EU har klassifisert ILA som en sykdom i gruppe 1. I Norge ble ILA gjort varslingspliktig som en gruppe B sykdom i 1988.

Det er rapportert totalt 441 utbrudd av ILA i Norge i perioden fra 1984 til 2004. Figur 1 viser antall utbrudd og årlig lakseproduksjon på landsbasis i denne perioden. Det årlige antallet utbrudd nådde en topp i 1990, med totalt 80 tilfeller. Myndighetene besluttet i 1989 å innføre forbud mot bruk av sjøvann i

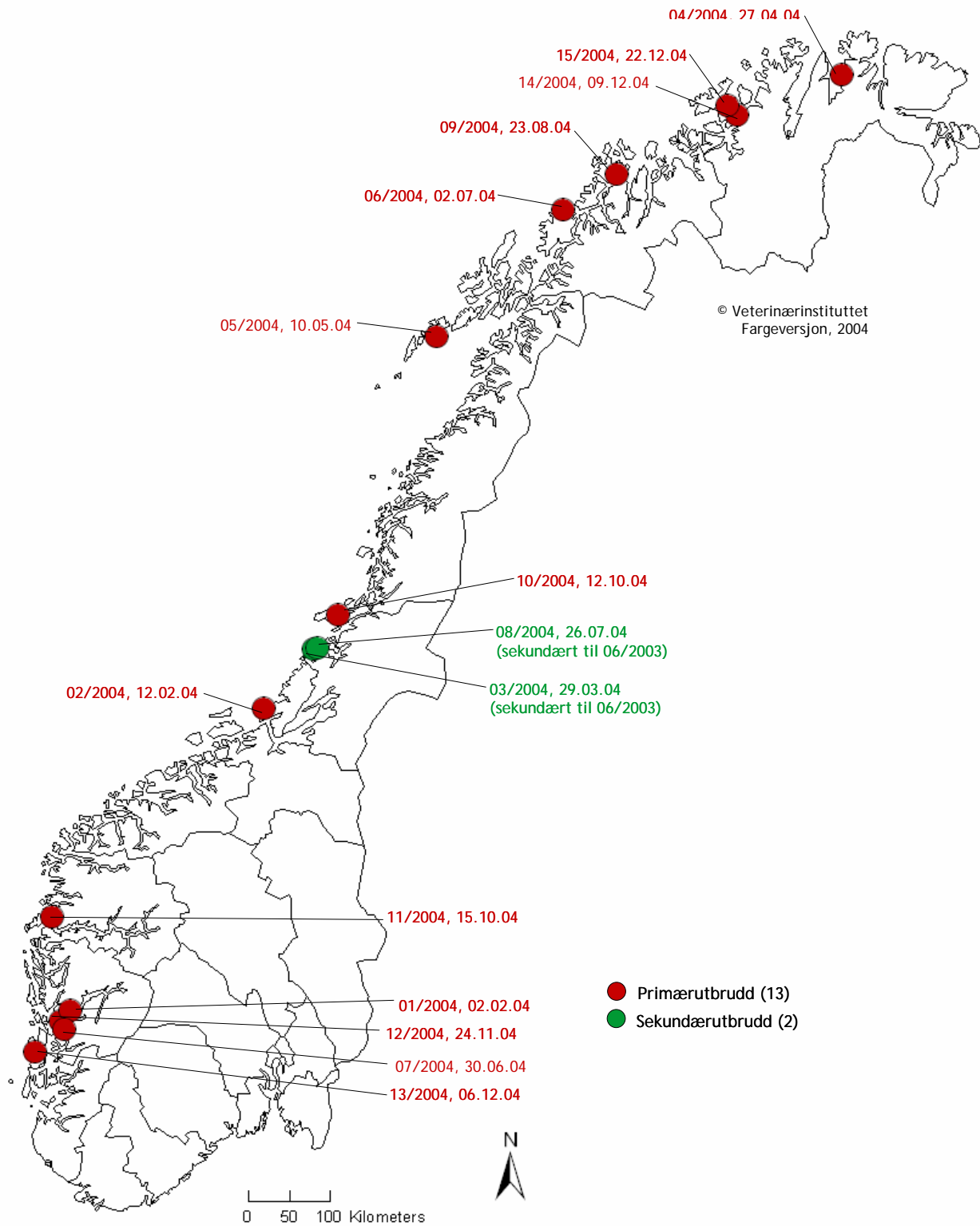
klekkerier, forbud mot flytting av fisk fra ett sjøvannsanlegg til et annet, og påbud om helsesertifikater for akvakulturanlegg.



Figur 1. Antall bekreftede ILA-utbrudd (røde stolper) og lakseproduksjon i 1.000 tonn (blå linje) i Norge fra 1984 til 2004.

I 1991 ble det innført regler om desinfisering av spillvann fra slakterier, behandlingsanlegg og smolttransport. Siden 1993 har den årlige forekomsten av ILA variert mellom 1 og 20 utbrudd. Lakseproduksjonen har økt nesten hvert eneste år siden 1984, og lå i 2003 på ca. 591.000 tonn.

Denne rapporten oppsummerer de epidemiologiske undersøkelsene som ble utført i 2004 av Mattilsynets lokale distriktskontorer i henhold til artikkel 8.1 i Direktiv 93/53/EEC om primærutbrudd. Primærutbrudd defineres som det første utbrudd i et område uten klare smittemessige kontakter med andre smittede lokaliteter i området. Sekundærutbrudd er utbrudd som oppstår som en antatt følge av primærutbruddet. Av de 13 primærutbruddene i 2004 var 5 i Hordaland, 3 av utbruddene var i Finnmark, Trøndelag og Troms hadde 2 utbrudd hver, mens Nordland hadde ett utbrudd. Figur 2 viser den geografiske lokaliseringen av akvakulturanleggene med ILA i 2004.



Figur 2. Geografisk lokalisering og dato for ILA-utbrudd i Norge i 2004.

## Omtale av de enkelte ILA-utbruddene i 2004

Rapportene fra lokalitetene der ILA er påvist, viser at ILA kan opptre plutselig med akutte symptomer eller komme i etterkant av en lengre periode med (moderat) økt dødelighet på grunn av ulike spesifikke eller uspesifikke sykdomsproblemer. ILA kan forekomme alene eller i kombinasjon med andre sykdommer. Det kliniske bildet er sammensatt og det er pr i dag ikke mulig si hvor lenge smitten kan ha vært i anlegget før det oppstår mistanke om ILA.

Tabell 1 gir en oversikt over den epidemiologiske informasjonen fra rapportene om primære ILA-utbrudd i Norge i 2004. Nedenfor følger detaljopplysninger om hvert enkelt utbrudd.

### Utbrudd 01/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "13057, Teigland I" den 15. oktober 2002. Det ble ikke meldt om sykdomsproblemer før man i desember 2003 registrerte uspesifikke symptomer hos fisken. Helsekontroll konkluderte med vintersår og finneråte. På dette tidspunktet hadde man begynt å slakte fisken i anlegget. De uspesifikke sykdomssymptomene fortsatte utover i januar 2004. Dødeligheten var rapportert å være ubetydelig.

De kliniske symptomene ble ikke vurdert som typiske for ILA, men 16. januar 2004 ble det likevel tatt prøve på slakteriet. Undersøkelse av prøven hos Veterinærinstituttet indikerte at ILA ikke kunne utelukkes. Det ble tatt nye prøver fra slakteriet 22. januar 2004. De kliniske funnene var fortsatt uspesifikke. ILA ble verifisert 29. januar 2004. Fisken fra merdene med påvist ILA-smitte var slaktet da verifikasjonen forelå.

Laksen sto 15 måneder i sjø før mistanke om ILA oppsto.

### Utbrudd 02/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "12795, Tiltervågen" den 9. og 26. mai 2002. Fisken ble sortert og omfordelt ved anlegget 3 ganger: første gang 19.-21. november, andre gang 6.-13. juni 2003, og tredje gang 2., 15.-16. oktober 2003. En del av fisken ble overført til sjøvannslokaliteten "13083, Steinvikodden" ved den tredje sorteringen.

Det har vært lite sykdomsproblemer og tap på dette utsettet. Infeksiøs pankreasnekrose (IPN) ble diagnostisert sommeren 2002. Dødeligheten var imidlertid lav, og bare et lite antall fisk viste kliniske symptomer på IPN. Det ble ikke meldt om noen spesielle sykdomsproblemer etter dette, med unntak av sår på fisk i en av merdene der det seinere ble oppdaget ILA ved "13083, Steinvikodden".

Slaktning av fisken på lokalitetene "12795, Tiltervågen" og "13083, Steinvikodden" startet 3. september 2003 og fortsatte frem til 11. mars 2004. Den 14. januar 2004 ble det tatt ut prøver av fisk for RT-PCR analyse med tanke på ILA virus i forbindelse med planlagt transport av fisk til Rogaland for slaktning.

Dødeligheten i en av merdene ved "13083, Steinvikodden" var 0,3 % pr dag de siste 26 dagene før ILA mistanken oppstod 10. februar 2004. Mistanken var basert på økt dødelighet, positive RT-PCR resultater og makroskopiske patoanatomiske lesjoner.

Laksen sto 21 måneder i sjø før mistanke om ILA oppsto.

### Utbrudd 04/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "19335, Eidemolla" den 12. mai og 12. juni 2003. I februar 2004 ble det observert en liten økning i dødeligheten, < 0,5 % pr dag i en av merdene, kombinert med uspesifikke funn ved obduksjon. Dødeligheten økte til 0,5-2 % pr dag i mars 2004, og til 2-7 % pr dag i april 2004. Det ble tatt prøver fra merden den 22. mars 2004 og disse ble undersøkt for ILA-virus. Resultatene støttet opp under mistanken om ILA. Videre obduksjonsundersøkelser viste en blanding av fisk med uspesifikke funn og fisk med funn som var i overensstemmelse med ILA. Ytterligere laboratorieundersøkelser verifiserte endelig ILA-diagnosen.

Laksen sto 10 måneder i sjø før det oppsto mistanke om ILA.

### Utbrudd 05/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "11193, Gamskjæran" i 4 omganger: 15. mai, 5. juni, 22. juli og 3. oktober 2003. Det ble ikke meldt om økt dødelighet eller andre tegn på sykdom før det oppstod akutt dødelighet i februar 2004. Prøver som ble undersøkt i februar og mars 2004, var negative med hensyn til ILA. Det ble antatt at dødeligheten var forårsaket av lav sjøvannstemperatur. Situasjonen normaliserte seg i mars og april 2004, selv om det fremdeles ble observert økt dødelighet i kombinasjon med vintersår og finneråte. Fiskehelsetjenesten tok selv ut prøver 23. april og gjennomførte sammen med Mattilsynet, ytterligere prøvetaking og kliniske undersøkelser 4. mai 2004. Både kliniske tegn og funn fra obduksjon av død fisk var på dette tidspunktet forenlige med ILA. Prøvene ble også undersøkt av Veterinærinstituttet. ILA ble bekreftet.

I perioden 1.-12. mai 2004 var dødeligheten i den infiserte merden 1,1 % pr dag. I den samme perioden var dødeligheten 0,03 % pr dag i de andre merdene ved anlegget.

Laksen sto 7-12 måneder i sjø før mistanke om ILA oppsto.

### Utbrudd 06/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "13794, Kråksølvneset" i 3 omganger: 11. juni, 11. juli og 24. juli 2003. Fisken var generelt av dårlig kvalitet og helse. Den 9. oktober 2003 ble kardiomyopatisyndrom (CMS) diagnostisert. I juni 2004 ble det varslet om økende dødelighet, spesielt i 2 merder der dødeligheten gikk opp fra 0,025 % til 0,2 % pr dag.

Fiskehelsetjenesten og Mattilsynet utførte en helsekontroll den 25. juni 2004. Symptomer forenlige med ILA ble observert. Prøver ble undersøkt av Veterinærinstituttet og ILA ble bekreftet.

Laksen sto 12 måneder i sjø før mistanke om ILA oppsto.

### Utbrudd 07/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "12077, Tveitnesvik" i 3 omganger: 1. september, 7. oktober og 6. november 2003. Det ble meldt om sykdomsproblemer 3 uker etter overføringen i oktober 2003. Samlet dødelighet var 0,6 ‰ pr dag de første 3 månedene, og dødeligheten ble assosiert med IPN. En helsekontroll utført 13. januar 2004 rapporterte om fisk med vintersår og uspesifikke kliniske symptomer. Fisk fra "12077, Tveitnesvik" ble overført til lokaliteten "13232, Eidsvikøy NV" den 16. februar 2004. Den 11. juni 2004 ble det utført helsekontroll på "13232, Eidsvikøy" og en del av fisken var da klinisk syk med uspesifikke sykdomssymptomer. I perioden fra 16. februar til 6. juni 2004 hadde det gjennomsnittlig vært en dødelighet på 0,6 ‰ pr dag på lokaliteten og store problemer med vintersår. Ved kontrollen ble det tatt prøver for ILA testing, både fra tilsynelatende frisk fisk og fra fisk med sykdomssymptomer. Undersøkelsene ga indikasjoner på at ILA ikke kunne utelukkes. Ved ny kontroll 5. juli 2004 var helsesituasjon forbedret, unntatt i én merd der dødeligheten var 0,7 ‰ pr dag. Obduksjon av fisk fra denne merden viste symptomer som var forenlige med ILA. Nye prøver bekreftet ILA diagnosen.

Laksen sto 7-9 måneder i sjø før mistanke om ILA oppsto.

### Utbrudd 09/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "10753, Strandmo" i mer enn 4 omganger: den 3., 18., 20., og 25.-27. mai 2003. Det ble meldt om høy dødelighet og sykdomsproblemer allerede fra overføringen, og det ble senere diagnostisert IPN, parvicapsula-infeksjon og pankreassyke (PD).

Fisken ble sortert og omfordelt 10.-11. juni 2004. Fra 16. juli til 18. august 2004 var gjennomsnittlig dødelighet 0,5 ‰ pr dag i en av merdene og 0,25 ‰ pr dag i en annen. Obduksjoner utført av fiskehelsetjenesten og Mattilsynet 11. og 17. august 2004 viste symptomer som var forenlige med ILA. ILA ble deretter verifisert ved laboratorieundersøkelser.

Laksen sto 15 måneder i sjø før mistanke om ILA oppsto.

### Utbrudd 10/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "12715, Steinsøya" i 4 omganger: 6., 14., 29. mai samt 6. juni 2003. Det ble snart meldt om økt dødelighet, og det ble diagnostisert IPN den 23. juni 2003. Fisken ble sortert i oktober-november 2003.

I april 2004 ble det utført undersøkelser på grunn av økt dødelighet som konkluderte med *Vibrio salmonicida* infeksjon. Fisken ble igjen sortert 12.-15. juli 2004. Økt dødelighet ble registrert den 14. august 2004 ble forklart med høy sjøvannstemperatur og lavt oksygenivå i merdene. Innen august 2004 hadde slaktingen startet. I oktober 2004 oppstod det mistanke om ILA på grunn av kliniske symptomer i en av merdene.

Fisken sto 16 måneder i sjø før det oppsto mistanke om ILA.

### Utbrudd 11/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "11645, Hatlem Vest" i 4 omganger: 3. og 21. januar, 27. mai og 11. juli 2003. Det ble meldt om økt dødelighet etter notskifte og lusebehandling i slutten av juni 2004. Undersøkelser foretatt av fiskehelsetjenesten 30. juni 2004 viste symptomer forenlige med CMS. Nye undersøkelser foretatt 21. juli 2004 viste imidlertid obduksjonsfunn forenlige med ILA. Prøver ble også tatt ut og analysert av Veterinærinstituttet. I august ble dødeligheten rapportert å være avtakende og obduksjonsfunnene var ikke spesifikke for ILA.

Laksen sto 12-19 måneder i sjø før det oppsto mistanke om ILA.

### Utbrudd 12/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "12047, Mjånes " i 4 omganger: 16. april, 18. april, 19. april og 26. mai 2002. Stamfiskgruppene ble flyttet til "12048, Skiftenestet N" 8. januar 2004. Den øvrige fisken på lokalitet "12047, Mjånes" ble slaktet ut ca 1 ½ - 2 år etter den ble satt ut på sjøvannslokaliteten.

Stamfisken som ble flyttet til "12048, Skiftenestet N" sto der fram til den ble tatt opp i ferskvannsanlegget "12110, Nystølvågen" i juni/juli (uke 27) 2004.

Parasittær gjellebetennelse ble påvist i august 2004. Det også ble meldt om økt dødelighet i august 2004. Dødeligheten fortsatte å øke utover høsten, og prøver tatt ut i november 2004 hadde funn som samsvarte med ILA.

Stamfisken sto 26 måneder i sjø, samt 5 måneder i kar på land før det oppsto mistanke om ILA.

### Utbrudd 13/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten "11574, Breivik S" i 3 omganger: 24. april, 1. mai og 13. oktober 2003. Lokaliteten var plaget med PD i juli/ august 2004. Etter at fisken ble splittet i november steg dødeligheten. Undersøkelser foretatt i slutten av november viste symptomer forenlige med ILA.

Laksen sto 13-19 måneder i sjø før det oppsto mistanke om ILA.

### Utbrudd 14/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten i 4 omganger 2. mai, 22. mai, 20. juni og 28. juni 2003. Lokaliteten er værhard, og en del av dødeligheten gjennom året antas å skyldes mekaniske skader. IPN ble diagnostisert 28. august 2003. Vintersår og skjelltap ble påvist 16. februar 2004, og etter sortering i mai 2004 ble det på ny rapportert om økt dødelighet, katarakt og skjelltap. Den 14. september 2004 ble det påvist manetskader. I november 2004 ble det igjen rapportert om økt dødelighet, og obduksjon av fisk og videre laboratorieundersøkelse av prøver indikerte ILA.

Laksen sto 17-18 måneder i sjø før det oppsto mistanke om ILA.



## Utbrudd 15/2004

Det ble overført smolt til sjøvannslokaliteten i 5 omganger 5. mai, 11. mai, 12. mai, 24. mai og 22. juni 2003. Etter sortering i juni/juli ble det funnet sår og skjellskader på fisken. I slutten av september ble det rapportert om økt dødelighet i etterkant av splitting av merder. Dødeligheten på lokaliteten var rapportert til å være 1,19 % i oktober. Det ble rapportert om øyeskader. Fisken hadde på dette tidspunktet ikke symptomer forenlig med ILA. Dødeligheten fortsatte utover i november, og undersøkelser foretatt av Mattilsynet og Veterinærinstituttet i desember 2004 indikerte ILA.

Laksen sto 18-19 måneder i sjø før det oppsto mistanke om ILA.

Tabell 1. Sammendrag av de epidemiologiske rapportene om primærutbrudd av ILA i 2004

Primær-utbrudd	01/2004	02/2004	04/2004	05/2004	06/2004	07/2004	09/2004
Fylke	Hordaland	Trøndelag	Finmark	Nordland	Troms	Hordaland	Troms
Sjøanleggets ID	13057, Teigland	13083, Steinvikodden	19335, Eidemolla	11193, Gamskjæran	13794, Kråkesølvneset	13232, Eidsvikøy	10753, Strandmo
Art	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>
Sjøsettingsdatoer	15. oktober 2002	9. mai 2002 26. mai 2002	12. mai 2003 12. juni 2003	15. mai 2003 5. juni 2003 22. juli 2003 3. oktober 2003	11. juni 2003 11. juli 2003 24. juli 2003	1. september 2003 7. oktober 2003 6. november 2003	3. mai 2003 18. mai 2003 20. mai 2003 25. mai 2003 26. mai 2003 27. mai 2003
Antall smolt utsatt <sup>2</sup>	228.900	704.379	371.405 (29. mars 2004)	480.000	670.001	580.000 (16. februar 2004)	670.001
Sortering	Ikke rapportert	November 2002, juni 2003, oktober 2003	Ikke rapportert	Februar 2004	Juni 2004	Februar 2004	Juni 2004
ILA-mistanken oppstod	26. januar	10. februar	1. april	12. mai	29. juni	18. juni	18. august
Periode <sup>3</sup>	15 måneder	21 måneder	10-11 måneder	7-12 måneder	12 måneder	7-9 måneder	15 måneder
Dødelighet	Dødeligheten rapportert som ubetydelig	0,3 ‰ per dag i de siste 26 dagene før mistanke om ILA i infisert merd	0,5 ‰ per dag i februar 2004, 0,5-2 ‰ per dag i mars 2004, 2-7 ‰ per dag i april 2004 i infisert merd	Akutt dødelighet i februar 2004: 1,1 ‰ per dag 1.-12. mai 2004 i infisert merd	0,025-0,2 ‰ per dag i 2 merder fra 22. juni 2004	0,6 ‰ per dag fra 16. februar til 6. juni 2004 (gjennomsnittlig dødelighet)	0,5 ‰ per dag i én merd og 0,25 ‰ per dag i en annen fra 16. juli til 18. august 2004
Kliniske symptomer	Januar 2004: Diffuse uspesifikke symptomer	Februar 2004: Symptomer forenlige med ILA	Mars/april 2004: Både uspesifikke symptomer og symptomer forenlige med ILA	April 2004 og mai 2004: Symptomer forenlige med ILA <sup>4</sup>	Juni 2004: Symptomer forenlige med ILA	Juni 2004: Både uspesifikke symptomer og symptomer forenlige med ILA	Symptomer forenlige med ILA
Andre sykdommer/problemer enn ILA	Desember 2003: Diffuse, uspesifikke symptomer, finneråte og vintersår	Sommer 2002: IPN januar 2004: Vintersår	Mars 2004: Parvicapsula	Februar 2004: Vintersår og finneråte	9. oktober 2003: Kardiomyopatisyndrom (CMS)	Oktober 2003: IPN Januar 2004: Vintersår	29. juli 2003: IPN 11. august 2003: Parvicapsula 9. desember 2003: PD

Forts. Tabell 1

Primær-utbrudd	10/2004	11/2004	12/2004	13/2004	14/2004	15/2004
Fylke	Trøndelag	Sogn og Fjordane	Hordaland	Hordaland	Finmark	Finmark
Sjøanleggets ID	12715, Steinsøya	11645, Hatlem Vest	12110, Nystølvågen	11574, Breivik S	10790, Olderfjord	15517, Tinnlandet
Art	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup> /Ørret	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>	Atlantisk laks <sup>1</sup>
Sjøsettingsdatoer	6. mai 2003 14. mai 2003 29. mai 2003 6. juni 2003	3. januar 2003 21. januar 2003 27. mai 2003 11. juli 2003	16. april 2002 18. april 2002 19. april 2002 26. mai 2002 <sup>5</sup>	24. april 2004 1. mai 2003 13. oktober 2003	2. mai 2003 22. mai 2003 20. juni 2003 28. juni 2003	6. mai 2003 11. mai 2003 12. mai 2003 24. mai 2003 22. juni 2003
Antall fisk ved sjøanlegget <sup>2</sup>	413.000	420.983	701.791	892.276	643.743	569.628
Sortering	Oktober/november 2003, juli 2004	20. juli 2003, august/september 2003	November 2004	November 2004	30. mai 2004	Juni/juli 2004
ILA-mistanken oppstod	7. oktober	23. juli	17. november	22. november	6. desember	2. desember
Periode <sup>6</sup>	16 måneder	12-19 måneder	31 måneder	13-19 måneder	17-18 måneder	18-19 måneder
Dødelighet	Økt dødelighet i juni 2003, april/mai 2004 og august 2004	Økt dødelighet i juni 2004	Økt dødelighet i august 2004	Økt dødelighet i november 2004	Økt dødelighet i mai 2004 og november 2004	Økt dødelighet i september og oktober 2004
Kliniske symptomer	Symptomer forenlige med ILA	Både uspesifikke symptomer og symptomer forenlige med ILA	Symptomer forenlig med ILA	Symptomer forenlig med ILA	Symptomer forenlig med ILA	Diffuse/ uspesifikke symptomer
Andre sykdommer/ problemer enn ILA	23. juni 2003: IPN 12. februar 2004: Eiteliocystis 21. april 2004: <i>Vibrio Salmonicida</i> 14. august 2004: Slimete gjeller	7. mars 2003: IPN 30. juni 2004: Symptomer forenlig med CMS.	August 2004: Parasittær gjellebetennelse	Juli-august 2004: PD	28. august 2003: IPN 16. februar 2004: Vintersår 14. april 2004: Sår og skjelltap 30. mai 2004: Skader etter sortering, katarakt, skjelltap 14. september 2004: Manetskader	Juni/juli 2004: Skader etter sortering, skjelltap

<sup>1</sup> Sjøvannsoppdrettet atlantisk laks (*Salmo salar* L.)

<sup>2</sup> Antall fisk satt ut på lokaliteten

<sup>3</sup> Periode fra utsetting i sjø til mistanke om ILA

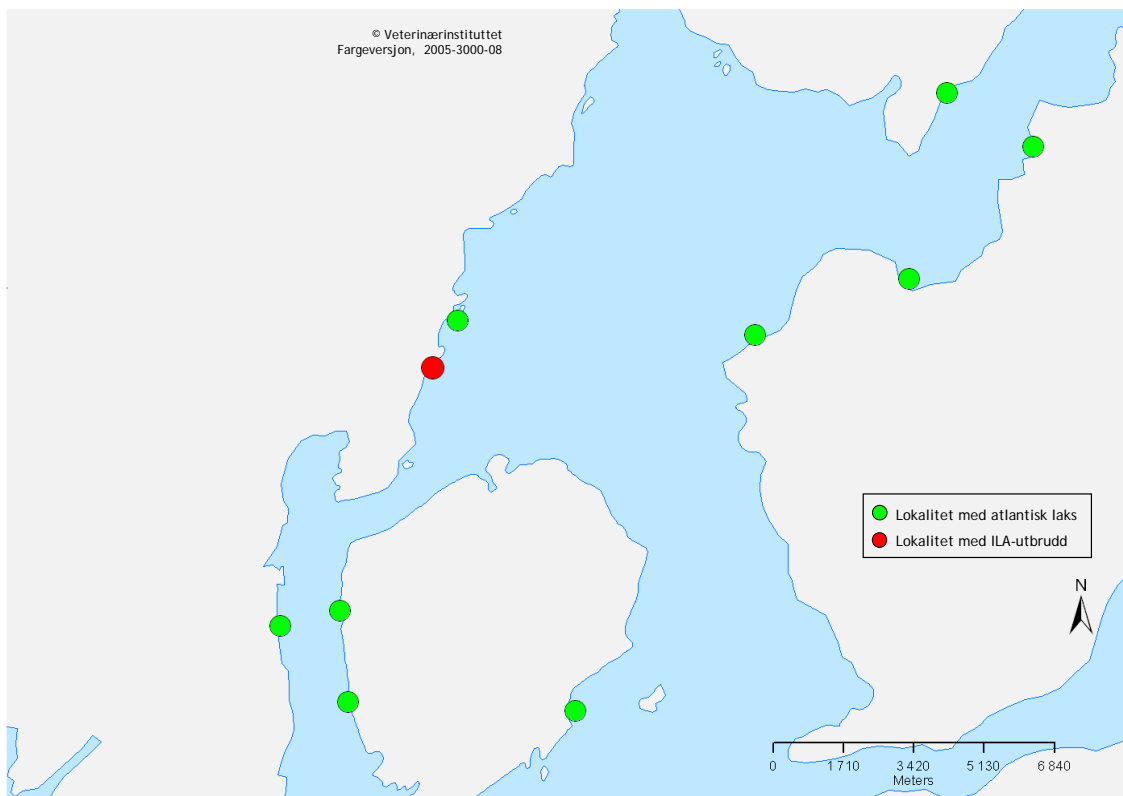
<sup>4</sup> Prøver undersøkt av Veterinærinstituttet i februar 2004 og mars 2004 gav ingen indikasjon på ILA

<sup>5</sup> Stamfisken ble holdt på land siste 6 måneder før ILA mistanke

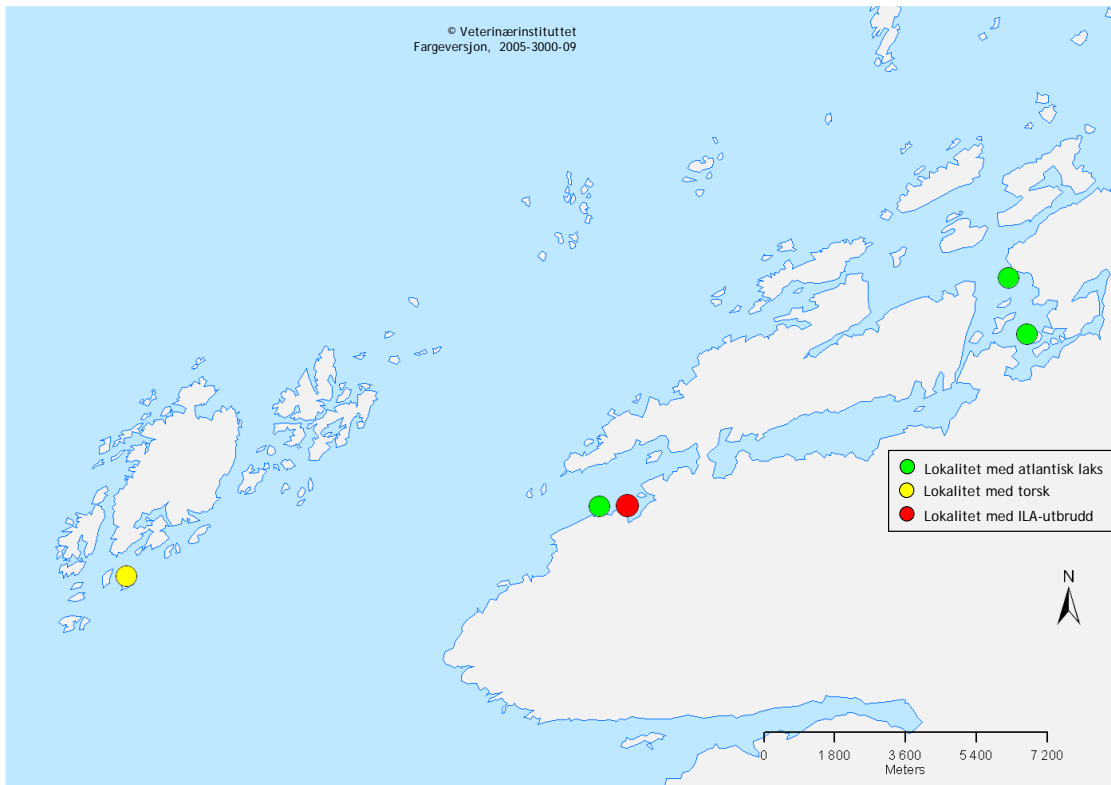
<sup>6</sup> Periode fra utsetting i sjø til mistanke om ILA

## Anlegg innenfor kontrollsonene

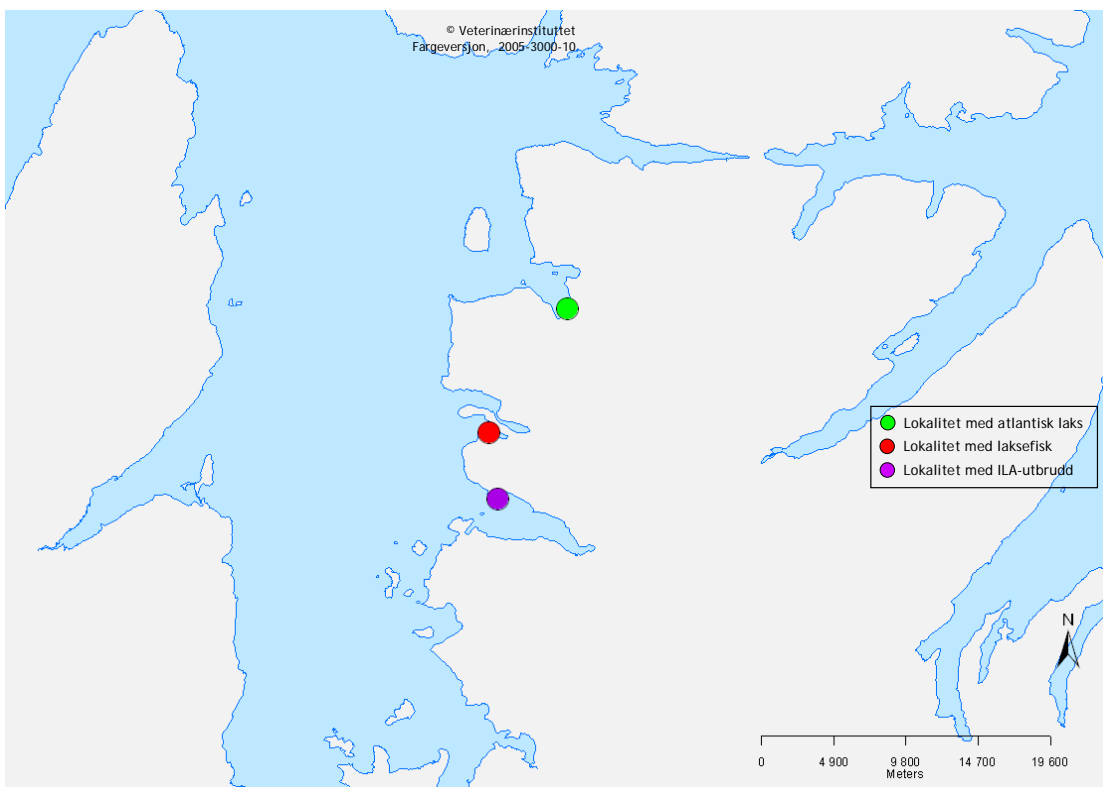
Figurene 3 til 15 viser akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert rundt hvert primærutbrudd med ILA.



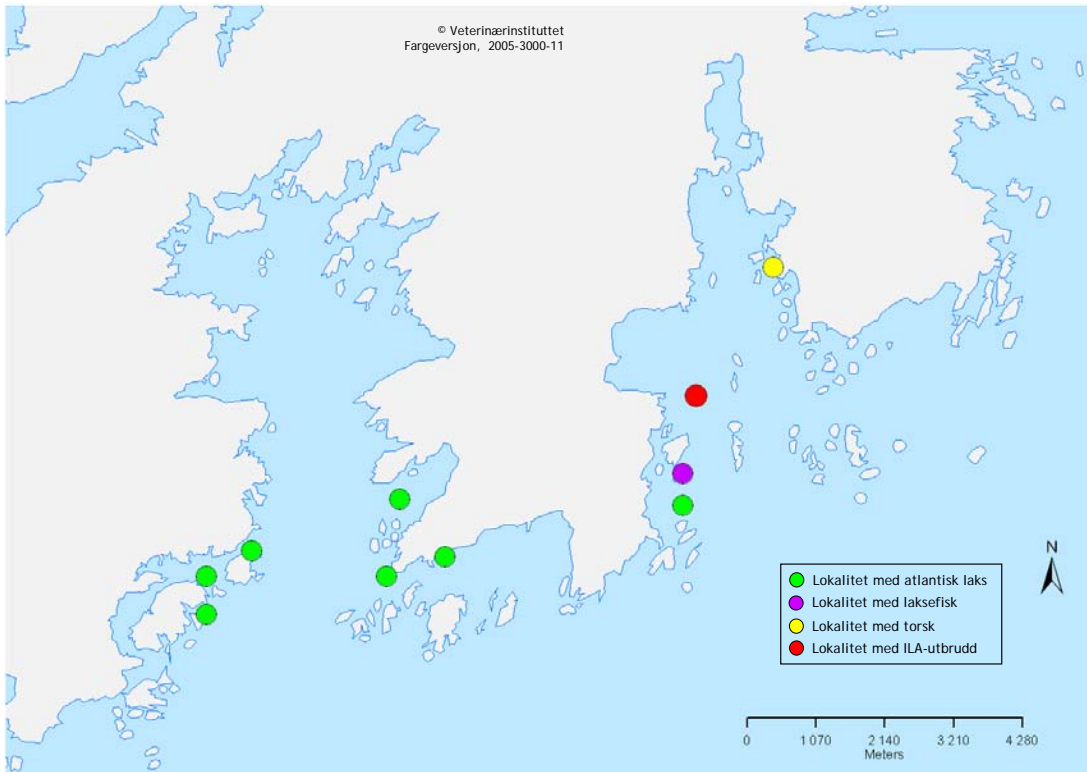
Figur 3. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 01/2004.



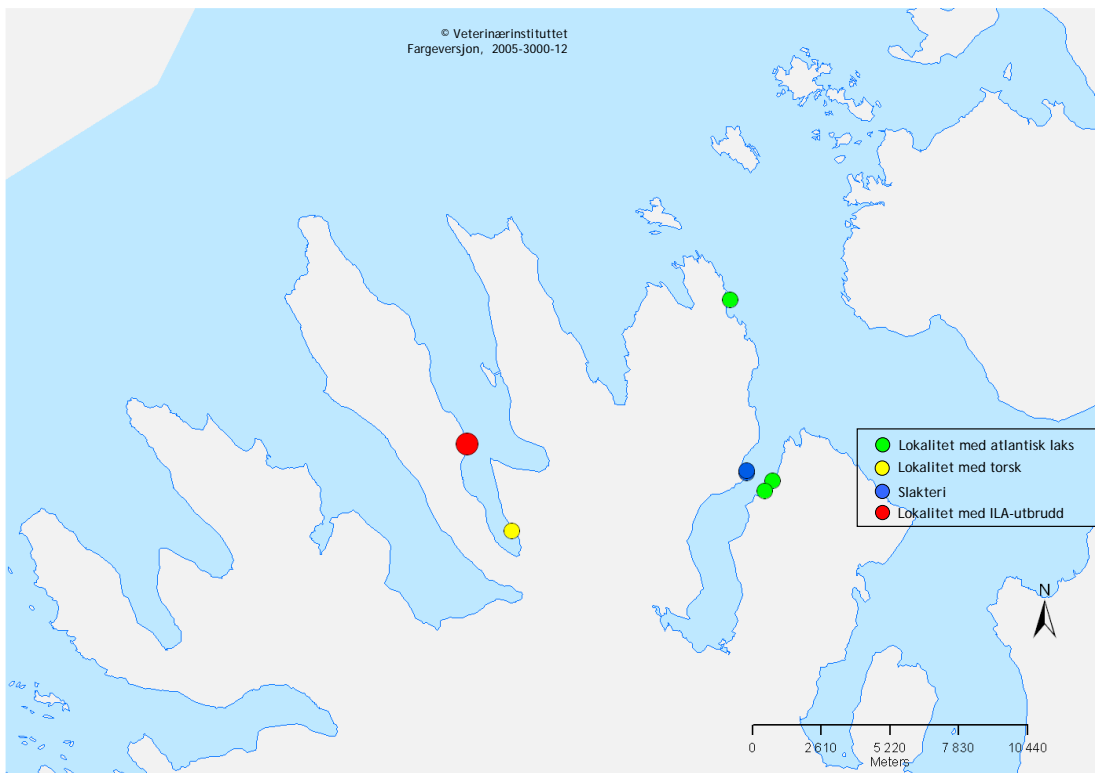
Figur 4. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 02/2004.



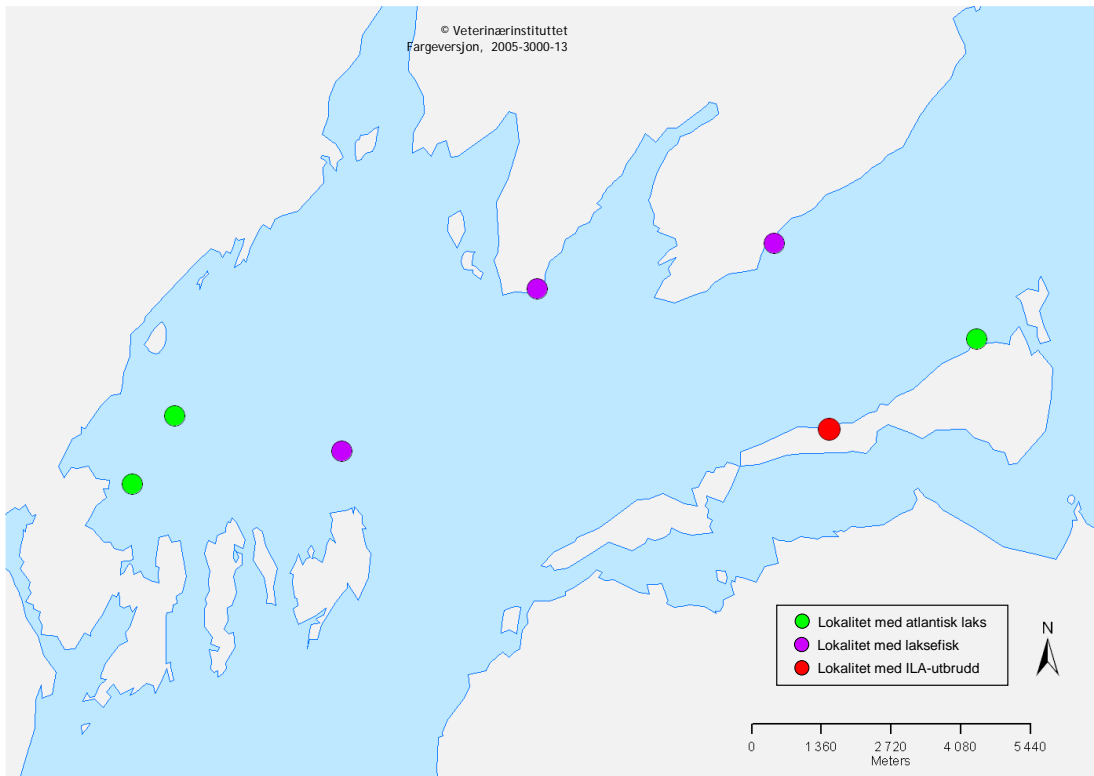
Figur 5. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 04/2004.



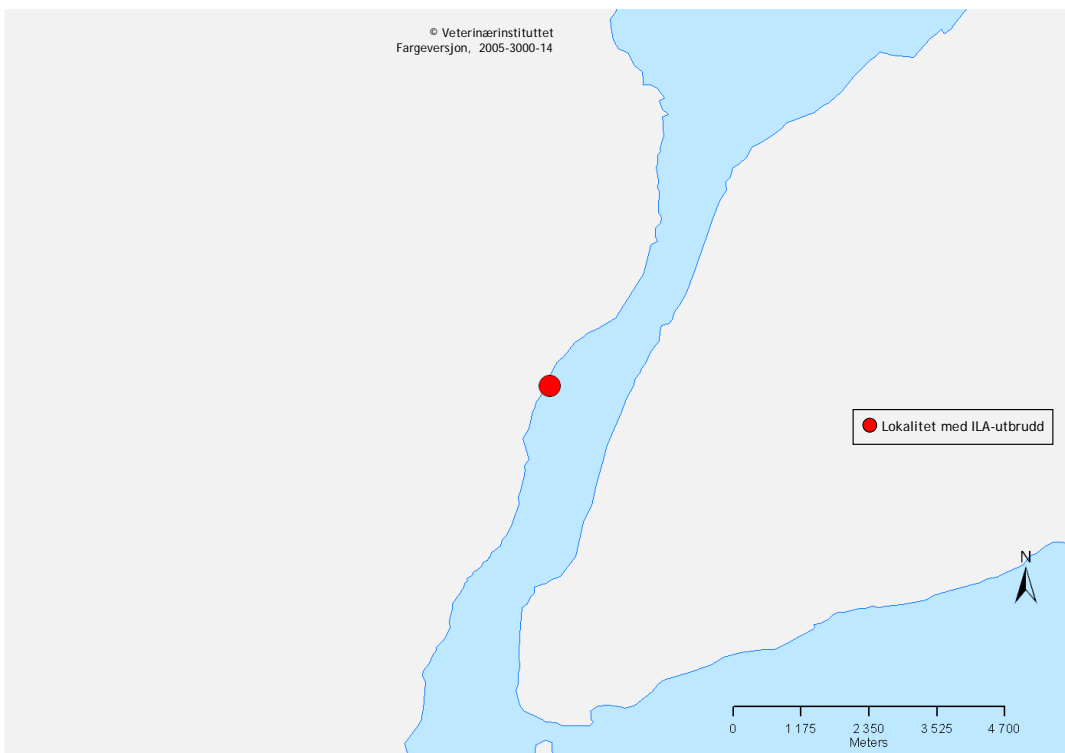
Figur 6. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 05/2004.



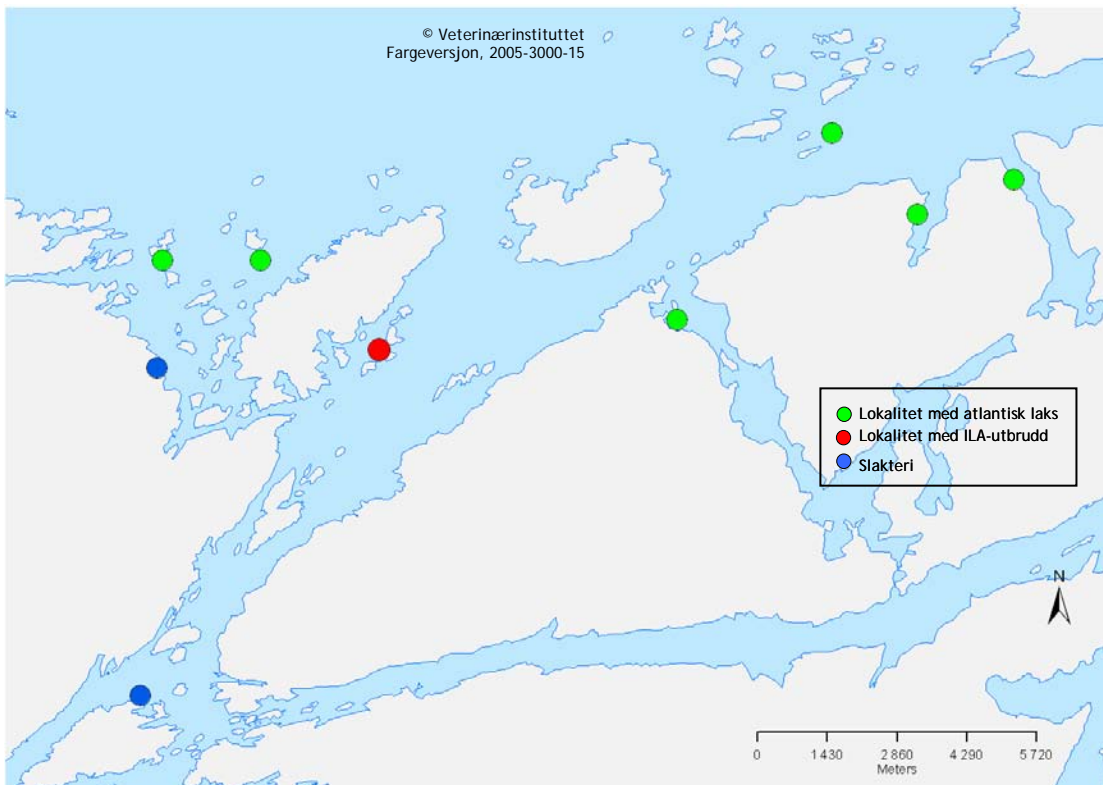
Figur 7. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 06/2004.



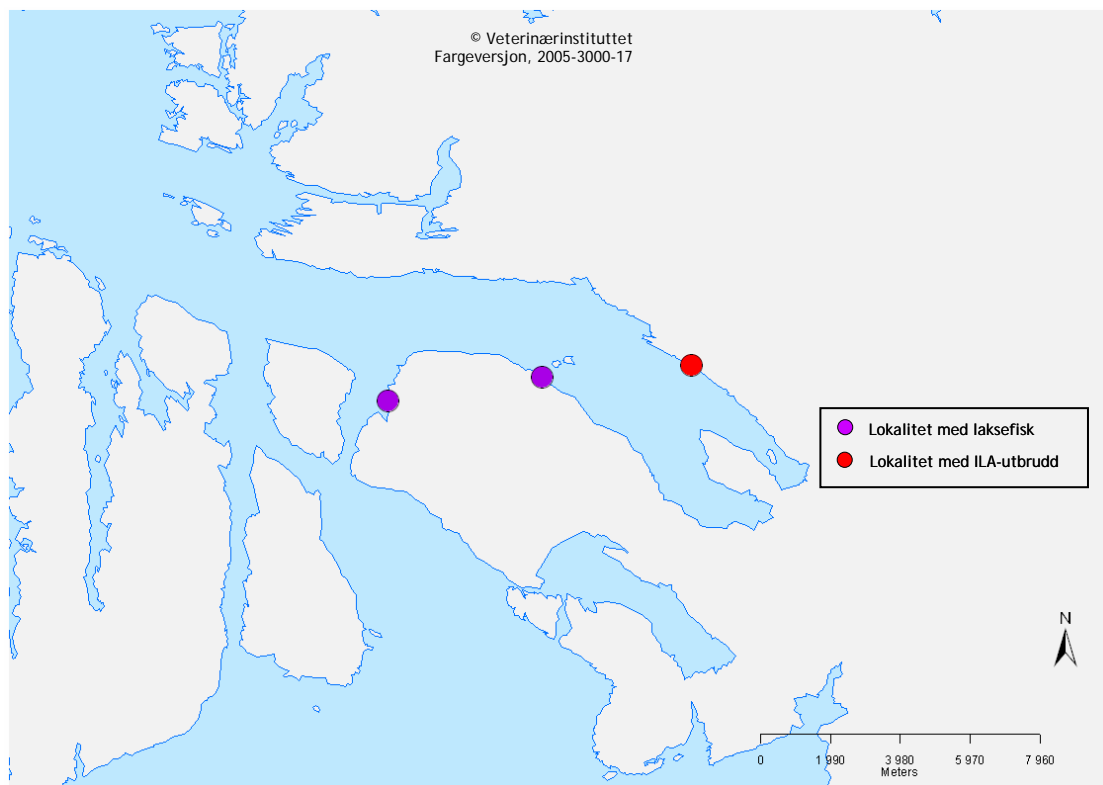
Figur 8. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 07/2004.



Figur 9. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 09/2004.

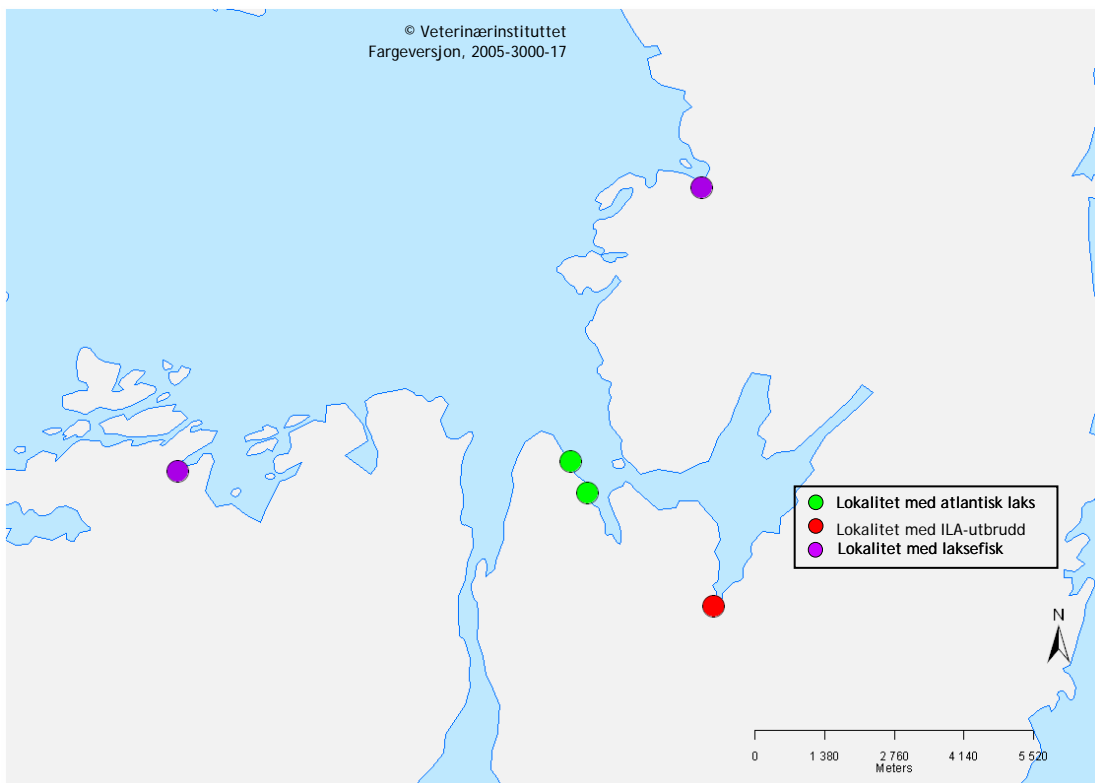


Figur 10. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 10/2004.

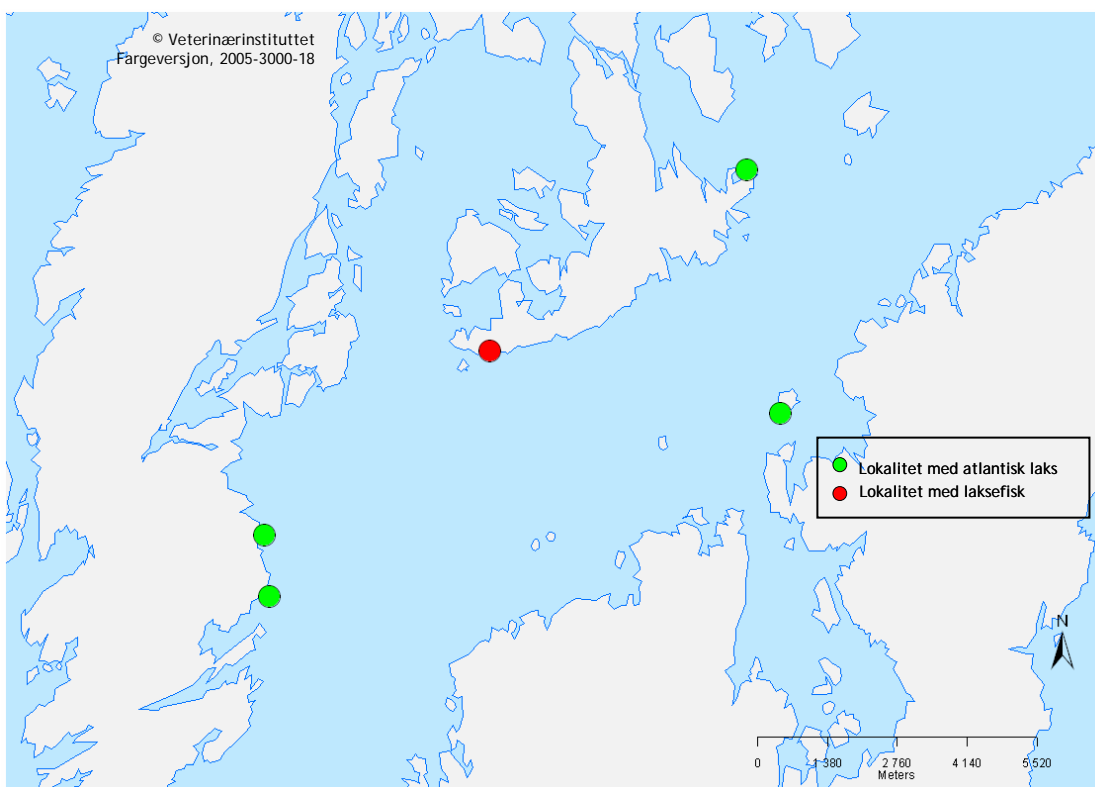


Figur 11. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 11/2004.

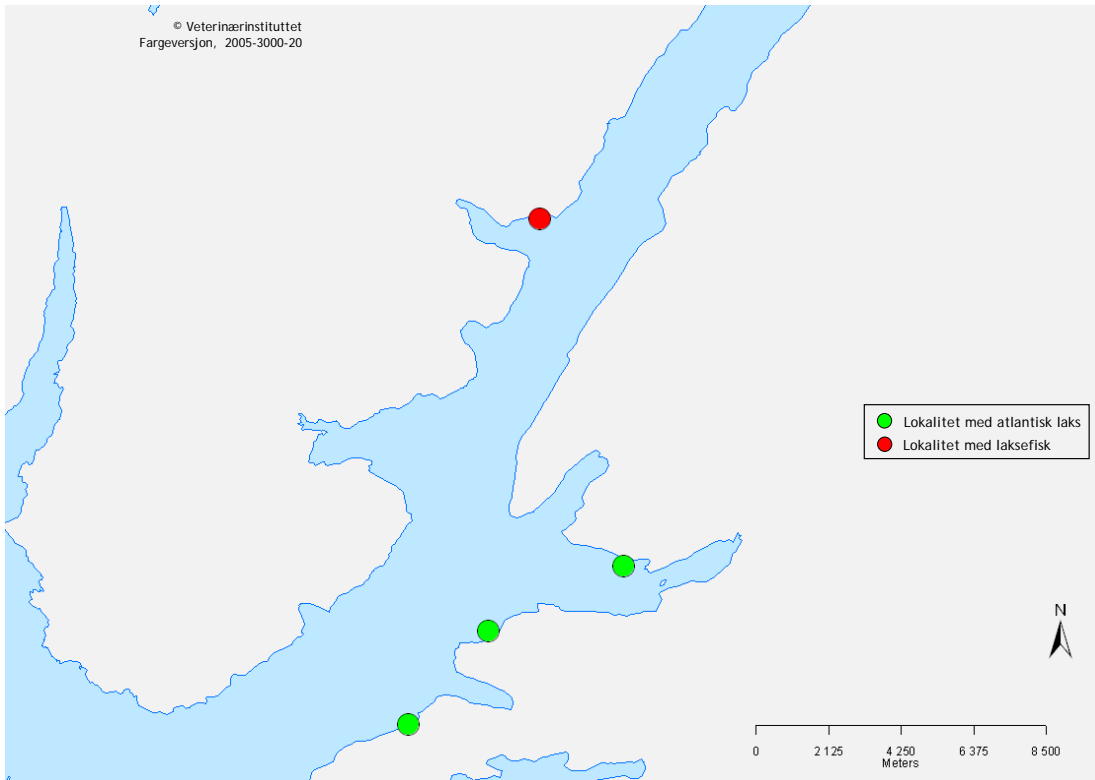




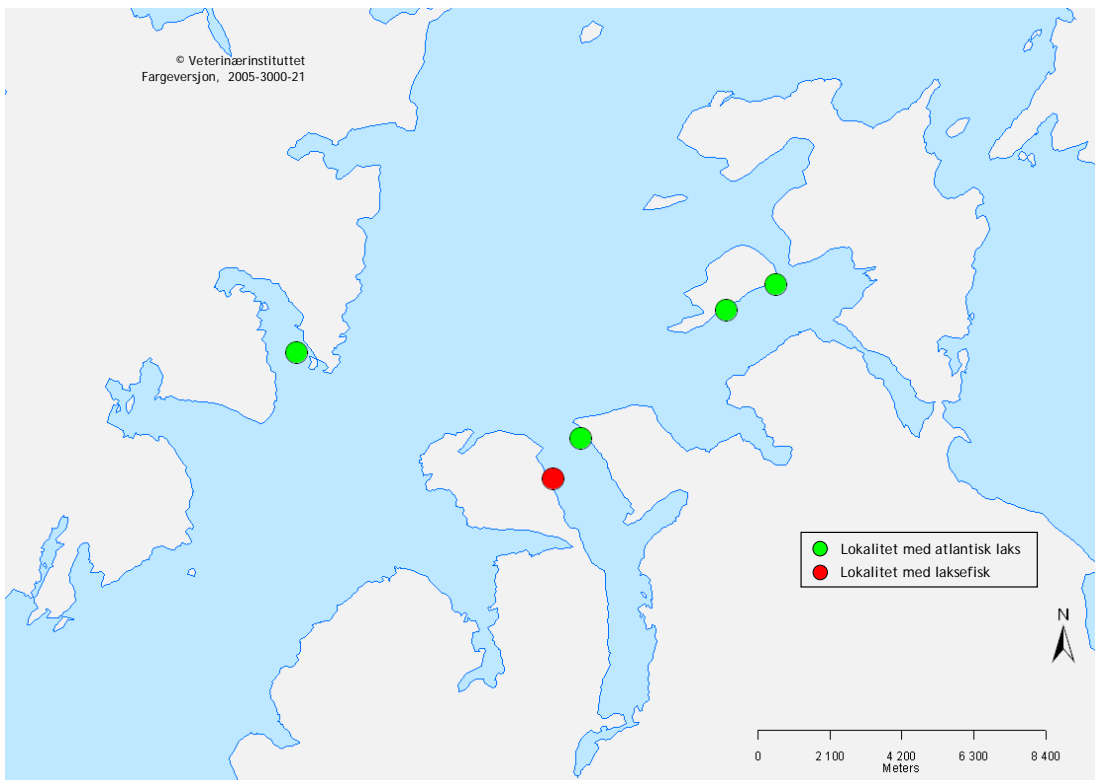
Figur 12. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 12/2004.



Figur 13. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 13/2004.



Figur 14. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 14/2004.



Figur 15. Geografisk lokalisering av akvakulturanlegg innenfor kontroll- og overvåkingssonen som ble etablert for utbrudd 15/2004.

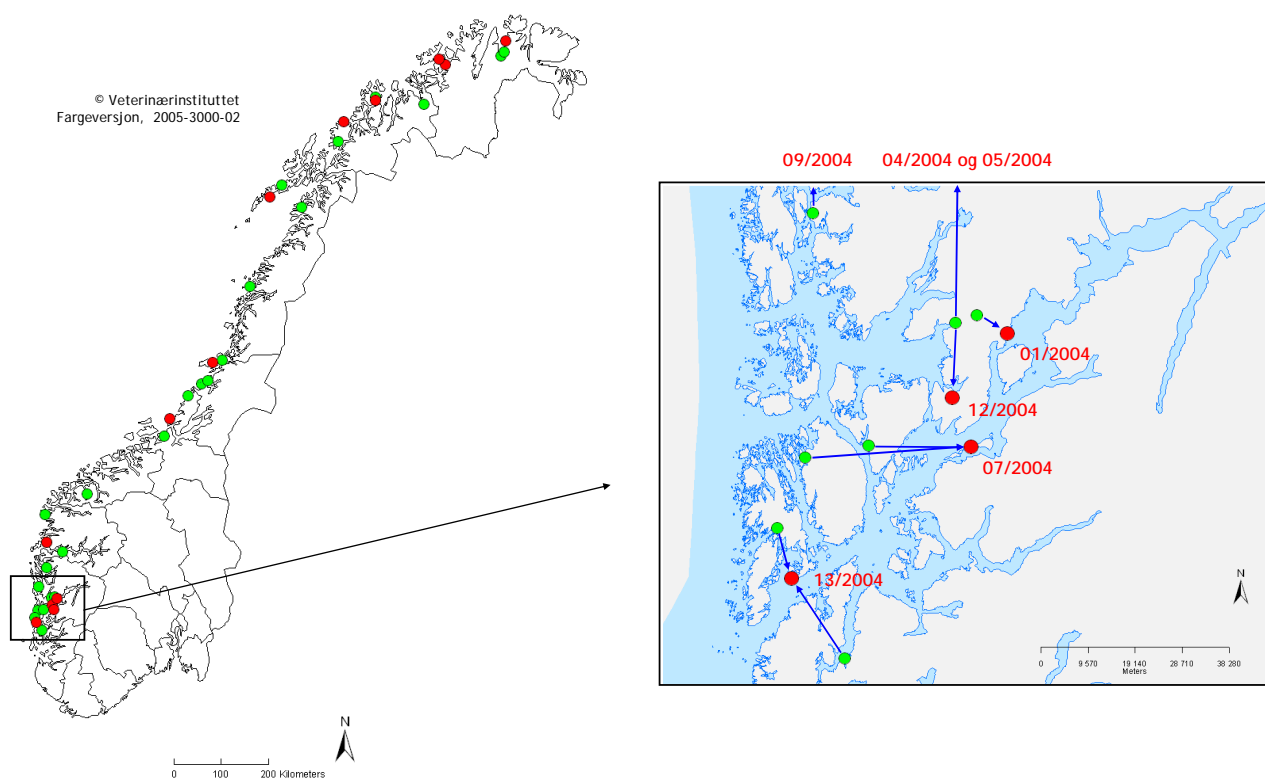
## Smittespredning via mekaniske vektorer

Rapportene fra Mattilsynet inneholder ikke informasjon som kan benyttes til sporing av mulige smittekilder/-veier for de berørte lokalitetene. Nedenfor presenteres den informasjon som er tilgjengelig om bevegelser inn og ut fra de aktuelle akvakulturanleggene og som kan ha betydning for smittespredning til andre akvakulturanlegg med fisk, egg og/eller gameter av mottakelige arter fra primæranleggene via andre mekanismer enn levende fisk.

Tabell 2 gir et sammendrag av denne informasjonen.

### Utbrudd 01/2004

Det er ikke gitt informasjon om bevegelser til kjøretøy, utstyr eller personer. Det aktuelle akvakulturanlegget lå i Hardanger, der ILA ble diagnostisert i 2001 og 2002. Figur 16 viser den geografiske lokaliseringen til anleggets smoltleverandør.



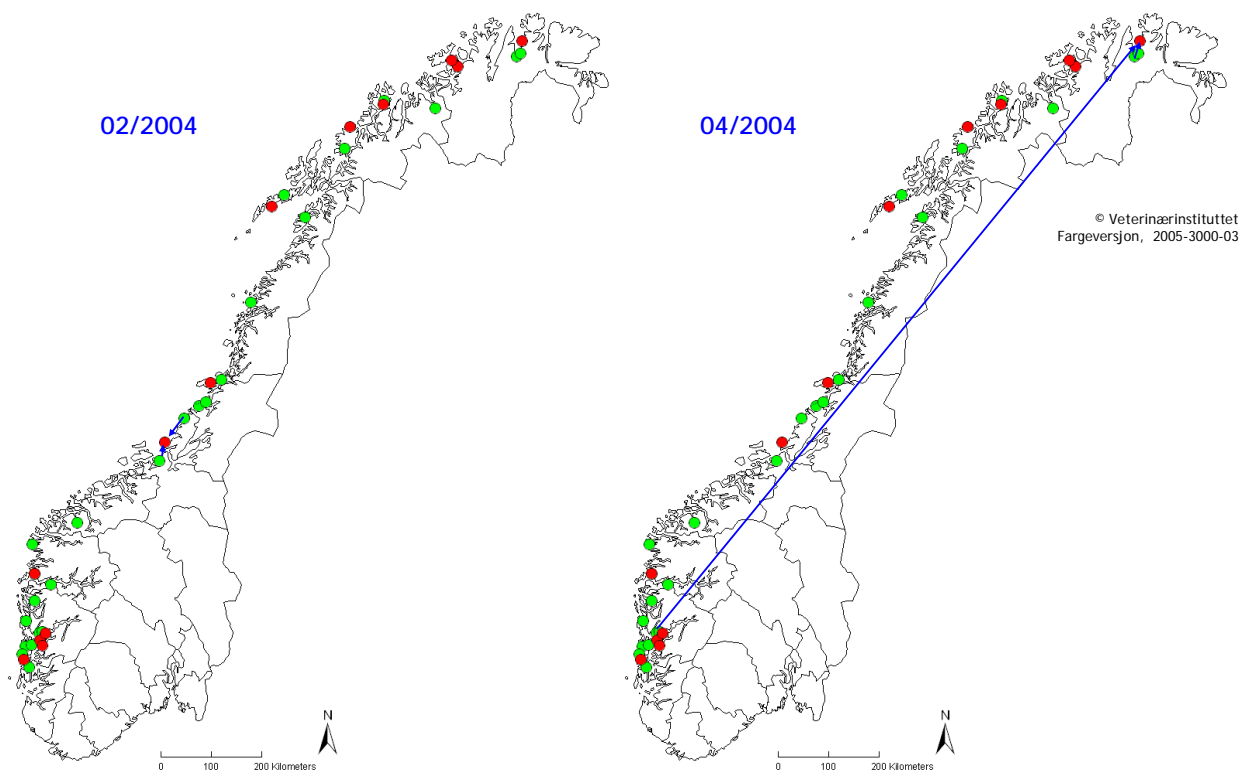
Figur 16. Smoltleverandører til utbrudd 01/2004, 07/2004, 12/2004 og 13/2004.

### Utbrudd 02/2004

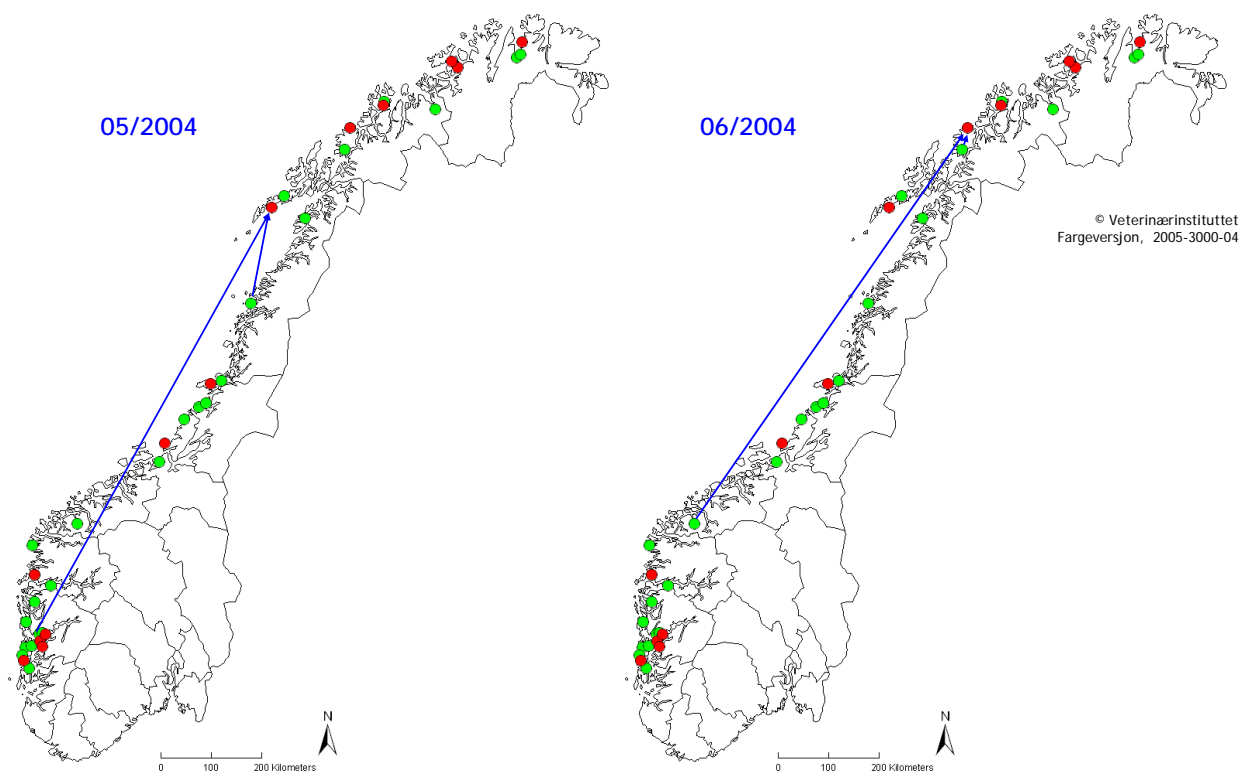
Sjøanlegget blir betjent av et landanlegg. Det er ingen kontakt mellom dette landanlegget og andre sjøanlegg for oppdrett av atlantisk laks, men det ligger i nærheten av et tilvirkingsanlegg for skjell. Det er ikke blitt brukt eksterne båter ved anlegget med unntak av brønnbåter som innleies for sortering av fisk. To av brønnbåtene som ble brukt ved sorteringen i oktober 2003 blir stort sett bare brukt av dette selskapet, men leies av og til ut for eksterne oppdrag. Fôret blir fraktet sjøveien til lokaliteten og lagres der på en egen flåte. Figur 17 viser den geografiske lokaliseringen av oppdrettanleggets smoltleverandører.

## Utbrudd 04/2004

I rapporten blir det hevdet at all trafikk til og fra anlegget blir utført på smittehygienisk sikkert vis. Det forrige ILA utbruddet i denne regionen var i 1994. ILA er ikke tidligere påvist innenfor en sone på 10 km fra dette utbruddet. Det har bare vært kontakt med andre akvakulturanlegg i form av brønnbåter og båter som frakter fôr. Samme brønnbåt som leverte smolt til denne lokaliteten, ble også brukt til å levere fisk til et annet anlegg i samme region. Figurene 16 og 17 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.



Figur 17. Smoltleverandører til utbrudd 02/2004 og 04/2004.



Figur 18. Smoltleverandører til utbrudd 05/2004 og 06/2004.

### Utbrudd 05/2004

Landanlegget befinner seg 1,5 km fra sjøanlegget. Død fisk blir transportert til land for behandling med maursyre. Ensillasjen blir hentet for videre behandling av et eksternt selskap. Føret fraktes med bil. Det ligger 3 andre lokaliteter henholdsvis 2 km, 1,3 km og 1 km unna. All fisk fra disse lokalitetene ble slaktet på slakteriet innenfor bekjempelsessonen. ILA er ikke påvist innenfor en radius på 10 km de siste 3 årene. Figur 18 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

### Utbrudd 06/2004

Allt utstyr blir rengjort og desinfisert før bruk på sjøanlegget. Fôr fraktes både med båt og bil. Død fisk blir behandlet på land med maursyre, og ensillasjen blir hentet for videre behandling av et eksternt selskap. En innleid brønnbåt ble brukt til sorteringsarbeid et par uker før utbruddet. Figur 18 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

### Utbrudd 07/2004

Dette anlegget lå i Hardanger, der det ble diagnostisert ILA i 2001 og 2002. Det foreligger ingen informasjon om bevegelsene til kjøretøy, utstyr eller personer. Figur 16 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

### Utbrudd 09/2004

Det er ikke blitt slaktet fisk ved sjøanlegget siden det fikk overført smolt i 2003. Det foreligger ingen rapporter om ulykker eller rømt fisk. Landanlegget ligger 300 meter fra sjøanlegget. Død fisk blir behandlet på land med maursyre, og ensillasjen blir hentet for videre behandling av et eksternt selskap.

Det brukes servicebåt mellom landanlegget og sjøanlegget. Det blir oppgitt at denne båten kun blir brukt til dette formålet. Akvakulturanlegget mottar fôr fra et produksjonanlegg i nærheten. Fôret fraktes til anlegget med båt og lastebil. Det ble brukt en brønnbåt fra Trøndelag til sortering av fisken. Brønnbåten ble rengjort og desinfisert før denne jobben, og den sorterte fisken ble omdistribuert i nyvaskede og desinfiserte merder. Figur 19 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

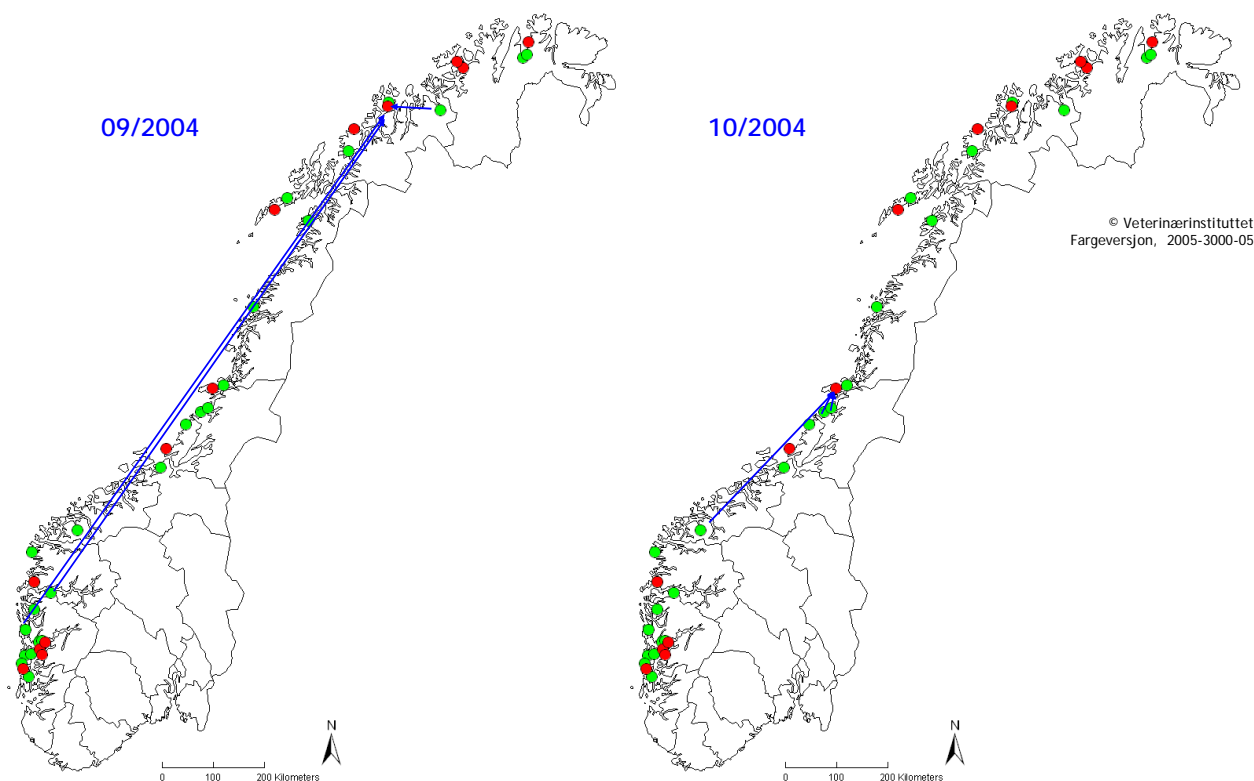
### Utbrudd 10/2004

Det ble brukt brønnbåt til sortering av fisken. To andre brønnbåter ble brukt til frakt av fisk for slaktning. Figur 19 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

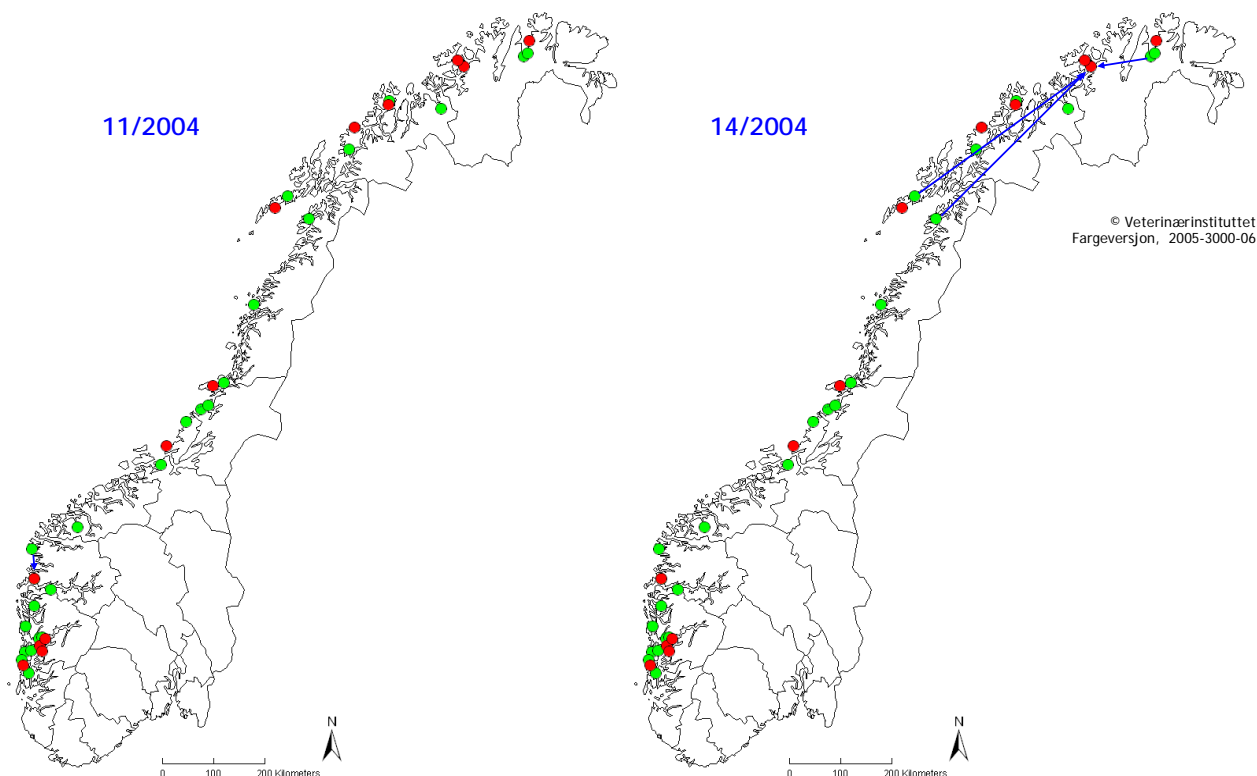
### Utbrudd 11/2004

En nabolokalitet, "11643, Hatlem Øst" ligger ca 1 km unna. Denne ble utslaktet i februar 2004 og er nå brakklagt. Siste ILA utbrudd innenfor 10 km sone var 30. oktober 2000.

Det ble brukt felles båt og mannskap mellom "11645, Hatlem Vest" og "11643, Hatlem Øst" i perioden juli 2003 til februar 2004. Felles utstyr ble også brukt mellom "11645, Hatlem Vest" og lokaliteten "10311, Storlia" som ligger ca 4 km unna. Brønnbåt er benyttet på "11645, Hatlem Vest" i forbindelse med utsett av smolt og sortering av fisk. Lokaliteten var brakklagt fra 15. mai 2002 til 3. januar 2003. Figur 20 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.



Figur 19. Smoltleverandører til utbrudd 09/2004 og 10/2004.



Figur 20. Smoltleverandører til utbrudd 11/2004 og 14/2004.

### Utbrudd 12/2004

Det blir oppgitt at anlegget har hatt gode rutiner forbundet med brakklegging, bruk av utstyr og personell. Informasjon om brønnbåttrafikk er ikke oppgitt. Figur 16 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

### Utbrudd 13/2004

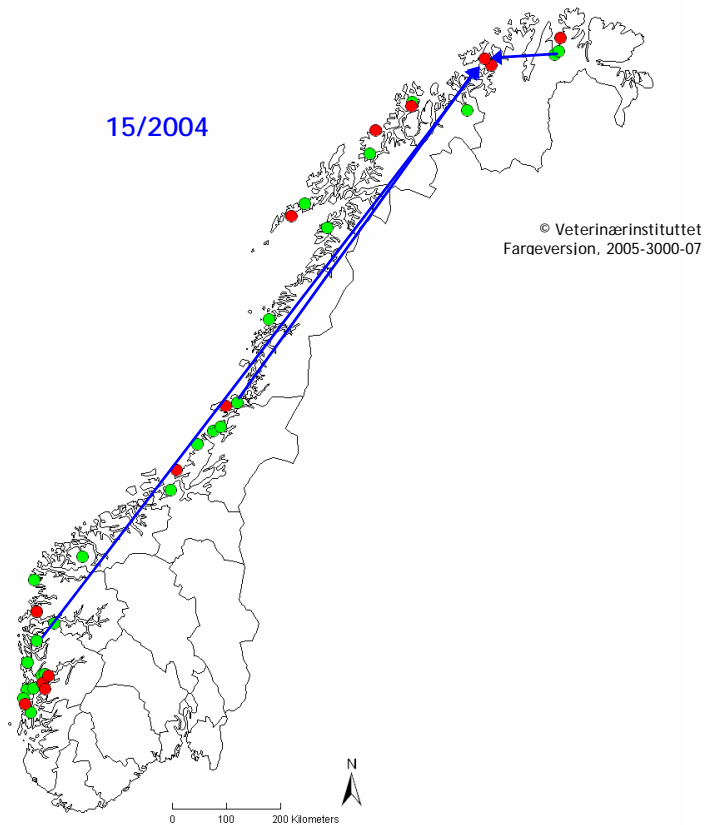
Lokaliteten var brakklagt 3 uker før smolt ble satt ut våren 2003. Fisken ble avluset 19. og 20. juni 2004. Sjølokaliteten er knyttet til en landbase med eget personell. Dødfisk blir hentet av et eksternt firma for videre behandling. Smolt som ble satt ut våren 2003 har blitt slaktet siden juni 2004. Det har derfor vært mye brønnbåttrafikk til og fra lokaliteten. Høstutsettet 2003 ble delt i oktober/november 2004 og flyttet internt i anlegget. Figur 16 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

### Utbrudd 14/2004

Lokaliteten ble først tatt i bruk i 2000, og lå brakk i ett år før fisk ble satt ut våren 2003. Lokaliteten betjenes av en egen landbase. Avstand mellom lokaliteten og landbasen er ca. 4,5 km. Egen båt benyttes til transport ut til forflåten som ligger ved landbasen, personell må skifte tøy, deretter brukes egen forbåt ut til lokaliteten. Dødfisk samles og tas med til forflåten for videre håndtering. Utstyr som benyttes på denne lokaliteten blir ikke brukt ved andre lokaliteter. Før leveres pr båt til forflåten. Brukte nøter vaskes ved Hammerfest Notservice. Nærmeste lakselokalitet ligger 12 km unna, og nærmeste lakseslakteri ligger 15 km unna. ILA er ikke påvist innenfor en 10 km sone de siste 10 årene. Figur 20 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.

## Utbrudd 15/2004

En lokalitet ("10835, Vegglandet") som ligger 2 km fra denne drives i samdrift, dvs. utstyr fra lokaliteten Tinnlandet brukes også på lokaliteten Vegglandet. En tredje lokalitet er lokalisert 7 km unna. Øvrige lokaliteter ligger mer enn 7 km unna. Død fisk fraktes med båt til flåten på nabolokaliteten Vegglandet for videre behandling. Intern båt brukes på disse lokalitetene. Fôr leveres til flåten tilhørende lokalitet Vegglandet. Brukte nøter vaskes ved Hammerfest Notservice. ILA er ikke påvist innenfor en sone på 10 km siste 3 år. Figur 21 viser den geografiske lokaliseringen av anleggets smoltleverandører.



Figur 21. Smoltleverandører til utbrudd 15/2004.



Tabell 2. Smoltleverandører, maks. transportavstand for smolt, og antall brønnbåt-anløp pr primærutbrudd i 2004.

Primær-utbrudd	Fylke	Sjøanleggets ID	Smoltleverandører	Maks. transport-avstand*	Antall brønnbåt-anløp**
01/2004	Hordaland	13057, Teigland	12103, Drageid Laks AS	10 km	1
02/2004	Trøndelag	13083, Steinvikodden	12596, Marine Harvest 13178, Marine Harvest	50 km	5
04/2004	Finnmark	19335, Eidemolla	10141, Sævareid Fiskeanlegg AS 10665, Ishavssmolt AS	> 1.800 km	2
05/2004	Nordland	11193, Gamskjæran	10141, Sævareid Fiskeanlegg AS 13923, Lødingen Fisk	> 1.100 km	7
06/2004	Nordland	13794, Kråksølvneset	11333, Troms Stamfiskprod. 12269, Urke Fiskeoppdrett	>1.000 km	4
07/2004	Hordaland	13232, Eidsvikøy	13826, Flatåker Settefisk AS 11493, Fitjar Laks AS	40 km	4
09/2004	Trøndelag	10753, Strandmo	11579, Firda settefisk AS 12177, Fjord Seafood Norway 10563, Dáfjord 10578, Dáfjord	> 1.300 km	7
10/2004	Trøndelag	12715, Steinsøya	12623, Flatanger settefisk 13742, Otterøysmolt 12269, Urke fiskeoppdrett	450 km	6
11/2004	Sogn og Fjordane	11645, Hatlem Vest	11678, Fjordfisk AS 13152, Firda Settefisk	75 km	4
12/2004	Hordaland	12110, Nystølvågen	10141, Sævareid Fiskeanlegg AS	20 km	4
13/2004	Hordaland	11574, Breivik S	11589, Bremnes Seashore 13637, Trovåg laks	36 km	4
14/2004	Finnmark	10790, Olderfjord	13140, Midt Finnmark Smolt AS 13191, Smolt 2000, NLA Åkvik 11180, Silver Seed, NLA Åkvik	600 km	5
15/2004	Finnmark	15517, Tinnlandet	13140, Midt Finnmark Smolt AS 12719, SSF Naustbukt 13482, SSF Kvingo	1500 km	6

\*) Omtrentlig avstand oppgitt

\*\*) Antallet anløp inkluderer bare sortering og overføring av smolt til sjøanlegg

## Romlig fordeling av ILA-lokaliteter

På bakgrunn av erfaringer og undersøkelser fra 90-tallet da hyppigheten av ILA-utbrudd var betydelig høyere enn i dag, antas det at ILA kan spres mellom nærliggende lakselokaliteter (Vågsholm med flere 1994, Jarp og Karlsen 1997). Gitt at slik spredning forekommer, må man forvente at lokaliteter med ILA vil tendere til å ligge nært hverandre i rom. Dette ble belyst ved å undersøke om lokaliteter med ILA-diagnose har flere nabolokaliteter med ILA-diagnose enn forventet ut fra tilfeldigheter.

Det totale antallet lokaliteter som inngår i analysen er 1.290, hvorav 1.266 var uten ILA-diagnose og derfor ble antatt å være fri for ILA-infeksjon (ILA-negative lokaliteter). De resterende 24 lokalitetene var ILA-positive lokaliteter. Ved disse lokalitetene ble det konkludert med påvist ILA i prøver sendt Veterinærinstituttet i løpet av 2003 og 2004. I den statistiske analysen ble en ILA-nabolokalitet definert som en ILA-positiv lokalitet som ligger innen 10 km sjøvei av en gitt lokalitet. Selve analysen omfattet en sammenligning av antall ILA-nabolokaliteter (innen 10 km sjøvei) til henholdsvis ILA-positive lokaliteter og ILA-negative lokaliteter. På grunn av avhengighetsforhold i romlige data ble det benyttet en statistisk metode med tilfeldige trekk av 24 av de 1.290 lokalitetene, og der antallet ILA-nabolokaliteter ble summert. Fordelingen av summen av ILA-nabolokaliteter i 5.000 slike trekk ble så sammenlignet med summen av ILA-lokaliteter som ble observert å ligge innen 10 km sjøvei av hverandre.

Det var bortimot 5 ganger (0,37/0,08) så stor andel av ILA-lokalitetene som hadde ILA-nabolokaliteter, enn det var ILA-negative lokaliteter som hadde ILA-nabolokaliteter. Ved 5.000 repeterte tilfeldige uttrekk av 24 av de totalt 1.290 lokalitetene i analysen var det kun 3 trekk der summen av ILA-nabolokaliteter var like høyt eller høyere enn 12, som var den observerte summen av ILA-nabolokaliteter for de 24 ILA-lokalitetene i analysen. Dette gir en estimert sannsynlighet på  $<0.001$ .

Lokalitetene med positiv ILA-diagnose hadde signifikant flere nabolokaliteter med positiv ILA-diagnose enn forventet ut i fra tilfeldigheter, slik at ILA-lokalitetene lå nært hverandre i rom. Dette samsvarer med tidligere undersøkelser som konkluderer med at nærhet til ILA-infiserte lokaliteter er en risikofaktor (Vågsholm med flere 1994; Jarp og Karlsen 1997). Disse tidligere undersøkelsene er fra en periode med vesentlig hyppigere utbrudd av ILA, og før en rekke tiltak for å begrense utbrudd ble iverksatt. Det er bemerkelsesverdig at samme tendens fremkommer i denne analysen selv med et relativt begrenset antall ILA-utbrudd i 2003 og 2004, og på tross av et forvaltningsregime som i større grad er innrettet mot å begrense ILA-utbrudd. En nærmere omtale av analysen er gitt i vedlegg 1.

## Genotyping av 2004 ILA-virus isolat

Isolater fra primærutbruddene i 2004 ble genotypet ved seksjon for virologi, Veterinærinstituttet (vedlegg 2). Hemagluttiningenet fra 2 isolater fra hvert utbrudd er sekvensert og karakterisert på det hypervariable område (HPR) og på et mer stabilt område i 5'enden.

Isolatene fra ILA-utbruddene viser stor variasjon på HPR og isolatene fra de ulike utbruddene i 2004 er alle forskjellige på dette domenet. Med unntak av ett av utbruddene, har begge isolatene fra ett og samme utbrudd lik aminosyresammensetning på HPR-området. Likheter mellom isolatene kan tyde på et felles utgangspunkt, samtidig som ulikheter mellom isolat kan indikere genetisk drift gjennom sykdomsperioden. HPR-variantene synes å ha opprinnelse fra en fullengde HPR0. Denne er påvist hos villaks og det er konsensus om at HPR0 synes å representere en lavpatogen/apatogen stamme blant europeiske isolater. HPR0 ble ikke påvist fra de undersøkte norske utbruddene i 2004. Det kan imidlertid se ut som at de ulike isolatene har utviklet seg fra en felles HPR0 gjennom tap (delesjon) av aminosyrer og ikke som mutasjoner av hverandre.

Variasjon i den mer stabile 5'enden har gitt opphav til 3 grupper; G1, G2 og G3. Isolatene fra 2004 fordeler seg i henhold til denne gruppeinndelingen som vist i figur 1, vedlegg 2. Også her grupperer begge isolatene fra samme utbrudd seg likt. Av figur 1, vedlegg 2 ser en også at ILA-virus med ulik gruppetilhørighet er spredt langs hele kysten.

Kunnskapen rundt genotypene er mangelfull og den påviste variasjonen på hemagluttiningenet kan pr idag ikke kan brukes til å dokumentere "slektskap" mellom utbrudd eller vise til sikker sporing av smittekilder.

## Konklusjon

ILA-utbruddene diagnostiseres etter at det på lokalitetene har vært lang tid med ulike sykdomsproblemer med varierende grad av forøket dødelighet. Sjeldenere sees akutte ILA-utbrudd.

Den innsamlede informasjonen gir ikke grunnlag for å spore mulige smitteveier, hverken inn til lokaliteten eller ut av lokaliteten.

Norge fungerer som ett smoltmarked. Dette medfører at smolt kan bli gjenstand for en betydelig "langtransport" i brønnbåter som kommer fra ulike områder langs kysten. Den smittmessige betydningen av dette kan ikke etterprøves i det innsamlede datamaterialet.

Lokalitetene med positiv ILA-diagnose hadde signifikant flere nabolokaliteter med positiv ILA-diagnose enn forventet ut fra tilfeldigheter.

Hemaggluttingenet fra isolatene fra de ulike utbruddene, grupperte i henhold til de foreslåtte genotypegruppene G1, G2 og G3. Kunnskapen rundt genotypene er mangelfull og den påviste variasjonen på hemaggluttingenet kan pr idag ikke brukes til å dokumentere "slektskap" mellom utbrudd eller vise til sikker sporing av smitekilder.

## Etterord

Vi vil takke Mattilsynets distriktskontorer for bidrag og kommentarer til rapporten. Vi takker også Hanne Mari Jordsmyr ved Veterinærinstituttet, seksjon for epidemiologi for layout.

# Vedlegg 1: En analyse av romlig fordeling av lokaliteter med infeksiøs lakseanemi (ILA)

Peder A. Jansen  
Seksjon for epidemiologi, Veterinærinstituttet

Et viktig spørsmål for forvaltningen av ILA er hvordan sjukdommen spres. På bakgrunn av erfaringer og undersøkelser fra 90-tallet da hyppigheten av ILA-utbrudd var betydelig høyere enn i dag, antas det at ILA kan spres mellom nærliggende lakselokaliteter (Vågsholm med flere 1994, Jarp og Karlsen 1997). Gitt at slik spredning forekommer, så vil ILA-utbrudd ved en lokalitet øke risikoen for utbrudd i nærliggende lokaliteter.

Her er det foretatt en analyse av den romlige fordelingen av lokaliteter med ILA over årene 2003 og 2004. Spørsmålet som stilles er hvorvidt ILA opptrer tilfeldig langs kysten, eller om lokaliteter med ILA tenderer til å ligge nært hverandre i rom. Dette belyses ved å undersøke om lokaliteter med ILA-diagnose har flere nabolokaliteter med ILA-diagnose enn forventet ut i fra tilfeldigheter.

## Metoder

ILA-lokaliteter er definert ved at det er konkludert med påvist ILA på innsendte prøver til Veterinærinstituttet fra disse lokalitetene i perioden 2003-2004. Det inngår 24 ILA-lokaliteter i analysen (8 lokaliteter i 2003 og 16 lokaliteter i 2004).

En ILA-nabolokalitet er i denne undersøkelsen definert som en ILA-lokalitet som ligger innen 10 km sjøvei av en gitt lokalitet. Følgelig har alle lokalitetene som er med i analysen, og som ligger innen 10 km sjøvei fra en av ILA-lokalitetene, minst en ILA-nabolokalitet.

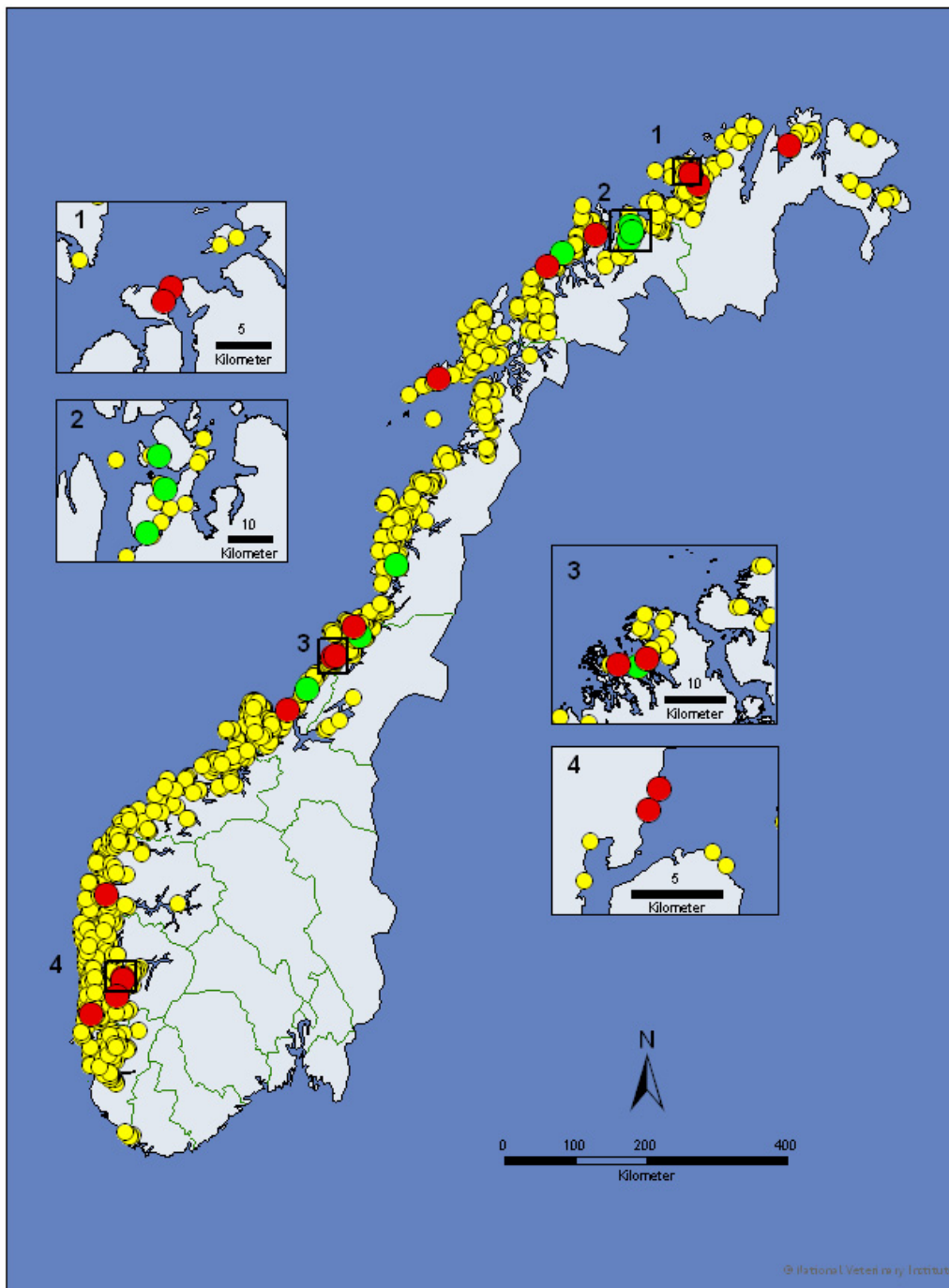
Det totale antallet lokaliteter som inngår i analysen er 1.290, hvorav 1.266 var uten ILA-diagnose og derfor ble antatt å være fri for ILA-infeksjon (ILA-negative lokaliteter). Alle lokalitetene er hentet fra Fiskeridirektoratets havbruksregister (Havbruksregisteret) i april 2004, og var lokaliteter for laksefisk i sjø (matfisk eller stamfisk). Ved hjelp av de geografiske koordinatene til lokalitetene i Havbruksregisteret og GIS programvare, ble parvise avstander i sjø mellom alle lokalitetene som lå inntil 100 km fra hverandre beregnet. Sjøavstand mellom to lokaliteter ble definert som korteste avstand i sjø mellom de to lokalitetene.

Av mangel på tilgang til driftsdata fra havbruksnæringen har vi ikke kunnet verifisere hvilke av de 1.290 lokalitetene som har vært utsatt for smitterisiko i perioden gjennom å være i drift. Til grunn for analysene ligger derfor en antagelse om at lokaliseringen av lokaliteter som faktisk var i drift i perioden representerer et tilfeldig utvalg av lokaliseringen til lokalitetene fra Havbruksregisteret som inngår i avstandsberegningene.

Analysene omfatter en sammenligning av antall ILA-nabolokaliteter (innen 10 km sjøvei) til henholdsvis ILA-lokaliteter og ILA-negative lokaliteter. På grunn av avhengighetsforhold i romlige data, som gir seg utslag i at naboskap mellom lokaliteter i denne analysen ikke er uavhengige observasjoner, er det benyttet en statistisk metode med tilfeldige trekk av lokaliteter (Monte Carlo permutation test, STATA 8.0). Siden det inngår 24 ILA-lokaliteter i datagrunnlaget, er det trukket tilfeldig 24 lokaliteter av de totalt 1.290 lokalitetene, og summert opp antallet ILA-nabolokaliteter. Denne prosedyren er gjentatt 5.000 ganger. Fordelingen av antallet ILA-nabolokaliteter i disse 5.000 trekkene er så sammenlignet med summen av ILA-lokaliteter som ble observert å ligge innen 10 km sjøvei av hverandre.

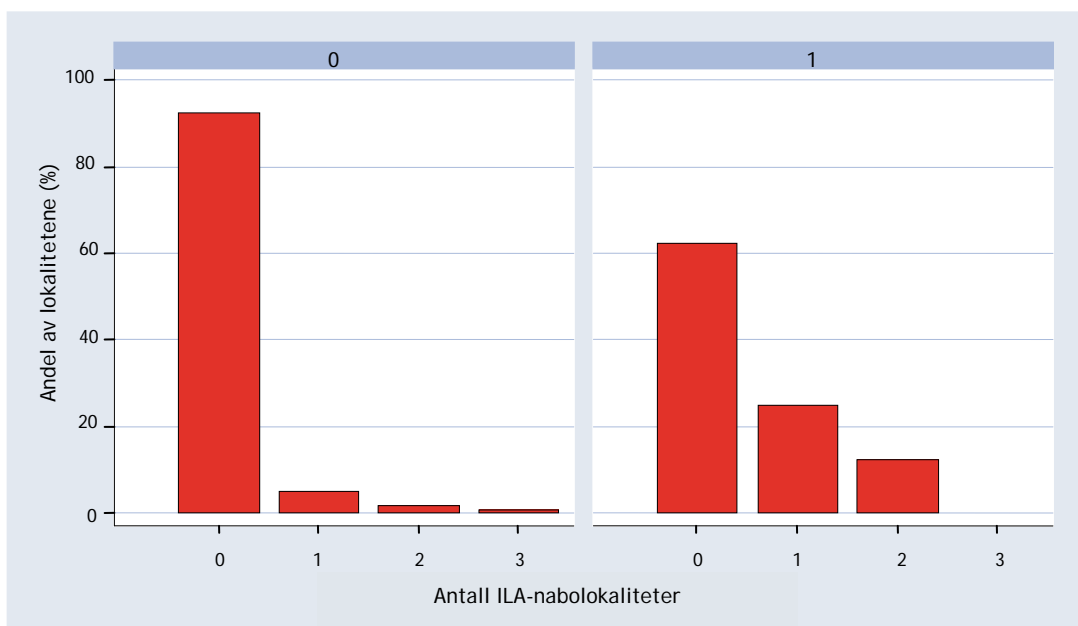
## Resultater

ILA-lokalitetene fra 2003 og 2004 lå tilsynelatende spredt utover mesteparten av kysten, og enkelte ILA-lokaliteter lå isolert i store avstander fra andre ILA-lokaliteter (Figur 1).



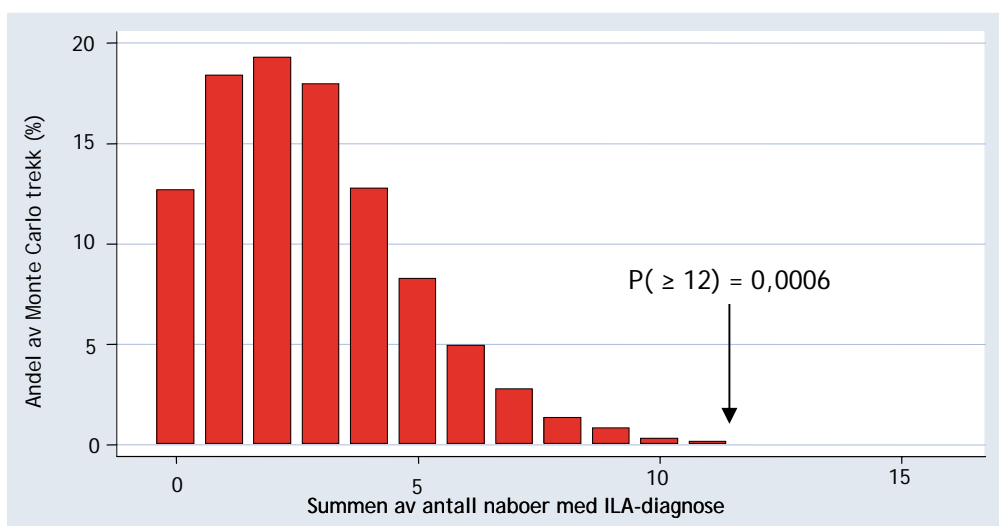
Figur 1. Kartutsnitt av Norge med alle lokalitetene som inngår i analysen. Gule sirkler representerer antatt ILA-negative lokaliteter (se Metoder for utvalgskriterier), grønne sirkler ILA-lokaliteter fra 2003 og røde sirkler ILA-lokaliteter fra 2004. Områdene der ILA-lokaliteter ligger i avstander av mindre enn 10 km sjøvei til hverandre er forstørret, i henholdsvis Finnmark (1), Troms (2), Nord-Trøndelag (3) og Hordaland (4).

Av ILA-lokalitetene hadde 9 av 24 (37,5 %) en eller to ILA-nabolokaliteter, mens av de ILA-negative lokalitetene hadde 96 av 1.266 (8 %) en eller flere ILA-nabolokaliteter (Figur 2). Det var bortimot 5 ganger (0,37/0,08) så stor andel av ILA-lokalitetene som hadde ILA-nabolokaliteter, enn det var ILA-negative lokaliteter som hadde ILA-nabolokaliteter.



Figur 2. Andelen (%) av ILA-negative lokaliteter (venstre graf (0)) og ILA-lokaliteter (høyre graf (1)) med gitte antall ILA-nabolokaliteter.

Den observerte summen av ILA-nabolokaliteter var 12 for de 24 ILA-lokalitetene fra 2003-2004. Ved 5.000 repeterte tilfeldige uttrekk av 24 av de totalt 1.290 lokalitetene i analysen var det kun 3 trekk der summen av ILA-nabolokaliteter var like høyt eller høyere enn 12. Dette gir en estimert sannsynlighet på 0.0006 med 95 % konfidensintervall fra 0.0001 - 0.002 (Fig. 3).



Figur 3. Fordeling av summen av ILA-nabolokaliteter for 24 tilfeldige lokaliteter i 5.000 Monte Carlo trekk.

## Diskusjon

Denne analysen viste at det var anslagsvis 5 ganger så stor andel av ILA-lokalitetene som hadde en eller flere ILA-nabolokaliteter, enn andelen av de ILA-negative lokaliteter som hadde en eller flere ILA-nabolokaliteter. Dette resultatet var signifikant, slik at det var en neglisjerbar sannsynlighet for at hyppigheten av naboskap mellom ILA-lokaliteter kunne tilskrives tilfeldigheter. Resultatet tilsier at dersom ILA bryter ut ved en gitt lokalitet så øker risikoen for ILA-utbrudd i nærliggende lokaliteter.

Undersøkelsen sier ingen ting om årsaken til at ILA-lokaliteter tenderer til å ligge nært hverandre i rom. De fleste ILA-lokalitetene fra 2003 og 2004 var heller ikke assosiert med ILA-nabolokaliteter. Samtidig antyder undersøkelsen at spredning av ILA til en viss grad har lokal tilknytning. Hvilke mekanismer som ligger til grunn for denne lokale spredningen av ILA må adresseres gjennom mer detaljerte epidemiologiske undersøkelser knyttet til miljø- eller driftsforhold.

En svakhet ved denne analysen er at det ikke ligger en eksakt oversikt over hvilke lokaliteter som var i drift i undersøkelsesperioden til grunn. Skjevheter i forhold til analyseresultatet vil kunne oppstå ved at lokalitetene som inngår i analysen, men som ikke har vært i drift i perioden, ligger relativt langt fra ILA-lokaliteter. Effekten av dette er imidlertid vurdert ved å anta at 800 lokaliteter faktisk var i drift i perioden. Med denne antagelsen var 490 av 1.290 lokaliteter ikke i drift, og dermed ikke utsatt for risiko for ILA-infeksjon. Fjerning av 490 lokaliteter fra analysen, og der ingen av disse var assosiert med ILA-nabolokaliteter, endret ikke på konklusjonene (signifikansnivå fremdeles < 5 %). Allikevel hadde det styrket analysen vesentlig dersom man hadde oversikt over hvilke lokaliteter som var i drift, og særlig med hensyn til kvantitative vurderinger av øket risiko som følge av ILA-utbrudd i nærliggende lokaliteter.

Resultatene fra denne analysen samsvarer med tidligere undersøkelser som konkluderer med at nærhet til ILA-infiserte lokaliteter er en risikofaktor (Vågsholm med flere 1994; Jarp og Karlsen 1997). Disse undersøkelsene er fra en periode med vesentlig hyppigere utbrudd av ILA, og før en rekke tiltak for å begrense utbrudd ble iverksatt. Det er bemerkelsesverdig at samme tendens fremkommer i denne analysen selv med et relativt begrenset antall ILA-utbrudd i 2003 og 2004, og på tross av et forvaltningsregime som i større grad er innrettet mot å begrense ILA-utbrudd.

## Referanser

1. Jarp J & Karlsen E (1997). Infectious salmon anemia (ISA) risk factors in sea-cultured Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Dis Aquat Organ* 28, 79 - 86.
2. Vågsholm I, Djupvik HO, Willumsen FV, Tveit AM & Tangen K (1994). Infectious salmon anaemia (ISA) epidemiology in Norway. *Prev Vet Med* 19, 277 - 290.

## Vedlegg 2: Genotyping av ILA virus fra utbruddene i 2004

Christine Monceyron Jonassen og Hilde Sindre  
Seksjon for virologi, Veterinærinstituttet

For hvert primært ILA-utbrudd ble minst 2 fisk som var klart positive i rutine PCR-diagnostikk utvalgt for sekvensering av ILA Hemagglutinin-esterase (HE) genet (Segment 6).

### Bakgrunn

ILA-viruset (ILAV) har et segmentert genom med 8 ulike segmenter. HE-genet er lokalisert på segment 6 og koder for hovedoverflate-glykoprotein i ILAV. Det inneholder 3 ulike domener, en N-terminus med en del sekvensvariasjon som utgjør den overflateeksponerte delen, et kort hypervariabelt område (HPR), som kan være knyttet til virulens, og en mer konservert C-terminus. HPR synes å variere mye mellom beslektede isolater, med bl.a. delesjoner, og er dermed ingen god indikator for slektskap. Det foreligger mange sekvenser i databasen for HE-genet fra ulike isolater, og selv om sekvensvariasjonen ikke er stor blant de europeiske isolater, har A. Nylund foreslått en subgruppering av de europeiske isolater i 3 grupper (G1, G2 og G3), basert på den mest varierte del av HE-genet (5'-enden) (Nylund *et al.* 2003), som vil kunne legges til grunn for vurdering av slektskap mellom ILAV-isolater. Videre har Nylund foreslått å gruppere ILAV-isolater i 13 europeiske HPR grupper, og 2 amerikanske, men det ser ut til at det finnes enda flere HPR typer blant de europeiske isolater enn de som er foreslått av Nylund (egne data), og de HPR gruppene vil ikke hensiktsmessig kunne bli sortert som tallgruppe (for eksempel gruppe 1 til 13), siden det vil være vanskelig å opprettholde en fortløpende europeisk consensus for alle andre nye grupper som ville kunne bli oppdaget. Det synes likevel hensiktsmessig å betegne HPR med fullengde (uten delesjoner) som HPR0. Dette HPR0 ser ut til å være assosiert med lavvirulens (Cunningham *et al.* 2002, Mjaaland *et al.* 2002) mens alle andre HPR typer synes å stamme opprinnelig fra dette HPR0.

### Framgangsmåte

RT-PCR med Superscript III/Qiagens HotStar enzym for å omdanne RNA til cDNA og påfølgende PCR for å oppformere ILA HE-genet ble utført med primere klon1EGFPF1 og klon1EGFPR1 (Mjaaland *et al.* 2002). Produktene fra denne PCRen ble rensset med Qiagen PCR purification kit eller Qiagen Gel Extraction kit alt etter kvaliteten på PCR-produktet. En sekvenserings-PCR med BigDye Terminator Sequencing kit (Applied Biosystems) og primerne klon1F1, Klon1R1 og 4 indre primerne (Devold *et al.* 2001) ble satt opp og produktene herfra ble kjørt i 3100Avant Genetic Analyzer (ABI) eller Megabace 1000 (AME BioScience). Sekvensene ble så analysert med programvaren Sequencher 4.1.4 fra GeneCodes, og det hypervariable området (HPR) ble undersøkt for aminosyre-sammensetning. Et alignment av den 5' delen av HE-genet (ca. nukleotid 50-950) fra de ulike utbruddene, samt representative isolater sekvensert tidligere fra genotyper G1, G2 og G3 (se Nylund *et al.* 2003) ble laget i BioEdit (©T. Hall, Dep. Microbiol., North Carolina State University). Fylogenetisk analyse ble utført ved hjelp av PHYLIP Package version 3.6 (Joe Felsenstein, Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, Washington, USA, <http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html>), og det fylogenetiske treet ble visualisert ved hjelp av TreeView (Win32) version 1.6.6 (Roderick D. M. Page, Division of Environmental and Evolutionary Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, UK, <http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/treeview.html>).

### Resultater og kommentarer

#### *HPR-sammensetning*

ILAV HE-genet har en åpen leseramme som varierer i lengde fra 1.161-1.233 nukleotider, avhengig av lengden på det hypervariable området (HPR) som varierer fra 11-35 aminosyrer.

Årets utbrudd er undersøkt med hensyn på aminosyresammensetning, og resultatene foreligger i Tabell 1.



TABELL 1:

## AMINOSYRESAMMENSETNING I HYPERVARIABELT OMRÅDE I ILA HE-GENET, ILA-UTBRUDD 2004

HPR 0	T D V	Hypervariabelt område (HPR)														G V A
		K I R V D A I	P P Q L	N Q T	F N T N	Q V E Q	P A	T S V L	S N I	F I S M						
Åa nr		1 2 3 4 5 6 7	8 9 10 11	12 13 14	15 16 17 18	19 20 21 22	23 24	25 26 27 28	29 30 31	32 33 34 35						
01/2004 A	T D V	K I R V D A I	P P Q L						S N T	F I S M						
B	T D V	K I R V D A I	P P Q L						S N T	F I S M						
02/2004 A	T D V	K I R V D A I	P P Q L													
B	T D V	K I R V D A I	P P Q L													
04/2004 A	T D V	K I R V D A			N	Q V E Q	P A	T S V L	S N I	F I S M						
B	T D V						P A	T S V L	S N I	F I S M						
05/2004 A	T D V	K I R V D A			N	Q V E Q	P A	T S V L	S N I	F I S M						
B	T D V	K I R V D A			N	Q V E Q	P A	T S V L	S N I	F I S M						
06/2004 A	T D V	K I R V D A I	P P Q L	N Q T	F						M					
B	T D V	K I R V D A I	P P Q L	N Q T	F						M					
07/2004 A	T D V	K I K					Q	P A	T S V L	S N I	F I S M					
B	T D V	K I K					Q	P A	T S V L	S N I	F I S M					
09/2004 A	T D V	K I R V D A I	P P Q L	N Q T							F I S M					
B	T D V	K I R V D A I	P P Q L	N Q T							F I S M					
10/2004 A	T D V	K I R V D A I	P P Q L								I S M					
B	T D V	K I R V D A I	P P Q L								I S M					
11/2004 A	T D V	K I R V D A I	P P Q							H I	F I S M					
B	T D V	K I R V D A I	P P Q							H I	F I S M					
12/2004 A	T D V	K						T S V L	S N T	F I S M						
B	T D V	K						T S V L	S N T	F I S M						
13/2004 A	T D V	K						T S V L	S N I	F I S M						
B	T D V	K						T S V L	S N I	F I S M						
14/2004 A	T D V	K						T S V L	S N I	F I S M						
B	T D V	K						T S V L	S N I	F I S M						
15/2004 A	T D V	K I R V D A			N	Q V E Q	P A	T S V L	S N I	F I S M						
B	T D V	K I R V D A			N	Q V E Q	P A	T S V L	S N I	F I S M						

\*Bokstaver i rødt avviker fra consensus-sekvens

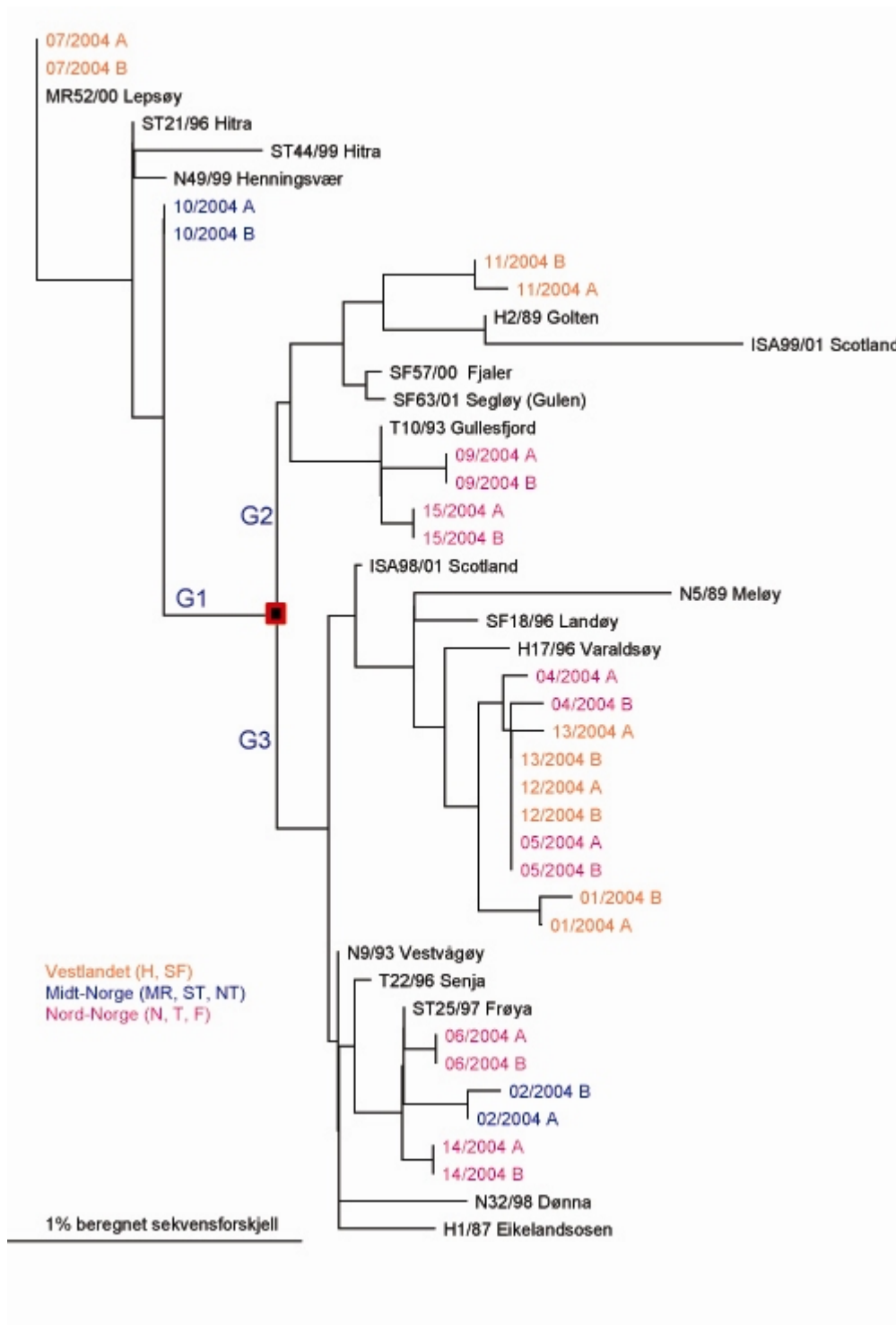
Tabellen er utarbeidet med utgangspunkt i tabell over aminosyresammensetning i HPR-regionen for tidligere utbrudd (Nylund *et al.*)

Hvert utbrudd er representert med sekvensert HPR fra 2 ulike individer (A og B). Ingen av utbruddsisolatene hadde HPR0 (europeisk consensus sekvens), som blir definert som avirulent. Som det framgår av Tabell 1, var det stor variasjon mellom de ulike utbruddene i aminosyresammensetning i denne regionen. For et utbrudd, 04/2004, var det også variasjon i sekvensen i HPR-regionen mellom to individer i samme utbrudd, selv om resten av sekvensen brukt til genotyping tydet på nært slektskap mellom de isolatene. Dette viser at selve HPR ser ut til å variere i løpet av et og samme utbrudd, og at en gruppeklassifisering vil være vanskelig, grunnet den spesielle dynamikken i mutasjoner og delesjoner i dette området.

### Genotyping 5' HE-region (ca. 900bp)

For genotyping ble 5'- delen av hemagglutinin-esterase genet brukt. En fylogenetisk analyse av sekvenser fra 2 individer for hvert av årets ILA-utbrudd ble utført, og tidligere sekvenserte isolater hentet fra GeneBank-databasen ble inkludert. Det fylogenetiske treet som resulterte er presentert i Figur 1, og årets utbrudd er synliggjort med rød skrift.

Figur 1: Fylogenetisk tre konstruert ved hjelp av Neighbor, med F84 korreksjonsmodell for nukleotidsubstusjon.



Utbrudd 07/2004 og 10/2004 tilhører G1, mens utbrudd 09/2004, 11/2004 og 15/2004 tilhører G2. De resterende utbruddene klustrer i 2 grupper i G3, med 01/2004, 04/2004, 05/2004, 12/2004 og 13/2004 i den ene gruppen, og 02/2004, 06/2004 og 14/2004 i den andre gruppen. Forskjellene mellom utbrudd 01/2004, 04/2004, 05/2004, 12/2004 og 13/2004 er små for den undersøkte gensekvensen, med for eksempel bare to nukleotider forskjell mellom det ene ILAV-isolatet fra 04/2004 utbruddet, og de to isolatene fra 05/2004. I tillegg ble det påvist full sekvenslikhet mellom de to ILAV-isolatene fra 05/2004-utbruddet, de to isolatene fra 12/2004-utbruddet, og det ene isolatet fra 13/2004 utbruddet. Likevel viser treet at ILAV-isolater innen samme utbrudd, selv om de utviser noe sekvensvariasjon, alltid klustrer sammen, hvilket indikerer felles opphav for isolater fra et og samme utbrudd.

## Konklusjon

Ut fra de studerte gensekvenser, synes det klart at variasjonen i hemagglutinin-esterase genet er veldig begrenset, og at det derfor vil være behov for sekvensering og karakterisering av flere gensegmenter ved ulike epidemiologiske problemstillinger. Likevel kunne HE-genet brukes til subklassifisering i 3 grupper (Nylund *et al.*). De 2 isolatene fra samme utbrudd grupperte i alle tilfeller sammen med hverandre, og dette styrker derfor den fylogenetiske gruppering av utbruddene seg imellom.

Isolatene fra utbruddene som grupperte fylogenetisk sammen, utviste stor variasjon med hensyn til hvor delesjonene var plassert i HPR. Spesielt for utbruddene i genogruppe G2 og G3 hvor noen isolater hadde delesjoner i deler av N-terminus og intakt C-terminus, andre omvendt. Dette vil ikke være forenelig med at smitte skjer mellom allerede muterte HPR mutanter, om det kun er delesjonsmekanismer som ligger til grunn for den observerte variasjonen i HPR. Disse funnene vil derfor kunne antyde at opphavsvirus for flere av isolatene fra sykdomsutbruddene kan ha hatt full HPR0 sekvens i utgangspunktet.

## Referanser

1. Cunningham CO, Gregory A, Black J, Simpson I, Raynard RS (2002). A novel variant of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) haemagglutinin gene suggests mechanisms for virus diversity. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 22, 366-74.
2. Devold M, Falk K, Dale OB, Krossoy B, Biering E, Aspehaug V, Nilsen F, Nylund A (2001). Strain variation, based on the hemagglutinin gene, in Norwegian ISA virus isolates collected from 1987 to 2001: indications of recombination. *Dis. Aquatic Org.* 47, 119-128.
3. Mjaaland S, Hungnes O, Teig A, Dannevig BH, Thorud K, Rimstad E (2002). Polymorphism in the infectious salmon anemia virus hemagglutinin gene: importance and possible implications for evolution and ecology of infectious salmon anemia disease. *Virology* 304(2), 379-391.
4. Nylund A, Devold M, Plarre H, Isdal E, Aarseth M (2003). Emergence and maintenance of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Europe: a new hypothesis. *Dis Aquatic Org* 56, 11-24.

## Vedlegg 3: Litteraturliste

1. Blake S, Bouchard D, Kehleher W, Opitz HM & Nicholson BL (1999). Genomic relationship of the North American isolate of infectious salmon anaemia virus (ISAV) to the Norwegian strain of ISAV. *Dis Aquat Org* 35, 139-144.
2. Bouchard D, Kehleher W, Opitz HM, Blake S, Edwards KC & Nicholson BL (1999). Isolation of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Atlantic salmon in New Brunswick, Canada. *Dis Aquat Org* 35, 131 - 137.
3. Cunningham CO, Gregory A, Black J, Simpson I & Raynards RS (2002). A novel variant of infectious salmon anaemia virus (ISAV) haemagglutinin gene suggests mechanisms for virus diversity. *Bull Eur Ass Pathol* 22 (6), 366 - 374.
4. Devold M, Falk K, Dale OB, Krossoy B, Biering E, Aspehaug V, Nilsen F, Nylund A (2001). Strain variation, based on the hemagglutinin gene, in Norwegian ISA virus isolates collected from 1987 to 2001: indications of recombination. *Dis. Aquatic Org.* 47, 119-128.
5. Djupvik HO, Vågsholm I & Willumsen FV (1992). ILA primærutbrudd. Oceanor-rapport nr. OCN R-92019
6. Jarp J & Karlsen E (1997). Infectious salmon anemia (ISA) risk factors in sea-cultured Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Dis Aquat Organ* 28, 79 - 86.
7. Jarp J (1999). Epidemiological aspects of viral diseases in the Norwegian farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Bull Eur Ass Fish Pathol* 19 (6), 240 - 244.
8. Kibenge FSB, Gárate ON, Johnson G, Arriagada R, Kibenge MJT & Wadowska D (2001). Isolation and identification of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Coho salmon in Chile. *Dis Aquat Org* 45, 9 - 18.
9. Melville KJ & Griffiths SG (1999). Absence of vertical transmission of infectious salmon anemia virus (ISAV) from individually infected Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Dis Aquat Org* 38 (3), 231 - 234.
10. Mjaaland S, Hungnes O, Teig A, Dannevig BH, Thorud K, Rimstad E (2002). Polymorphism in the infectious salmon anemia virus hemagglutinin gene: importance and possible implications for evolution and ecology of infectious salmon anemia disease. *Virology* 304(2), 379-391
11. Murray AG, Smith RJ & Stagg RM (2002). Shipping and the spread of Infectious Salmon Anaemia in Scottish Aquaculture. *Emerg Infect Dis Vol.* 8, nr. 1.
12. Nylund A, Hovland T, Wataneabe K & Endresen C (1995). Presence of infectious salmon anemia virus (ISAV) in tissues of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., collected during three separate outbreaks of the disease. *J Fish Dis* 18, 135 - 145.
13. Nylund A, Krossoey B, *et al.* (1999). "Outbreak of ISA during first feeding of salmon fry (*Salmo salar* L.)" *Bull Eur Ass Fish Pathol* 19 (2), 70 - 74.
14. Nylund A, Devold M, Plarre H, Isdal E, Aarseth M (2003). Emergence and maintenance of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Europe: a new hypothesis. *Dis Aquatic Org* 56, 11-24.
15. Stagg RM, Bruno DW, Cunningham CO, Raynard RS, Munro PD, Murray AG, Allan CET, Smail DA, McVicar AH & Hastings TS (2001). FRS Marine Laboratory Report, nr. 13/01, Epizootiological investigations into an outbreak of infectious salmon anaemia (ISA) in Scotland.
16. Thorud KE & Djupvik HO (1988). Infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Bull Eur Ass Fish Pathol* 8, 109 - 111.
17. Thorud K (1989). Infeksiøs lakseanemi (ILA) - en oversikt. *Norsk Vet Tidsskr* 101, nr. 6, 517 - 521.
18. Thorud K (1991). Infectious salmon anaemia. Transmission trial, clinical chemical and morphological investigations. Doktoravhandling, Veterinærhøgskolen, Oslo.
19. Vågsholm I, Djupvik HO, Willumsen FV, Tveit AM & Tangen K (1994). Infectious salmon anaemia (ISA) epidemiology in Norway. *Prev Vet Med* 19, 277 - 290.